

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE



Hybridizace *Alnus glutinosa* a *A. incana* na území České republiky

Bakalářská práce

Vedoucí práce: prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Autor: Marie Černá

2019

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Marie Černá

Aplikovaná ekologie

Název práce

Hybridizace *Alnus glutinosa* a *A. incana* na území České republiky

Název anglicky

Hybridization of *Alnus glutinosa* and *A. incana* in the Czech Republic

Cíle práce

Bakalářská práce bude zaměřena na význam homoploidní hybridizace u rostlin. Cílem bude jednak zhodnocení úlohy hybridizace v evoluci rostlin, a jednak morfometrická analýza dvou druhů olší (*Alnus glutinosa* a *A. incana*) a jejich křížence *Alnus xpubescens*. Úloha hybridizace v evoluci rostlin bude zpracována formou literární rešerše a měla by sloužit k seznámení s poměrně širokou problematikou evolučních procesů, kde hybridizace hraje významnou úlohu. Morfometrická studie druhů rodu *Alnus*, by měla na literární rešerši navázat a ukázat, do jaké míry jedinci morfologicky stojící mezi *Alnus glutinosa* a *A. incana* jsou hybridního původu.

Metodika

Literární rešerše bude zpracována na základě studia literatury týkající se hybridizace. V rámci morfometrické analýzy budou zhodnoceny rozlišovací znaky olší *Alnus glutinosa*, *A. incana* a jejich křížence *Alnus xpubescens*. Jako studijní materiál budou využity herbářové položky. Význam jednotlivých morfologických znaků pro určování olší bude determinován pomocí mnohorozměrných analýz.

Doporučený rozsah práce

60 stran

Klíčová slova

Alnus glutinosa, *Alnus incana*, *Alnus x pubescens*, hybridizace, morfometrie

Doporučené zdroje informací

BRIGGS, D. – WALTERS, S M. *Proměnlivost a evoluce rostlin*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2001. ISBN 80-244-0186-.

ČVANČARA, A. – CHRTEK, J. – HEJNÝ, S. – SLAVÍK, B. – TOMŠOVIC, P. – KOVANDA, M. *Květena České republiky. 1*. Praha: Academia, 1997. ISBN 80-200-0643-5.

SUDA, J. – MARHOLD, K. *Statistické zpracování mnohorozměrných dat v taxonomii : (fenetické metody)*. Praha: Karolinum, 2002. ISBN 80-246-0438-8.

Předběžný termín obhajoby

2018/19 LS – FŽP

Vedoucí práce

prof. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Petr Vít

Elektronicky schváleno dne 22. 3. 2019

doc. Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 22. 3. 2019

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 25. 03. 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci na téma „Hybridizace *Alnus glutinosa* a *Alnus incana* na území České republiky“ vypracovala sama pod vedením prof. Mgr. Bohumila Mandáka, Ph.D. Uvedla jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpala.

Prohlašuji, že tištěná verze se shoduje s verzí odevzdanou přes Univerzitní informační systém.

V Praze 24.4.2019

.....



Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Mgr. Bohumilu Mandákovi, Ph.D. za zajímavý námět ke zpracování práce. Konzultantovi Mgr. Petru Vítovi, Ph.D. děkuji za trpělivost, věnovaný čas a věcné rady. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Viktorii Brožové (Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích – Přf) za ochotu, pomoc a poskytnutí cenných rad. Ing. Janu Doudovi, Ph.D. za propůjčení fotoaparátu ke sběru dat. Rodině děkuji za stálou podporu ve studiu i v životě.

Abstrakt

Literární rešerše se zabývá poznatky hybridizace v evoluci rostlin. Hybridizace je důležitým motorem při vzniku druhové diverzity. Zvyšuje úroveň biologické a morfologické rozmanitosti. Větší důraz je zde kladen na význam homoploidní hybridní speciace.

Těžištěm bakalářské práce je morfometrická analýza druhů olší *Alnus glutinosa* a *Alnus incana*. Tyto druhy se vyskytují sympatricky na území střední Evropy, kde dochází ke vzniku homoploidního hybridu *Alnus* × *pubescens*. Výstupem práce je morfometrická analýza, která vymezila druhově specifické znaky počtu párů postranních žilek a zakončení listové čepele, na jejichž základě lze druhy oddělit a determinovat hybridu *Alnus* × *pubescens* od rodičovských druhů.

Klíčová slova: *Alnus glutinosa*, *Alnus incana*, *Alnus* × *pubescens*, hybridizace, morfometrie

Abstract

The literature survey deals with plant hybridization in evolution. Hybridization is an important factor for species diversity and increases biology and morphology variety. The thesis is mainly focused on importance of homoploid hybrid speciation.

The main topic is the morphometric analysis of *Alnus* species. These species occur in sympatry with both parents in area of central Europe where new species *Alnus* × *pubescens* may arise by hybridization. The output of the thesis is a morphometric analysis defining specific characters for each species which help separate and determinate parental species from hybrid taxa *Alnus* × *pubescens*. Predominant characters are number of pairs of lateral veins and leaf margin dentation.

Keywords: *Alnus glutinosa*, *Alnus incana*, *Alnus* × *pubescens*, hybridization, morfometry

Obsah

Úvod.....	1
Cíle práce	2
1 Hybridizace	3
1.1 Hybridní speciace	3
1.2 Homoploidní hybridní speciace.....	4
1.3 Polyploidní hybridní speciace	6
1.4 Introgrese.....	6
2 Teoretický úvod	7
2.1 Taxonomické zařazení.....	7
2.2. Charakteristika rodu <i>Alnus</i> Mill.	7
2.2.1 Ekologie.....	8
2.2.2 Geografické rozšíření	8
2.2.3 Historické rozšíření olší.....	9
2.2.4 Rozmnožování.....	9
2.2.5 Hybridizace rodu <i>Alnus</i>	9
2.2.6 Polyploidizace rodu <i>Alnus</i>	9
2.3 <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn. – olše lepkavá	10
2.3.1 Morfologický popis	10
2.3.2 Karyologie	10
2.3.3 Ekologie.....	10
2.3.4 Geografické rozšíření <i>Alnus glutinosa</i>	11
2.3.5 Význam	11
2.4 <i>Alnus incana</i> (L.) Moench – olše šedá	11
2.4.1 Morfologický popis	11
2.4.2 Karyologie	12
2.4.3 Ekologie.....	12
2.4.4 Geografické rozšíření <i>Alnus incana</i>	12
2.4.5 Význam	12
2.5 Hybridizace druhů <i>Alnus glutinosa</i> a <i>Alnus incana</i>	13

2.5.1 Morfologie hybrida.....	13
2.5.2 Karyologie hybrida.....	13
2.5.3 Fertilita hybrida	13
2.5.4 Výskyt hybrida	13
3 Teoretický úvod k použitým metodám	14
3.1 Ordinační metody	14
3.2 PCA	14
4 Materiál a metodika.....	15
4.1 Získání dat	15
4.2 Zpracování dat.....	15
4.3 Postup při měření morfologických znaků:	16
5 Výsledky	18
5.1 PCA	18
6 Diskuze.....	24
7 Závěr	26
8 Přehled literatury a použitých zdrojů	27
9 Přílohy.....	31

Úvod

Rostoucí počet experimentálních mikroevolučních studií vyvolal průlom v chápání procesu hybridizace, která může mít v evoluční biologii několik různých významů. Termín „hybrid“ může představovat taxony vzniklé mezidruhovým křížením, alternativně mohou být „hybridi“ definováni jako potomstvo odlišitelné na základě jednoho nebo více dědičných znaků (Rieseberg & Carney 1998).

Doposud bylo vědecky popsáno přibližně půl milionu rostlinných druhů, z nichž polovina patří do oddělení krytosemenných, u kterých bylo na základě analýzy genomu zjištěno, že v průběhu evoluce podstoupily pravděpodobně téměř všechny alespoň jeden proces polyploidizace a že hybridizace byla důležitou hybnou silou při vzniku druhové diverzity (Soltis a Soltis 2009).

V přírodě přirozeně hybridizuje zhruba čtvrtina všech rostlinných druhů (Mallet 2005). Rostlinné druhy jsou úzce spjaty s prostředím, ve kterém se vyskytují, a narušení jejich přirozeného stanoviště výskytu vnějšími vlivy je příležitostí pro spontánní hybridizaci (Rieseberg & Carney 1998).

Ekologické faktory mají významný vliv na rozpad reprodukčních bariér, jejichž existence umožňuje nově vzniklému druhu sdílet stejnou niku s rodičovským druhem a vytvořit tak prostorovou nebo ekologickou izolaci, která napomáhá v přežití ve stavu sympatrické speciace (Rieseberg & Carney 1998). Rozpad těchto reprodukčních bariér pak frekvenci procesu hybridizace významně zvyšuje.

Cíle práce

Cílem práce je zhodnocení úlohy hybridizace v evoluci rostlin, a také morfometrická analýza dvou druhů olší (*Alnus glutinosa* a *A. incana*) a jejich křížence *Alnus* × *pubescens*. Úloha hybridizace v evoluci rostlin bude zpracována formou literární rešerše a měla by sloužit k seznámení s problematikou evolučních procesů, kde hybridizace hraje významnou úlohu. Morfometrická studie druhů rodu *Alnus*, by měla na literární rešerši navázat a ukázat, do jaké míry jedinci morfologicky stojící mezi *Alnus glutinosa* a *A. incana* jsou hybridního původu.

1 Hybridizace

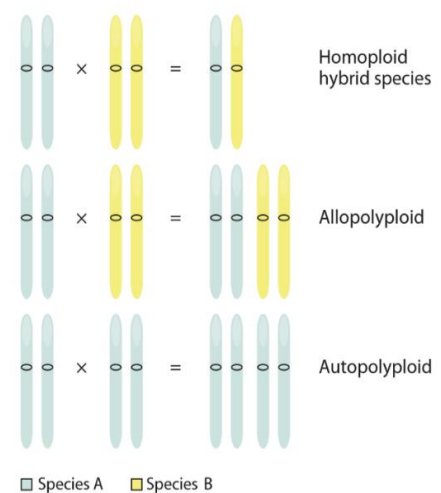
1.1 Hybridní speciace

Biologický druh je definován jako soubor populací, které mají specifické strukturální, fyziologické, rozmnožovací a genetické vlastnosti. Jedinci se mohou mezi sebou volně křížit a zároveň jsou reprodukčně izolovaní od jedinců jiných druhů (Mayr 1966). Speciace je evoluční víceúrovňový proces vzniku nových druhů, který probíhá v čase a prostoru. Rozlišují se pozvolná speciace, při které dochází v průběhu evoluce k mutacím. Mutovaní jedinci s kladnými znaky jsou pak podporováni darwinovským přirozeným výběrem. Zvláštním typem speciace je tzv. saltační (skoková) speciace, při které se uplatňuje zejména hybridizace a polyploidizace. Oba tyto procesy mohou způsobit, že nový druh vzniká velmi rychle a takto vznikající jedinci jsou často ihned izolováni od svých předků díky odlišné genomické skladbě (Briggs & Walters 2001).

Obecně je hybridizace definována jako splynutí gamet dvou geneticky odlišných organismů. Místo, kde dochází k intenzivní hybridizaci, se nazývá hybridní zóna (Abbott et al. 2013).

K tomu, aby mezi druhy nedocházelo snadno k mezidruhovému křížení, slouží reprodukčně izolační mechanismy, které zachovávají integritu (ucelenost) genofondu jednotlivých druhů. Kdyby reprodukčně izolační mechanismy neexistovaly, nikdy by nedošlo ke vzniku nového druhu. (Briggs & Walters 2001). Rozlišují se dvě skupiny izolačních mechanismů: prezygotické a postzygotické. Prezygotické mechanismy zabraňují páření nebo předchází oplození. Postzygotické mechanismy působí na snížení životaschopnosti nebo fertility hybridů. Mohou

zabránit v hybridizaci pozdější generaci hybridů, například chromosomální translokací, tj. strukturální přestavba, která snižuje fertilitu hybridů a přispívá k posílení postzygotické bariéry mezi hybridem a rodičem (Rieseberg & Carney 1998). Nicméně vývoj reprodukční izolace může trvat stovky až miliony generací. Změny v prostorové distribuci organismů se ale dějí velmi rychle, například v důsledku klimatických změn



Obr. 1: Duplikace chromosomů druhu A a druhu B. 1) homoploidní hybrid vzniká hybridizací druhů A a B, výsledný druh má od každého rodiče 1 chromosom 2) allopolyploid – hybridizace A a B následná duplikace druhé sady chromosomů 3) autopolyploid – duplikace sady chromosomů A druhu – přejato z „The role of hybridization in plant speciation“, Soltis, P. S., & Soltis

od počátku holocénu (Abbott et al. 2013) a tento fakt může zásadně změnit (např. prostorovou separaci populací, které se mohou snadněji diferencovat, tj. ve stejném genomu, se změní aktivita genů) izolační bariéru výměny genů (Hewitt 2011). Reprodukční izolace se může vytvořit například ekologickou diferenciací nebo geografickou bariérou (Via 2009). Ekologická diferenciaci se může vyskytovat v geograficky izolovaných populacích, tzv. alopatická speciace, kde neexistuje možnost výměny genů. U alopatické speciace povede každá síla selekce k reprodukční izolaci a vytvoření bariéry, která zabrání toku genů (Coyne & Orr 2004). V prostředí bez geografických bariér probíhá tzv. sympatická speciace, kdy nový druh sdílí území prostorově se překrývající i se svým mateřským druhem. Při existenci rozdílných tlaků např. narušení nebo rozšíření biotopu dochází k tzv. parapatické speciaci jako ve studii rodu *Senecio* (Abbott et al. 2003).

V souvislosti se speciací má hybridizace hned několik možných výsledků. Například při rozpadu izolačních bariér bránících genetickému toku, dochází ke snížení nebo ztrátě diferenciaci, což podpoří možnost mezidruhového křížení v sympatických areálech výskytu (Taylor et al. 2006).

Hybridní speciace je zodpovědná za velké množství druhové diverzity (Rieseberg & Carney 1998). Rozděluje se na homoploidní hybridní speciaci (tj. vznik druhu hybridizací dvou druhů stejné ploidní úrovně) a mnohem častější polyploidní speciaci (tj. meziduhová hybridizace při současném zdvojení genomu) (Briggs & Walters 2001). Zmíněná homoploidní hybridní speciace je v přírodě relativně vzácná, avšak díky adaptivní radiaci, tj. proces při kterém dochází k rychlému vývoji nových forem, obvykle adaptovaných na různé podmínky, může být běžnější a může vést ke zvýšení reprodukční izolace mezi populacemi. Nové kombinace rodičovských alel přispívají ke vzniku a přetrvání nové populace, která si zachovává svou odlišnost prostřednictvím reprodukčních bariér u obou rodičů (Abbott et al. 2013).

1.2 Homoploidní hybridní speciace

Homoploidní hybrid vznikne spojením dvou haploidních gamet do diploidní zygoty. Tyto gamety pochází od rozdílných rodičovských druhů. K reprodukci může dojít pouze pokud jsou homologické chromosomy všech párů dostatečně shodné, což nastává v případě fylogenetické blízkosti rodičů (Rieseberg & Carney 1998). Homoploidní hybridizace může za určitých okolností dát vzniknout stabilnímu, fertilnímu, tj. plodnému a reprodukčně izolovanému hybridovi. Dřívější výzkumy se zaměřovaly na význam chromozomální translokace, ale ukázalo se, že významnou roli homoploidní hybridizace hraje přirozený ekologický výběr (Gross & Rieseberg 2004).

Ekologický výběr mohou ovlivnit biologické reprodukčně izolační mechanismy, které znemožňují mezidruhové křížení. Mezi jednotlivé typy se řadí způsob opylování, časové a stanovištní mechanismy, které se označují jako ekologické. Pro ekologické reprodukčně izolační mechanismy je charakteristické sympatrický výskyt, avšak rozmnožování je časově nebo prostorově odděleno. (Gross & Reiseberg 2004). Narušením jedné nebo více bariér se podpoří divergence, tj. počet mutací, vzniklé za určitý čas, která přispěje ke vzniku homoploidního hybrida, ale jak např. poznamenali ve své práci Coyne & Orr (2004) divergence stanovišť nutně nevede k reprodukční izolaci. Většina hybridů vniklých homoploidní specií kolonizuje oproti rodičovským druhům ekologicky odlišné, v některých případech i extrémní stanoviště. Morfologické analýzy (Rieseberg & Carney 1998) homoploidních hybridů ukázaly velkou variabilitu v morfologii. Jejich vzhled může být identický s jedním z rodičovských druhů, nebo můžou být intermediární nebo u hybrida vzniknou kompletně nové rysy.

Homoploidní hybridní speciace vzniká za přítomnosti jednoho nebo obou rodičovských druhů a tím představuje typ speciace s genovým tokem, který vyžaduje, aby síla selekce na jednotlivých lokusech přesahovala rychlost migrace (Gross & Reiseberg 2004). Při zdařilé hybridní speciaci uvažujeme o dvou různých scénářích: zaprvé dostatečně silném ekologickém výběru, což vede k divergenci, zadruhé snížení rychlosti migrace alel jinou formou izolace (např. chromosomální) (Gross & Reiseberg 2004).

Hybridizace může vést k různým genetickým výsledkům. Genetické mechanismy jsou základem atributů, jež souvisí s fitness. Atributy hybridů popisují fenotypové rysy související s fitness, které leží mimo rodičovskou distribuci, např. plodnost, fyziologie, morfologie, chování. Genetické mechanismy mohou být základem transgresivních, tzv. přeskupených fenotypů. Na nový či pozměněný fenotyp má vliv restrukturalizace (změna struktury) genomu, chromosomová mutace např. duplikace (tj. znásobení úseku chromosomů) nebo delece (tj. chybí část chromosomu), epigenetické (fenotypové) změny genové exprese (Landry et al. 2007; Doyle et al. 2008; Masly et al. 2006; Michalak 2009; Ainouche & Jenczewski 2010; reference v Abbott et al. 2013). Změny jsou způsobeny vytvořením genetických kombinací, jež nebyly testovány selekcí v rodičovské populaci (Abbott et al. 2013). Genetické mechanismy napomáhají vniku transgresivních hybridních fenotypů. Odlišnost atributů má dopad na evoluční dynamiku hybridních jedinců. Homoploidní hybridi mají méně počátečních výhod, ale jejich potomstvo může mít vysokou genetickou variabilitu prostřednictvím rekombinace (přeskupením), nebo vniku transgresivních fenotypů. (Gross & Reiseberg 2004). Vznik homoploidních hybridů je v přírodě dokumentovaný nejen u diploidů. K homoploidní hybridizaci dochází i na

vyšších ploidních úrovní, tj. mezi tetraploidy, hexaploidy a vyššími ploidními (Soltis & Soltis 2009).

1.3 Polyploidní hybridní speciace

Výsledkem procesu polyploidizace je vznik organismů, které obsahují tři nebo více homologních sad chromozomů, než měl jejich diploidní předek. Polyploidní kříženci mohou být oproti svým rodičům v mnohém zvýhodněni. Jedná se, např. o extrémní fenotypové vlastnosti a postzygotickou nebo prezygotickou reprodukční izolaci, která napomáhá vytvořit bariéru mezi hybridem a jeho rodičem. Z evolučního hlediska má polyploidie zásadní význam. Nejnovější výzkumy uvádí, že všechny krytosemenné rostliny prošly ve své evoluční historii alespoň jednou procesem polyploidizace (Jiao et al. 2011), dále rozlišenou na autopolyploidii a allopolyploidii (Abbott et al. 2013).

1.4 Introgrese

Introgrese je definovaná jako vnesení genů do genomu jiného druhu mezidruhovým křížením a následným zpětným křížením s rodiči (Briggs & Walters 2001). Nestabilita genomu hybridu vede k rezistenci vůči introgresi. Aby mohlo dojít k přenosu genetického materiálu, musí alely do nového genotypu rekombinovat a předejít tak selekci (Barton & Hewitt 1985). Tento proces rekombinace mezi geneticky nebo chromosomálně odlišnými druhy může snižovat rychlost introgrese stejně jako morfologická odlišnost mezi druhy. Na druhou stranu, pokud je proces introgrese příliš intenzivní, může snížit celkovou životaschopnost dané populace (Wall 1970; Rieseberg & Carney 1998) např. vnesením genů, které pozmění adaptaci jedinců na podmínky prostředí, ve kterých se vyskytují (tj. zejména adaptability), dále změnou konkurenceschopnosti, změnou reprodukčních způsobů atp. Introgresní genetická variabilita může podpořit invazivnost (Prentis et al. 2008) a tak výrazně rozšířit rozsah hybridní populace v prostoru (Abbott et al. 2013).

2 Teoretický úvod

2.1 Taxonomické zařazení

Taxonomické zařazení rodu *Alnus* podle recentních genetických analýz (Chase et al. 2016) je následovné.

Říše: rostliny (*Plantae*)

Podříše: cévnaté rostliny (*Tracheophyta*)

Oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*)

Třída: vyšší dvouděložné (*Rosopsida*)

Řád: bukotvaré (*Fagales*)

Čeleď: břízovité (*Betulaceae*)

Rod: olše (*Alnus*)

Druh: v České republice se vyskytují 3 původní druhy: *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. (olše lepkavá), *Alnus incana* (L.) Moench (olše šedá), *Alnus alnobetula* (Ehrh.) C. Koch (olše zelená)

2.2. Charakteristika rodu *Alnus* Mill.

Rod *Alnus* Mill (olše) patří do čeledi *Betulaceae* (břízovitých). V současnosti je popsáno přibližně 42 druhů, z toho 10 kříženců (Vít et al. 2017). Zahrnuje jednodomé stromy nebo keře. Stavba kořenového systému má zpravidla tvar srdčité. Šikmé postranní kořeny mají korálkovité uzliny, které se tvoří za přítomnosti symbiotického aktinomyceta rodu *Frankia* Brunchorst. Vlákňité bakterie převádějí atmosférický dusík na amoniak pomocí enzymu nitorgenázy. Tento proces se nazývá fixace vzdušného dusíku. Bakterie tímto procesem obohacují půdu chudou na živiny (Schwencke 2001). Pupeny jsou stopkaté, tupé, se 2 stejnými šupinami. Květy jsou jednopohlavné v troj-květních vidlanech za podpůrným listenem. Každý jedinec má oba typy jehněd, které se rozvíjí před vyrašením listů, většinou v období od února do dubna. Samčí jehnědy jsou válcovitého tvaru a přezimují. Samičí jsou tvaru vejcovitého. Během vegetační sezóny po opylení se listence přemění na nerozpadavé plodní šištice. Šištice vytrvávají na stromech do příštího roku. Rozlišují se přisedlé a stopkaté typy šištic. První typ nalezneme například u *Alnus glutinosa*, druhý typ u

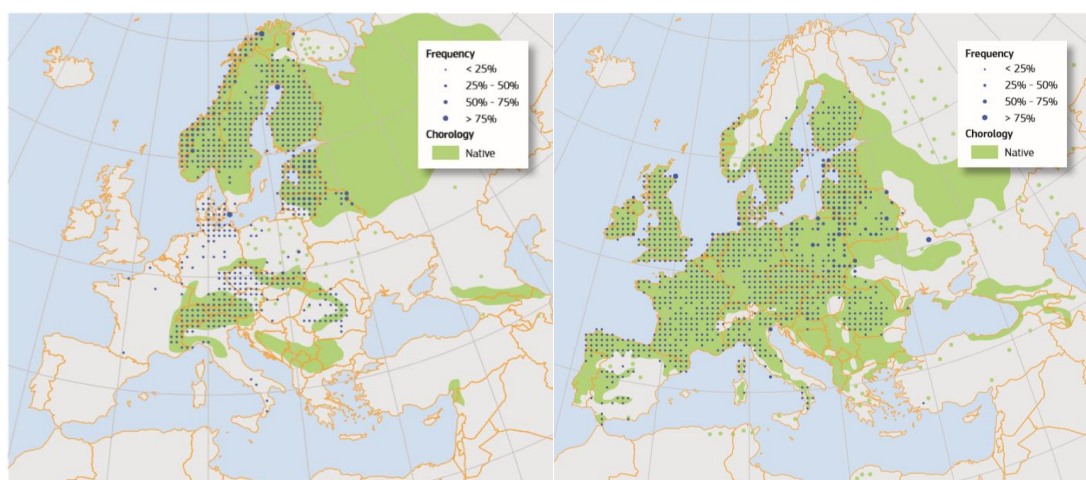
Alnus incana. Plodem je nažka s kožovitým, neprůsvitným lemem (Buriánek 2016; Kovanda 1990).

2.2.1 Ekologie

Olše jsou rychle rostoucí dřeviny s velkou pařezovou výmladností. Řadí se mezi pionýrské dřeviny, tzn. jsou schopné osidlovat nehostinná místa, na nichž se jiným dřevinám nedaří. Jsou vázány převážně na zamokřené stanoviště a zejména podél vodních toků. Olše vyžadují světlá stanoviště, avšak v mládí potřebují přístínění. Plodit začínají v nízkém věku kolem desátého roku (Kovanda 1990).

2.2.2 Geografické rozšíření

Rod *Alnus* Mill. je rozšířen především v mírném pásmu severní polokoule. V jižní části polokoule se vyskytuje pouze v Andách (Vít et al. 2017). Temperátní *Alnus glutinosa* svým výskytem pokrývá kromě Fenoskandinávie celou Evropu a zasahuje i do Turecka, kde se vyskytuje na severovýchodě při pobřeží Černého moře, odkud se rozšířila i do části východního Ruska (San-Miguel-Ayanz et al. 2016). Nevyskytuje se severně za 65° zeměpisné šířky, z východu je limitovaná aridním pásmem. V České republice se nejhojněji vyskytuje při březích vodních toků, prameništ, trvale zamokřených půd (Buriánek 2016). Montánní a boreální *Alnus incana* má těžiště rozšíření v celé Skandinávii a evropské části Ruska. Ve střední Evropě se vyskytuje ve vyšších polohách, kde nahrazuje *A. glutinosa* (San-Miguel-Ayanz et al. 2016). V České republice zástupci rodu *Alnus* osidlují společně břehy horských řek a podél toků klesají do nižších poloh (Buriánek 2016).



Obr. 2: Mapa rozšíření *Alnus incana* (vlevo), *Alnus glutinosa* (vpravo) – mapa převzata z European Atlas of Forest Tree Species

2.2.3 Historické rozšíření olší

Rozšíření druhů, tak jak je známe dnes, je důsledkem kolísání klimatu v minulosti. Kolísání klimatu se vyznačuje střídáním dob glaciálních a interglaciálních. Nejmladší pleistocenní glaciál vrcholil zhruba před 20 tisíci lety. Pro přežití v nepříznivých podmínkách glaciálního maxima se populace, druhy a celá společenstva stahovala do oblastí nazývaných refugia. Po konci doby ledové, na začátku holocénu před 12 tisíci lety docházelo k přirozené expanzi s tím, jak postupně odtával ledový příkrov (Douda 2014). Díky studiím jako jsou pylové a makrozbytkové analýzy, chloroplastové DNA a analýzy mikrosatelitů, se podařilo zrekonstruovat cesty, kudy pravděpodobně expandovaly druhy *A. glutinosa* a *A. incana* do nynějšího rozšíření. Předpokládá se, že těžiště výskytu během glaciálu bylo v jižně položených oblastech s vhodnými klimatickými podmínkami. Mezi tradiční evropská refugia se zahrnuje Pyrenejský, Apeninský a Balkánský poloostrov (Douda et al. 2015).

2.2.4 Rozmnožování

Jak už bylo zmíněno, olše jsou jednodomé rostliny. Rozmnožují se pohlavně. Semena mají výbornou schopnost se vznášet a plout, díky korkové plovoucí komůrce a olejovému povlaku se mohou šířit vodním proudem. Nejčastějším způsobem opylování je anemogamie, tj. větrosnubnost, disperze semen je zajišťována anemochoricky (zvířecím přenosem) a hydrochoricky (přenos prostřednictvím vody) (Kovanda 1990; San-Miguel-Ayanz et al. 2016).

2.2.5 Hybridizace rodu *Alnus*

Hybridizace dřevin je častým jevem, jak již bylo zmíněno v kapitole 1. Vnitrodruhová hybridizace mezi druhy rodu *Alnus* je známá v severní Americe, Evropě, Rusku a Japonsku (Banaev & Bažant 2016).

2.2.6 Polyploidizace rodu *Alnus*

Díky průtokové cytometrii a molekulární biologii jsou rozlišovány ploidie jednotlivých druhů. Taktéž v rámci rodu *Alnus* je možné nalézt polyploidní druhy. Zatímco americké a evropské druhy jsou obvykle diploidní ($2n = 2x = 28$), v západní Asii a Mediteránu jsou soustředěny nejčastěji tetraploidní druhy ($2n = 4x = 56$), méně častěji pak druhy triploidní ($2n = 3x = 42$), hexaploidní ($2n = 6x = 84$) a oktoploidní ($2n = 8x = 112$) (Vít et al. 2017).

2.3 *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. – olše lepkavá

2.3.1 Morfologický popis

Alnus glutinosa je keř nebo strom často vícekmenný, dorůstající do výšky 20 (–35) m. Koruna je podlouhle vejcovitého až jehlanovitého tvaru. Borka stromu je v mládí tmavošedá, rozbrázděná, později přechází do šedé až černohnědé barvy. Letorosty *A. glutinosa* jsou lysé nebo roztroušeně pýřité a lepkavé. Pupyeny mohou být stopkaté, obvejcovité, červenohnědé, lysé a lepkavé, kryté dvěma šupinami. Čepel listu okrouhle obvejčitá, nepravidelně pilovitá 4–9 cm dlouhá a 3–7 cm široká. Na špičce tupá nebo vykrojená. U báze se čepel klínovitě zužuje. Listy jsou v mládí lepkavé a na spodní straně v paždí žilek nažloutle chlupaté. *Alnus glutinosa* má 5–8 párů postranních žilek. Řapík je 1–2 cm dlouhý. Na podzim listy opadají zelené (Buriánek 2016). Pohlavním orgánem jsou jehnědy, vytváří se na podzim a rozkvétají na jaře před pučením listů. Samčí jehnědy jsou na koncích větví po 2–5. Jsou 4–7 cm dlouhé, mají 4 tyčinky. Samičí jehnědy jsou po 3–5. Dlouhé můžou být 5–10 cm a jsou zpravidla vejcovité. Mají podpůrnou šupinu štítkovitě zduřelou, nepravidelně vroubkovanou. Blizny mají červenou barvu. Plodem je plochá, červenohnědá nažka s úzkým lemlem. Nažky dozrávají v září. Od podzimu do konce února se uvolňují ze šištice. *Alnus glutinosa* začíná plodit zhruba ve 12 letech. Může plodit každoročně. Dožívá se 100 let (Kovanda 1990).

2.3.2 Karyologie

Alnus glutinosa je diploidní druh, $2n = 2x = 28$ (Kovanda 1990; Siljak-Yakovlev 2010). Studie cytologické diverzity odhalila přítomnost tetraploidních populací s $2n = 4x = 56$ v severní Africe, Balkánském a Pyrenejském poloostrově. Později byly tetraploidní populace *A. glutinosa* vyčleněny jako dva samostatné druhy *A. rohlenae* (Balkánský poloostrov) a *A. lusitanica* (severní Afrika a Pyrenejský poloostrov) (Vít et al. 2017).

2.3.3 Ekologie

Alnus glutinosa vytváří charakteristická společenstva olšin. Je diagnostický druh svazu *Alnion glutiosae*, vyskytuje se i ve svazu *Sambuco-Salicion capreae*. Druh je náročný a citlivý na stálost podzemní vody (Douda 2008). Listy *A. glutinosa* nemají mechanismus kontrolující transpiraci (nejsou schopny regulovat odpařování vody). Mohutný křovitý kořenový systém se adaptoval na velmi vlhké půdy. Typické prostředí jsou lužní lesy, prameniště, bažiny, břehy tekoucích i stojatých vod. *Alnus glutinosa* snáší různé typy půd od nevápenných, hlinitých po jílovité a velké

rozpětí pH hodnot od 4,2 do 7,5. Získaná fyziologická adaptace, umožní růst v trvale zamokřeném prostředí. (Claessens et al. 2010). Fixuje atmosférický dusík v kořenových uzlinách pomocí bakterie rodu *Frankia* (Kovanda 1990).

2.3.4 Geografické rozšíření *Alnus glutinosa*

Alnus glutinosa je původně rozšířená téměř po celé Evropě, mimo studený pás od střední Skandinávie do mediteránních oblastí. Do jejího areálu spadá i Maroko a Alžírsko (Claessens et al. 2010). V ČR má roztroušený až hojný výskyt v planárním až montánním stupni. Běžně nepřesahuje 850 m. n. m, její výškové maximum v ČR je 980 m. n. m (Rýchory, Kutná) (Kovanda 1990).

2.3.5 Význam

Jako významná meliorační dřevina, zlepšuje půdu, a proto ji lze použít jako přípravnou dřevinu při zalesňování nepříznivých stanovišť jako jsou neplodné plochy nebo degradované půdy. Vysazuje se i při zakládání břehových porostů. Opadem listů zvyšuje kvalitu půdy. Toleruje silné znečištění ovzduší, proto se osvědčila i při výsadbě v průmyslových a imisních oblastech (Kovanda 1990; Buriánek 2016). Estetické a mechanické vlastnosti dřeva *A. glutinosa* mají mnoho využití. Využívají se na energii, vlákno v papírenském průmyslu i přes jeho červené zbarvení. Obecně není vhodným dřevem pro stavební průmysl, protože jeho tvrdost není dostatečná jako u jiných dřevin. Má však výbornou odolnost ve vodě, proto je používáno při vodních stavbách, a to na můstky, podpěry a menší čluny (San-Miguel-Ayanz et al. 2016). Jako zajímavost lze uvést, že většina podvodních staveb v Benátkách je právě ze dřeva olše lepkavé (Housley & Holloway 2014). Dřevo je oceňováno v truhlářství díky masivnosti a snadnému obarvení (Claessens et al. 2010).

2.4 *Alnus incana* (L.) Moench – olše šedá

2.4.1 Morfologický popis

Alnus incana je keř nebo strom dorůstající do výšky 6–20 m. Dožívá se průměrně 50–60 let. Jeho charakteristický habitus vytváří přímý štíhlý kmen a vejcovitá až kuželovitá hustá koruna je pravidelně větvená. Borka je hladká, světle šedá, se zřetelnými lenticelami. Na rozdíl od *A. glutinosa* má *A. incana* letorosty pýřité a nelepivé. Pupeny jsou tupě špičaté zpravidla plstnaté a opět nelepivé. Jsou kryté dvěma šupinami. Čepel listu je vejčitá až eliptická, dlouhá 4–12 cm a široká 3–9 cm. Na bázi je uťatá až slabě srdčitá. Je zašpičatělá, dvojité pilovitá, nelepivá a na rubu šedě chlupatá, v paždí žilek plstnatá. List má 8–12 párů žilek. Řapík měří 1,5–2,5 cm.

Rozkvétá časně z jara ještě před vyrašením listů. Samčí jehnědy jsou po 3-5 na koncích větví, jsou 7–9 cm dlouhé a počet tyčinek se pohybuje od 4 do 6 kusů. Samičí jehnědy rostou po 4–8, mají červenohnědou barvu. Plodní šištice jsou vejcovité nebo kuželovité 10–16 mm dlouhé a přisedlé. Plodem je rezavě hnědá nažka s úzkým lemlem. Semeno dozrává a rozptýlí se od září do listopadu, obvykle větrem nebo vodou. Stejně jako *A. glutinosa* fixuje dusík pomocí kořenových uzlin (Kovanda 1990).

2.4.2 Karyologie

Alnus incana je diploidní druh, $2n = 2x = 28$ (Kovanda 1990; Siljak-Yakovlev 2010) .

2.4.3 Ekologie

Alnus incana je rychle rostoucí, mrazuvzdorná a krátkověká dřevina. Na geologické podloží je nenáročná, pouze musí mít dobře provzdušněný substrát. Typické stanoviště, kde se vyskytuje jsou břehy horských řek a potoků, náplavy bystřin, suťové svahy a strže. Upřednostňuje zaplavované půdy a půdy se silným podílem skeletu, je tolerantní ke kyselým půdám s hodnotou pH 3,5 – 4,0. Snáší lépe stagnující vodu a kolísání podzemní vody než *A. glutinosa*. Je náročná na světlo. Zástin konkurenčních dřevin nesnáší moc dobře. Je diagnostickým druhem svazu *Alnetum incane* a podsvazu *Alnenion glutinoso-incane* (Claessens et al. 2010).

2.4.4 Geografické rozšíření *Alnus incana*

Areál druhu *Alnus incana* je rozdělen na dvě velké arely. Jedna rozsáhlá a kontinuální v severní Evropě, a druhá menší, rozpadlá na mnoho izolovaných populací jednotlivých horských masivů ve střední a jihovýchodní Evropě (San-Miguel-Ayán et al. 2016). Nachází se ve vegetačním stupni zóny boreální, severní temperátní, jižní temperátní a submediteránní. Na jih zasahuje po Albánii a Bulharsko, směrem na západ roste po Kavkaz a západní Sibiř. Na Kavkaze se nachází v nadmořské 1800 m (Douda et al. 2014). V ČR je přítomná ve všech submontánních až supramontánních oblastech. V ČR dosahuje maxima 1000 m. n. m. (Krkonoše, Růžová hora) (Kovanda 1990). Podél vodních toků sestupuje do nižších oblastí.

2.4.5 Význam

Alnus incana je pionýrskou dřevinou, rychle kolonizuje otevřená narušená stanoviště. Díky kořenovým výhonkům je schopná rychlé regenerace. Je výbornou meliorační a přípravnou dřevinou k zalesňování neplodných půd, sesuvných svahů a extrémních stanovišť. Opadem zvyšuje plodnost půdy pro jiné dřeviny (Buriánek 2016). Také díky

symbióze s bakteriemi rodu *Frankia*, je schopna fixovat dusík a tím zlepšovat stav půdy. Dřevo *A. incana* má malou komerční hodnotu, někdy je používáno jako palivové dřevo. Má relativně málo závažných škůdců a chorob, ačkoli starší kmeny jsou náchylné k rozpadu řadou houbových druhů (Durrant et al. 2016).

2.5 Hybridizace druhů *Alnus glutinosa* a *Alnus incana*

Hybrid vzniklý zkřížením *A. glutinosa* a *A. incana* se nazývá *A. × pubescens* Tausch. Jeho nálezy nejsou v přírodě početné, nicméně jsou zaznamenány v Bělorusku, Litvě, Polsku, Bosně a Hercegovině, České republice, Švýcarsku, Irsku a dalších zemích (Banaev & Bažant 2016), v místech sympatrického výskytu rodičovských druhů. Oproti rodičovským druhům se vyznačuje větší odolností proti suchu a zvýšenou odolností vůči určitým formám hniloby. Z těchto důvodů je dřevo křížence častěji využíváno (Banaev & Bažant 2016).

2.5.1 Morfologie hybrida

Listy *Alnus × pubescens* disponují variabilitou obou rodičovských druhů. Čepel je nepravidelně pilovitá na špičce listu tupá až jemně špičatá. U báze je list zaokrouhlený. Vrchní strana listu je řídko chlupatá. Spodní strana je hustě chlupatá. Letorosty jsou pýřité. Borka je zpravidla v dolní části kmene podélně rozpukaná, jinak hladká (Kovanda 1990).

2.5.2 Karyologie hybrida

Hybrid *Alnus × pubescens* je diploidní taxon ($2n = 2x = 28$) (Siljak-Yakovlev 2010).

2.5.3 Fertilita hybrida

Plodnost hybrida nebyla dostatečně prozkoumaná, nicméně v zahraniční literatuře se udává, že semena získaná křížením *A. incana* a *A. glutinosa* jsou životaschopná, ale klíčivost semen dosahuje pouze 12 – 13% (Kundzinsh 1968).

2.5.4 Výskyt hybrida

Hybrid se vyskytuje roztroušeně v sympatrických populacích rodičovských druhů v oblasti střední Evropy (Banaev & Bažant 2016).

3 Teoretický úvod k použitým metodám

3.1 Ordinační metody

K náhledu do morfologické variability tří studovaných taxonů byly použity ordinační metody, které charakterizují znaky jako body v mnohorozměrném prostoru. Redukují celkový počet znaků z původních dat, aby nedošlo ke ztrátě informací. V taxonomii je nejčastěji používanou metodou analýza hlavních komponent tzv. PCA (Principal Component Analysis). Podobnost znaků je vyjádřena euklidovskou vzdáleností. Ta minimalizuje ztrátu informace, natačí osy do směru maximální variability rozptylu a zachovává vzdálenost měřených hodnot (Marhold 2011).

3.2 PCA

PCA je lineární metoda, která transformuje pozorovaný soubor znaků na hypotetický, který je vzájemně nekorelovaný a uspořádaný dle klesající variability. Právě těmito proměnnými se říká „hlavní komponenty“. Každá hlavní komponenta je představena lineární kombinací původních znaků. Míra vysvětlené variability určuje důležitost každé komponenty. Vodorovná osa PCA1 vysvětluje nejvyšší podíl variability datového souboru v %, druhá osa PCA2 je vedena ve směru druhé nejvyšší variability, který je kolmý na směr PCA1. Analýza hlavních komponent vychází ze symetrické matice založené na původních znacích. Matice může být korelační, kovarianční nebo skalárních součinů (Marhold 2011).

Mezi předpoklady PCA se řadí nepřítomnost odlehlých hodnot a nepřítomnost více skupin objektů. Hlavními výstupy analýzy PCA jsou 1) popis a vizualizace vztahů mezi proměnnými, 2) výběr neredukovaných proměnných pro další analýzy, 3) vytvoření zastupitelných faktorových os pro použití v další analýze, 4) identifikace shluků v datech spjatých s variabilitou dat, tj. vymezení skupin, které mohou odrážet morfologickou diferenciaci, 5) identifikace vícerozměrných odlehlých objektů (Marhold 2011).

4 Materiál a metodika

4.1 Získání dat

Pro analýzu morfologických dat byly použity herbářové položky z pražského herbáře Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy (PRC, Thiers 2016). Nejstarší položka pochází z roku 1834 a nejmladší z roku 2017. Celkem bylo změřeno 84 jedinců hybridu *Alnus* × *pubescens*, 20 jedinců *Alnus glutinosa* a 20 jedinců *Alnus incana*. Vzorky rodičovských druhů byly náhodně vybrány.

4.2 Zpracování dat

Ke zhodnocení rozlišovacích znaků tří středoevropských olší (*Alnus glutinosa*, *A. incana* a jejich hybridu *A. × pubescens*) byla použita mnohorozměrná morfometrická analýza. Jednotlivé morfologické znaky byly vybrány na základě publikovaného determinačního klíče a Flóry (Hegi 1981; Kovanda 1990, 2002; Walters 1993; Nilsson 2000) a pozorování (Vít et al. 2017). U každého jedince byly měřeny znaky na vegetativních částech dřeviny (list, letorosty). Morfometrické měření bylo provedeno na jednom listu od každého jedince. List byl vybrán náhodně z několika listů vyskytujících se na položce tak, aby reprezentoval průměrný list daného jedince. U každého jedince bylo měřeno celkem 16 základních znaků. Cílem práce bylo zjistit, jak lze morfologicky odlišit rodičovské druhy od hybridu. Znaky byly rozděleny na kvalitativní, a kvantitativní. Do skupiny kvalitativní spadají binární, které se kódují hodnotami 0, 1 a vícestavové, které jsou kódovány celými čísly. Mezi znaky kvantitativní se řadí spojitě veličiny vyjádřené měřitelnou stupnicí. Podle sched byly určeny jednotlivé taxony.

Tab. 1: Měřené znaky na listech *Alnus glutinosa*, *A. incana* a jejich hybridu *A. × pubescens* použité pro studium pomocí mnohorozměrných morfometrických analýz

zkratka	znak	jednotka
MDC_L	maximální délka čepele listu	(mm)
MSPC_L	maximální šířka poloviny čepele listu	(mm)
VMSC	vzdálenost k maximální šířce čepele od začátku řapíku	(mm)
VB_L	vzdálenost od báze listu k místu největší šířky listu podél střední žilky	(mm)
DR	délka řapíku	(mm)
SC90D	šířka čepele v 90 % délky čepele	(mm)
PPPZ	počet párů postranních žilek	počet
CHS	chlupatost ze spodní strany listu	0,1,2,3,4
CHV	chlupatost z vrchní strany listu	0,1,2,3,4

CH2Z	chlupatost druhého páru postranní žilky (počítáno od řapíku)	0,1,2,3,4
CHOM	přítomnost chomáčků chlupů v paždí žilek	0,1
TZL	tvar zakončení listu	0,1,2,3,4
UZC	úhel zakončení čepele	stupně
UBC	úhel báze čepele	stupně

Tab. 2: Měřené znaky na letorostu a pupenu *Alnus glutinosa*, *A. incana* a jejich hybrida *A. × pubescens* použité pro studium pomocí mnohorozměrných morfometrických analýz

zkratka	znak	jednotka
CHL_L	chlupatost letorostu	0,0.5,1
CH_P	chlupatost pupenů na letorostech	0,1

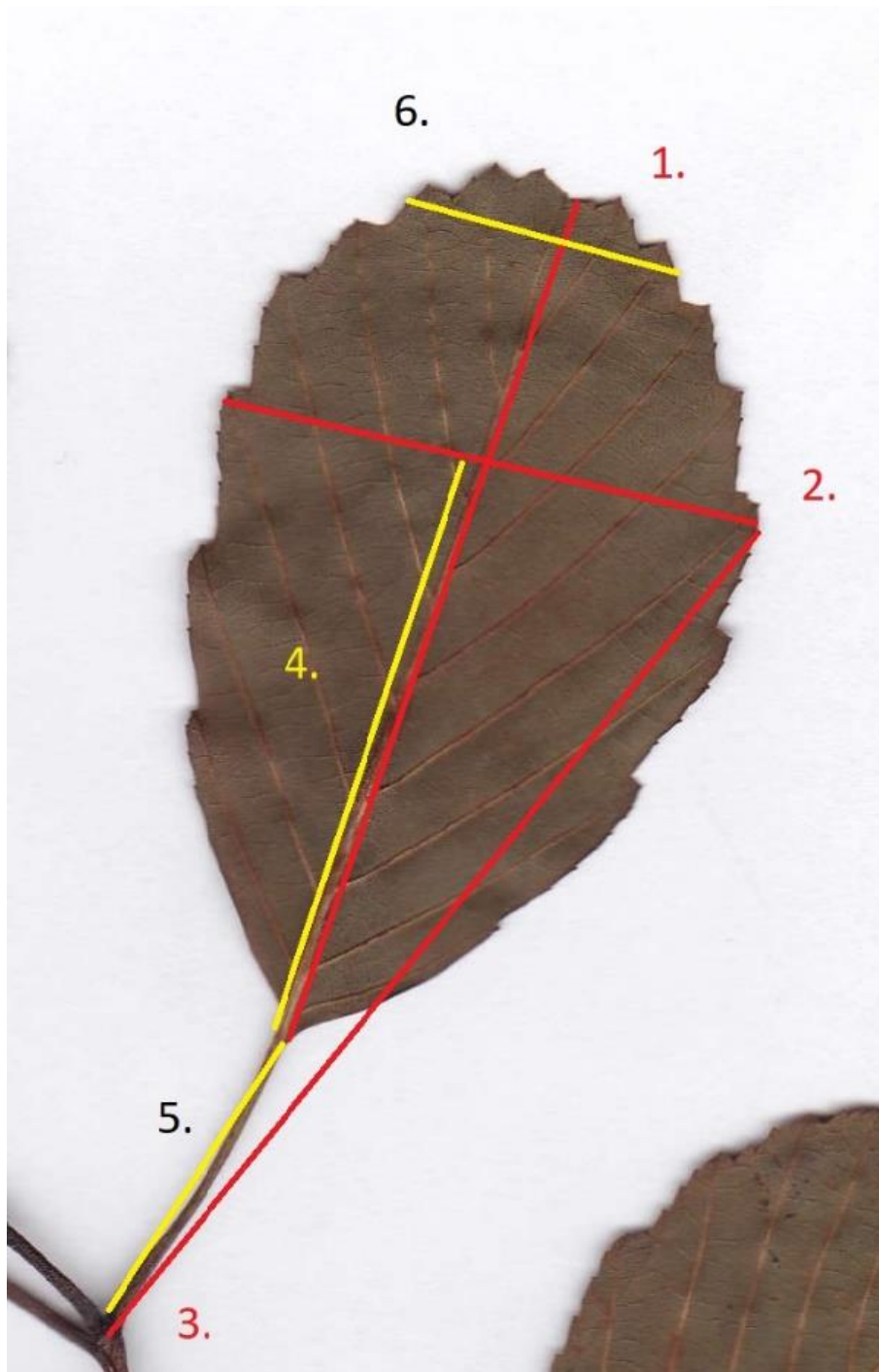
4.3 Postup při měření morfologických znaků:

Morfometrická analýza byla provedena u 124 vzorků. U každého vzorku byl analyzován list, letorost a pupen. Na listech bylo sledováno 14 znaků (Tab.1), u letorostu a pupenu po 1 znaku (Tab.2).

Znaky chlupatosti byly měřeny pod binokulární lupou Zeiss Stemi 2000-C s instalovanou kamerou Axiocam ERC 5s. Stupnice pro chlupatost byla stanovena arbitrárně vícestavovými hodnotami 0 – lysé, 1 – jednotlivé chlupy, 2 – řídce chlupaté (chlupy roztroušené po povrchu listu), 3 – hustě chlupaté (chlupy pokrývající alespoň 50 % povrchu), 4 – plstnaté (pokrývající 100 % povrchu), binárními hodnotami pro nepřítomnost – 0 a přítomnost – 1 chlupů.

Kvantitativní spojité hodnoty byly naměřeny v programu ImageJ (verze Java 1.8.0_112) z fotografií herbářových položek. Ke každé fotografii bylo přiloženo měřítko, které sloužilo ke kalibraci a v programu se přepočítalo na 10 mm. Nástrojem Line se získaly hodnoty maximální délky a šířky čepele, vzdálenost k maximální šířce čepele od začátku řapíku, vzdálenost od báze listu k místu největší šířky listu podél střední žilky, délka řapíku, šířka čepele v 90 % délky čepele. Nástrojem Angle byly stanoveny hodnoty úhlů zakončení špičky a báze čepele. Znak o tvaru zakončení listu byl stanoven škálou 0 – ostře špičatý, 1 – špičatý, 2 – oblý, 3 - tupý, 4 – vykrojený.

Naměřené hodnoty pro mnohorozměrnou ordinační analýzu byly zpracovány programem R. (R Development Core Team 2011). Využity byly skripty přímo určené pro mnohorozměrnou analýzu morfometrických dat MorphoTools (Koutecký 2014). Pro prvotní náhled do morfologické variability byla použita PCA (skript). Variabilita jednotlivých znaků mezi taxony byla vizualizována pomocí základních boxplotů (R Development Core Team 2011).

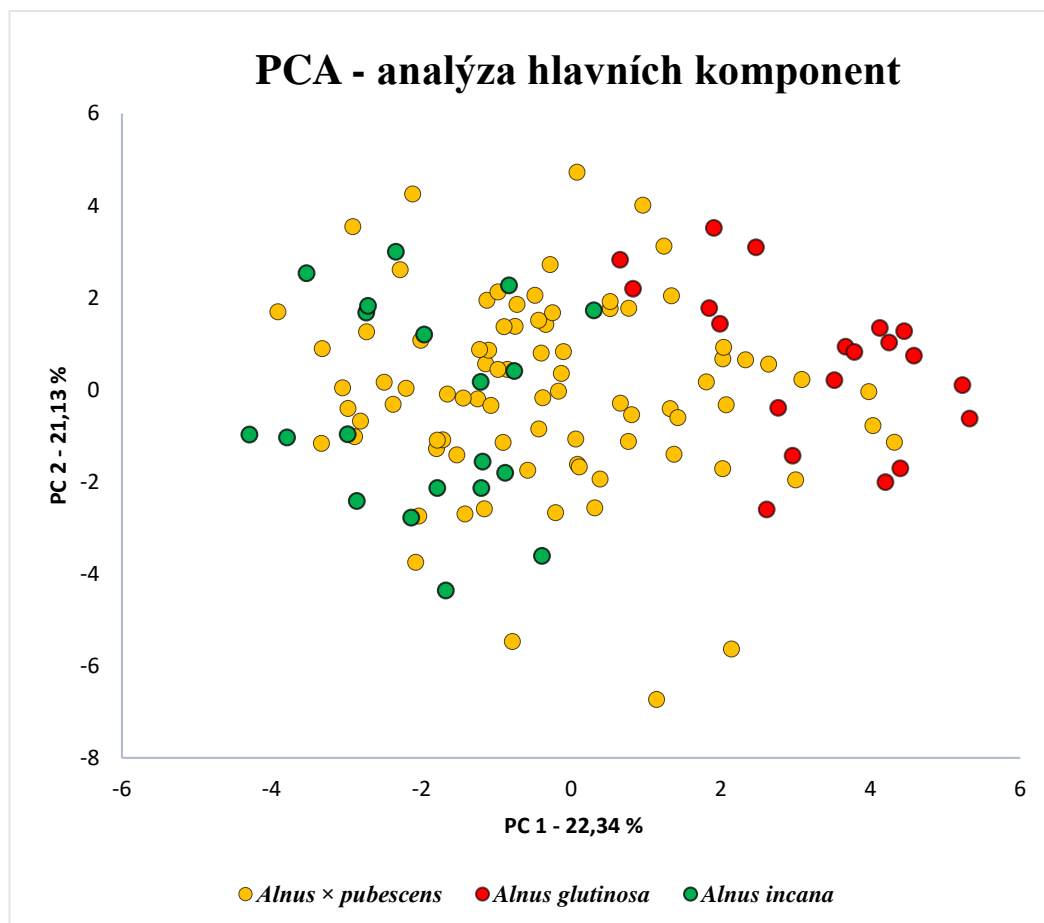


Obr. 3: List *Alnus* × *pubescens* – měřené hodnoty: 1. max. délka čepele, 2. max. šířka čepele, 3. vzdálenost k max. šířce čepele od začátku řapíku, 4. vzdálenost od báze listu k místu největší šířky listu podél střední žilky, 5. délka řapíku, 6. šířka čepele

5 Výsledky

5.1 PCA

Naměřená morfologická data byla analyzována pomocí mnohorozměrné PCA. Celkem byla analyzována data z 124 herbářových položek. Analýza hlavních komponent (PCA) rozdělila jedince do tří kompaktních, nicméně mírně se překrývajících shluků. Rodičovské druhy *Alnus glutinosa* a *A. incana* jsou od sebe naprosto separované. Hybridní taxon *A. × pubescens* se nachází jak samostatně, tak i ve shluku rodičovských druhů, což naznačuje jeho kontinuální variabilitu, tj. přechod od jednoho rodiče ke druhému.



Obr. 4: PCA analýza znaků všech tří druhů, *Alnus × pubescens* žlutá kolečka, *A. glutinosa* červená kolečka, a *A. incana* zelená kolečka. První komponenta vysvětluje 22,34% celkové variability, druhá komponenta 21,13% celkové variability

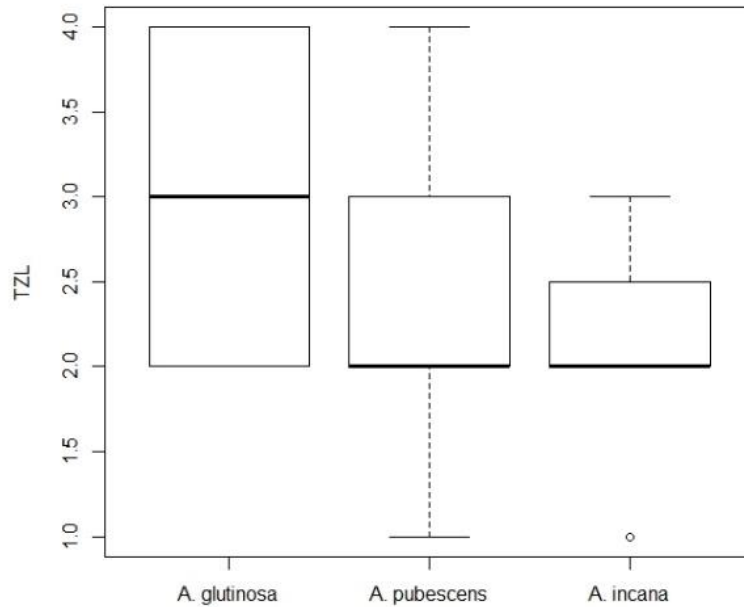
Proložením kolmice na PC1 dochází k vymezení skupin jedinců do taxonů. Znaky, které jsou nejvíce korelované s první komponentní osou jsou důležité pro oddělení hybrida od rodičovských druhů. Pokud hodnota korelačního koeficientu překročila absolutní hodnotu 0,7, byl tento znak určen jako důležitý, přispívající významně, k oddělení studovaných taxonů. Znaky, které nejvíce přispívají k oddělení taxonů jsou: SC90D – šířka čepele v 90 % délky čepele, CHS – chlupatost ze spodní strany listu, CHV – chlupatost z vrchní strany listu, CH2Z – chlupatost druhého páru postranní žilky, PPPZ – počet párů postranních žilek a TZL – tvar zakončení listu. Tyto znaky jsou spolu s korelačními koeficienty pro dané komponentní osy zobrazeny v tabulce 3.

S druhou komponentní osou jsou nejvýše korelované tyto znaky MDC_L – maximální délka čepele listu, MSPC_L – maximální šířka poloviny čepele listu, VMSC – vzdálenost k maximální šířce čepele od začátku řapíku, VB_L vzdálenost od báze listu k místu největší šířky listu podél střední žilky, DR – délka řapíku, avšak ty nepřispívají k oddělení daných skupin.

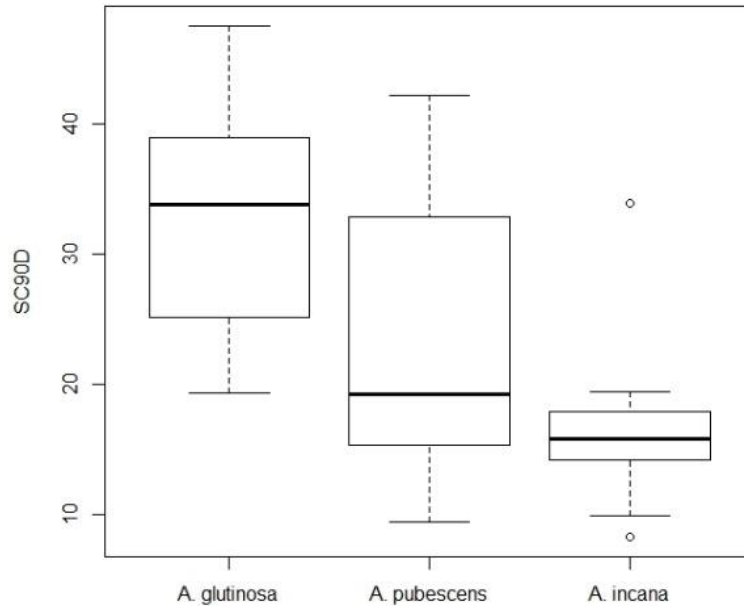
Tab. 3: Korelační koeficienty pro jednotlivé měřené znaky a první a druhou komponentní osu. Znaky, které přispívají nejvíce k oddělení taxonů, jsou tučně zvýrazněny

Korelace znaků			
Charakter	znak	PC1	PC2
MDC_L	maximální délka čepele listu (mm)	0,1551	-0,9249
MSPC_L	maximální šířka poloviny čepele listu (mm)	0,4389	-0,7850
VMSC	vzdálenost k maximální šířce čepele od začátku řapíku (mm)	0,4438	-0,8499
VB_L	vzdálenost od báze listu k místu největší šířky listu podél střední žilky (mm)	0,4334	-0,7798
DR	délka řapíku (mm)	0,2460	-0,7159
SC90D	šířka čepele v 90 % délky čepele (mm)	0,8519	-0,1157
UZC	úhel zakončení čepele	0,6714	0,4285
UBC	úhel báze čepele	-0,3290	0,0103
CHS	chlupatost ze spodní strany listu	-0,7556	-0,2651

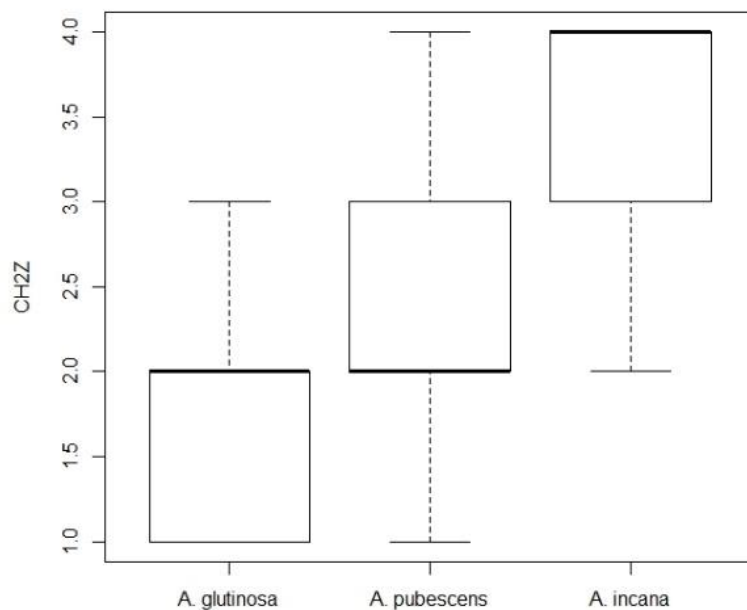
CHV	chlupatost z vrchní strany listu	-0,7617	-0,1744
CH2Z	chlupatost druhého páru postranní žilky (počítáno od řapíku)	-0,7835	-0,2526
CHOM	přítomnost chomáček chlupů v paždí žilek	-0,0031	-0,2126
PPPZ	počet párů postranních žilek (počet)	-0,7406	-0,3792
TZL	tvar zakončení listu	0,7522	0,4002
CHL_L	chlupatost letorostu	-0,5185	-0,1400
CH_P	chlupatost pupenů na letorostech	-0,2845	-0,0261



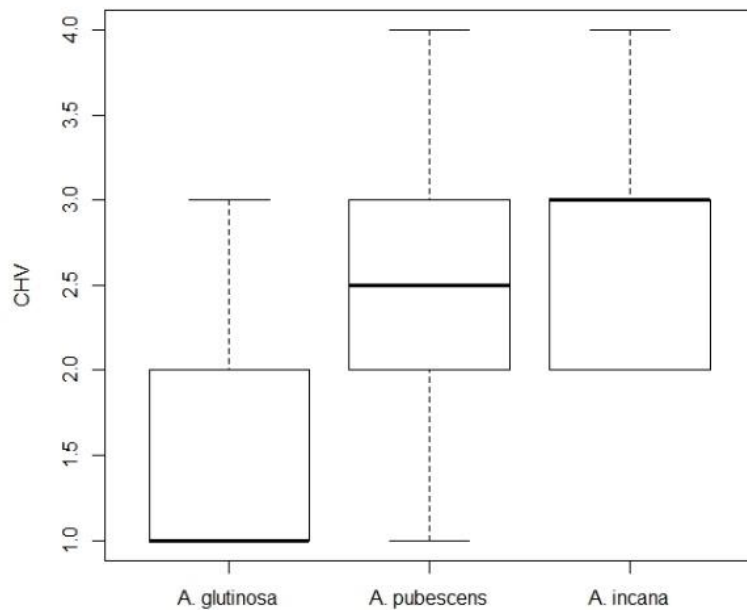
Obr. 5: Krabicový diagram pro TZL – tvar zakončení listu pro jednotlivé taxony. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu. Jednotlivé body jsou odlehlá pozorování.



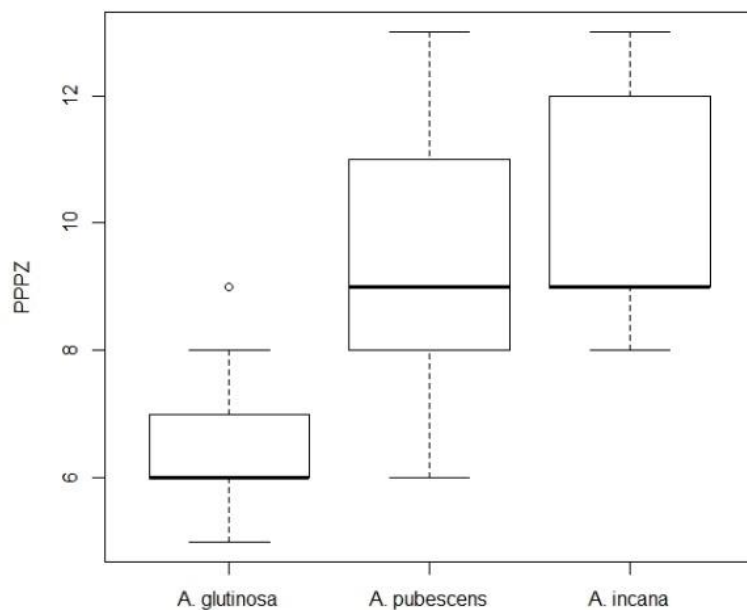
Obr. 6: Krabicový diagram pro SC90D – šířka čepele v 90 % délky čepele pro jednotlivé taxony. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu. Jednotlivé body jsou odlehlá pozorování.



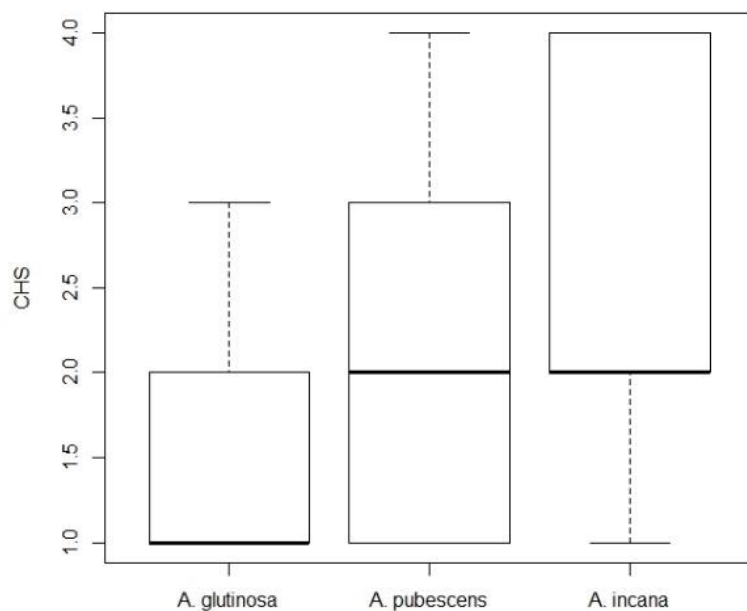
Obr. 7: Krabicový diagram pro CH2Z – chlupatost druhého páru postranní žilky pro jednotlivé taxony. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu.



Obr. 8: Krabicový diagram pro CHV – chlupatost z vrchní strany listu pro jednotlivé taxony. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu.



Obr. 9: Krabicový diagram pro PPPZ – počet párů postranních žilek pro jednotlivé taxony. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu. Jednotlivé body jsou odlehlá pozorování.



Obr. 10: Krabicový diagram pro CHS – chlupatost ze spodní strany listu. Krabice představují mezikvartilové rozpětí (25–75 %), zvýrazněná úsečka vyjadřuje pozici mediánu. Vousy vyjadřují rozsah mezi 1,5 spodního a 1,5 horního kvartilu.

6 Diskuze

Cílem této práce bylo stanovit stupeň morfologické variability hybridního taxonu *Alnus* × *pubescens*. V případě morfologicky lišících se rodičovských druhů může být morfometrika užitečným nástrojem, který dokáže odlišit nejen rodičovské druhy, ale i jejich hybridy. Nicméně v případě hybridů *A.* × *pubescens* je tato metoda použitelná jen omezeně. Jako dobré diagnostické znaky se ukázaly intermediární hodnoty ve srovnání s rodičovskými druhy *A. glutinosa* a *A. incana*, jenž jsou: šířka čepele v 90 % délky čepele, chlupatost ze spodní i vrchní strany listu, chlupatost druhého páru postranní žilky, počet párů postranních žilek, tvar zakončení listu.

Parnell (1994) ve své studii morfologické variability hybridizujících jedinců prokázal velkou morfologickou příbuznost hybridů k *A. incana*, což následně potvrdili (Banaev a Bažant 2016). Kundzins (1957) vypořádal, že klíčivost semen byla významně vyšší, když *A. incana* byla použita jako mateřská rostlina (26 % klíčivost), zatímco po použití *A. glutinosa* jako mateřské rostliny, klíčivost semen byla pouze 1,5 % (Voronova et al. 2015), což podporuje názor, že *A. incana* je většinou mateřským druhem, nicméně oboustranná hybridizace je evidentně možná (*A. glutinosa* stejně jako *A. incana* mohou figurovat jako mateřské rostliny). Podle výše zmíněných studií by pro set našich jedinců rodu *Alnus* mělo platit, že hybridní jedinci se budou vyskytovat v ordinačním diagramu blíže k *A. incana* než *A. glutinosa*. Opak je ale pravdou, hybridní jedinci se vyskytují v ordinačním prostoru jak mezi měřenými rodičovskými druhy, tak se částečně překrývají s oběma z nich.

Důvodů pro neočekávaný výsledek může být několik. 1) položky *A.* × *pubescens* nemusely být na herbářových položkách dobře určené. Je zvykem, že herbářové položky si určují primárně jejich autoři, případně jsou jména korigována správci herbářových sbírek. 2) položky *A.* × *pubescens* nemusely být správně sebrány. Ačkoliv takové položky (např. letorosty, položky sebrané ze zastíněného stromu, poničené okusem) byly vyřazeny z datasetu, je možné, že některé unikly pozornosti a nepředstavují ideální, dobře vyvinuté větve s listy. 3) Předchozí studie, potvrzující blízkost *A.* × *pubescens* k *A. incana* mohly být ovlivněny ekologickými podmínkami. Změna vnějších podmínek může ovlivnit míru hybridizace, při které dojde k narušení specifických podmínek fáze kvetení a opylování. *A. incana* začíná kvést o týden dříve než *A. glutinosa*. Podle pozorování konec kvetení *A. incana* připadá obvykle na začátek kvetení *A. glutinosa* (Banaev a Bažant 2016). Obě předchozí studie probíhaly v naprosto odlišných ekologických podmínkách od podmínek střední Evropy (tj. západní Sibiř, Banaev & Bažant 2016 a Irsko, Parnell 1994), což mohlo mít významný vliv na morfologii *A.* × *pubescens* i rodičovských druhů. Vliv může mít i počet studovaných jedinců hybridního původu, kdy se zvyšujícím se počtem roste

pravděpodobnost zachycení širšího spektra variability hybridů. 4) Introgresní hybridizace – u měřených položek nebylo jisté, zda se jedná o F1 hybridy (hybridy první filiální generace) nebo o hybridy následných generací či zpětné křížence s rodičovskými druhy. V případě zpětných hybridů je možné očekávat, že jejich morfologii se bude blížit k jednomu z rodičovských druhů.

Parfenov (1980) poukázal na skutečnost, že adaptace polymorfních druhů na specifické podmínky, může vést ke změně struktury biologických pochodů (Bašić et al. 2014) a může tedy změnit i fenologii. Jedna z ekologických bariér v případě těchto dvou druhů olší je klimatický gradient nadmořské výšky. Na území České republiky se *A. glutinosa* a *A. incana* vyskytují většinou alopaticky. Nicméně v oblasti mezofytika při sestupu *A. incana* do nižších poloh podél vodních toků, může docházet v těchto místech sympatrického výskytu k mezidruhovému křížení. Mezidruhovou hybridizací se zvyšuje úroveň biologické a morfologické rozmanitosti (Bašić et al. 2014).

Pro přesnou determinaci, jak u herbářových položek, tak mezi sympatricky rostoucími druhy je vhodnější zvolit molekulární analýzy, jako jsou například analýzy mikrosatelitů, které pomocí druhově specifických markerů rozpoznají a přesně zařadí zkoumané druhy.

7 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo zhodnocení úlohy hybridizace v evoluci rostlin, a také morfometrická analýza dvou druhů olší (*Alnus glutinosa* a *A. incana*) a jejich křížence *Alnus* × *pubescens*.

Vzhledem k přibývajícím příkladům hybridní speciace (Abbott et al. 2013) v rostlinné říši můžeme říci, že homoploidní hybridní speciace je důležitým motorem vzniku nových druhů. Do budoucna je třeba se jí více zabývat proto, abychom lépe porozuměli mechanismům, které produkují reprodukční izolaci, např. selekčnímu tlaku způsobenému změnou vnějších podmínek. Zjištění hybrida je v současné době založeno na analýze jaderných genetických markerů, které demonstrují hybridní původ genomu (Schumer et al. 2014). K tradičním metodám identifikace hybridů však patří i morfometrická analýza znaků, která napomáhá hybrida definovat pomocí morfologických znaků a stále je nedílnou součástí studie hybridních druhů. Morfometrickému měření byla podroben i hybridní druh *Alnus* × *pubescens* a jeho rodičovské druhy.

Na základě analýzy morfologických dat můžeme potvrdit, že rodičovské druhy *Alnus glutinosa* a *A. incana* jsou od sebe naprosto separované. *Alnus* × *pubescens* vykazuje širokou morfologickou variabilitu s přesahem do obou rodičovských druhů. Parnel (1994) ve své studii morfologické variability přírodní hybridizace prokázal velkou morfologickou příbuznost hybrida k *A. incana*, avšak naše studie tento výsledek nepodporuje, neboť hybridní jedinci se vyskytují v ordinačním prostoru jak mezi měřenými rodičovskými druhy, tak se částečně překrývají s oběma z nich. Morfologicky je obtížné hybrida *A.* × *pubescens* odlišit od rodičovských druhů, zvažujeme-li celou škálu morfologických znaků. Přesto tato studie potvrdila, že hybrida lze identifikovat na základě počtu párů postranních žilek (8-10) a zakončení listové čepele, což je podpořeno i v dalších studiích (Bašić et al. 2014; Banaev & Bažant 2016).

8 Přehled literatury a použitých zdrojů

- Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J. W., Baird, S. J., Bierne, N., ... & Butlin, R. K.** (2013). Hybridization and speciation. *Journal of evolutionary biology*, 26(2), 229–246.
- Ainouche, M. L., & Jenczewski, E.** (2010). Focus on polyploidy. *New Phytologist*, 186(1), 1–4.
- Banaev, E. V., & Bazant, V.** (2007). Study of natural hybridization between *Alnus incana* (L.) Moench. and *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. *J Forest Sci*, 53, 66–73.
- Barton, N. H., & Hewitt, G. M.** (1985). Analysis of hybrid zones. *Annual review of Ecology and Systematics*, 16(1), 113–148.
- Bašić, N., Selimović, E., & Pustahija, F.** (2014). Morphological identification of nothospecies *Alnus* × *pubescens* Tausch. and their new localities in central Bosnia. *Works Fac. For., Univ. Sarajevo*, 44, 15–24.
- Briggs, D. a Walters, S. M.** (2001). Proměnlivost a evoluce rostlin. 3. vyd., 1. české vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2001. ISBN 80–244–0186–X.
- Buriánek, V., & Novotný, P.** (2016). Metodická příručka k určování domácích druhů topolů. *Lesnický průvodce*, 11, 35.
- Claessens, H., Oosterbaan, A., Savill, P., & Rondeux, J.** (2010). A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. *Forestry*, 83(2), 163–175.
- Coyne, J. A., & Orr, H. A.** (2004). Speciation. Sinauer. Sunderland, MA.
- Douda, J.** (2008). Formalized classification of the vegetation of alder carr and floodplain forests in the Czech Republic. *Preslia*, 80(2), 199–224.
- Douda, J., Doudová, J., Drašnarová, A., Kuneš, P., Hadincová, V., Krak, K., ... & Mandák, B.** (2014). Migration patterns of subgenus *Alnus* in Europe since the Last Glacial Maximum: a systematic review. *PLoS One*, 9(2), e88709.
- Douda, J., Havrdová, A. a Mandák, B.** (2015). Co nám říkají molekulární data o glaciálních refugiích středoevropských dřevin *Zprávy České botanické společnosti*. 283–300
- Doyle, J. J., Flagel, L. E., Paterson, A. H., Rapp, R. A., Soltis, D. E., Soltis, P. S., & Wendel, J. F.** (2008). Evolutionary genetics of genome merger and doubling in plants. *Annual review of genetics*, 42, 443–461.

- Durrant, H. T., de Rigo, D., & Caudullo, G.** (2016). *Alnus glutinosa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of forest tree species*. Luxembourg: Publ. Off. EU.
- Gross, B. L., & Rieseberg, L. H.** (2004). The ecological genetics of homoploid hybrid speciation. *Journal of heredity*, 96(3), 241–252.
- Hegi, G.** (1981). *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, Band 3, Teil 1. Berlin & Hamburg: Parey.
- Hewitt, G. M.** (2011). Quaternary phylogeography: the roots of hybrid zones. *Genetica*, 139(5), 617–638.
- Housley, R. A., Ammerman, A. J., & McClennen, C. E.** (2004). That sinking feeling: wetland investigations of the origins of Venice.
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., ... & Stevens, P. F.** (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20.
- Koutecký, P.** (2015). MorphoTools: a set of R functions for morphometric analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 301(4), 1115–1121.
- Kovanda, M.** (1990). *Alnus* Mill. Pp. 46–50 in: Hejný, S. & Slavík, B. (eds.), *Květena České republiky*, vol. 2. Prague: Academia.
- Kovanda, M.** (2002). *Alnus* Mill. Pp. 145–146 in: Kubát, K., Hrouda, L., Chrtek, J., jun., Kaplan, Z., Kirschner, J. & Štěpánek, J. (eds.), *Klíč ke květeně České republiky*. Prague: Academia.
- Kundzins A.V.** (1957). Melnalkšņa un baltalkšņa hibrīdi Latvijas PSR mežos. (*Alnus glutinosa* and *Alnus incana* hybrids in forests of Latvian SSR.) Latvijas PSR Zinātņu Akadēmijas Vēstis 2(115):69–74. (in Russian with abstract in Latvian).
- Kundzinsh A.V.** (1968). Experiments on Artificial Hybridization of Alder. Gain in Forest Productivity. Riga, Zinatne: 69–99.
- Landry, C. R., Hartl, D. L., & Ranz, J. M.** (2007). Genome clashes in hybrids: insights from gene expression. *Heredity*, 99(5), 483.
- Mallet, J.** (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in ecology & evolution*, 20(5), 229–237.
- Marhold, K.** (2011). Multivariate morphometrics and its application to monography at specific and infraspecific levels. *Monographic plant systematics: fundamental assessment of plant biodiversity*. Ruggell: Gantner, 73–99.

- Masly, J. P., Jones, C. D., Noor, M. A. F., Locke, J., & Orr, H. A.** (2006). Gene transposition as a novel cause of hybrid male sterility. *Science*, *313*, 1448–1450.
- Mayr, E.** (1966) *Animal species and evolution*. Cambridge: Harvard University Press, 795 s.
- Nilsson, O.** (2000). *Alnus* Mill. Pp. 203–208 in: Jonsell, B. & Karlsson, T. (eds.), *Flora nordica*, vol. 1. Stockholm: Bergius Foundation.
- Parfenov, V.** (1980). Dependence of distribution and adaptation of plant species on the area borders. Minsk, Nauka i tekhnika: 205.
- Parnell J.** (1994). Variation and hybridization of *Alnus* Miller in Ireland. *Watsonia*, *20*: 67–70.
- Prentis, P. J., Wilson, J. R., Dormontt, E. E., Richardson, D. M., & Lowe, A. J.** (2008). Adaptive evolution in invasive species. *Trends in plant science*, *13*(6), 288–294.
- R Development Core Team.** (2011). R: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.R-project.org>.
- Rieseberg, L. H., & Carney, S. E.** (1998). Plant hybridization. *The New Phytologist*, *140*(4), 599–624.
- San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Durrant, T. H., Mauri, A., Tinner, W., ... & Enescu, C. M.** (2016). European atlas of forest tree species.
- Siljak-Yakovlev, S., Pustahija, F., Šolić, E. M., Bogunić, F., Muratović, E., Bašić, N., ... & Brown, S. C.** (2010). Towards a genome size and chromosome number database of Balkan flora: C-values in 343 taxa with novel values for 242. *Advanced Science Letters*, *3*(2), 190–213.
- Schumer, M., Rosenthal, G. G., & Andolfatto, P.** (2014). How common is homoploid hybrid speciation?. *Evolution*, *68*(6), 1553–1560.
- Schwencke, J., & Carú, M.** (2001). Advances in actinorhizal symbiosis: host plant-*Frankia* interactions, biology, and applications in arid land reclamation. A review. *Arid Land Research and Management*, *15*(4), 285–327.
- Soltis, P. S., & Soltis, D. E.** (2009). The role of hybridization in plant speciation. *Annual review of plant biology*, *60*, 561–588.
- Taylor, E. B., Boughman, J. W., Groenenboom, M., Sniatynski, M., Schluter, D., & Gow, J. L.** (2006). Speciation in reverse: morphological and genetic evidence of

the collapse of a three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) species pair. *Molecular Ecology*, 15(2), 343–355.

Thiers, B. (2016). Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih>.

Via, S. (2009). Natural selection in action during speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 1), 9939–9946.

Vít, P., Douda, J., Krak, K., Havrdová, A., & Mandák, B. (2017). Two new polyploid species closely related to *Alnus glutinosa* in Europe and North Africa—An analysis based on morphometry, karyology, flow cytometry and microsatellites. *Taxon*, 66(3), 567–583.

Voronova, A., Lazdina, D., Korica, A., Veinberga, I., Liepins, K., & Rungis, D. (2015). Evaluation of allelic content in an experimental alder (*Alnus* spp.) plantation.

Wall, J. R. (1970). Experimental introgression in the genus *Phaseolus*. I. Effect of mating systems on interspecific gene flow. *Evolution*, 356–366.

Walters, S.M. (1993). *Alnus* Mill. Pp. 68–70 in: Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmonson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. & Webb D.A. (eds.), *Flora Europaea*, ed. 2, vol. 1. Cambridge: Cambridge University Press.

9 Přílohy

Tab. 4: Přehled měřených hodnot hybridního taxonu *Alnus × pubescens*

Alnus × pubescens

	LIST														LETOROST	
	MDC_L	MSPC_L	VMSC	VB_L	DR	SC90D	UZC	UBC	CHS	CHV	CHZZ	CHOM	PPPZ	TZL	CHL_L	CH_P
1.	53,0	41,8	43,2	27,8	8,7	17,4	132,3	152,8	1	2	2	1	9	2	1	1
2.	64,7	41,0	50,1	27,9	13,9	13,2	76,0	113,4	3	2	3	1	11	1	1	1
3.	56,8	42,4	41,6	33,8	9,1	17,7	126,7	117,5	2	2	3	1	9	2	1	1
4.	49,9	42,2	47,3	31,6	10,5	22,8	135,7	110,1	1	1	2	1	9	3	0,5	1
5.	53,9	39,2	45,9	28,3	16,0	21,6	131,7	111,3	1	2	2	1	7	3	1	1
6.	59,9	60,9	70,3	35,3	21,1	33,9	146,1	126,1	1	1	1	1	6	4	0,5	1
7.	31,9	31,2	25,8	16,9	8,6	16,3	127,7	152,3	2	4	3	1	9	1	1	1
8.	31,5	21,1	27,5	20,8	7,4	13,7	138,1	116,4	2	4	3	1	8	3	1	1
9.	60,2	57,7	62,1	44,3	13,5	31,7	156,2	118,1	1	1	3	1	7	4	0,5	1
10.	53,6	50,0	42,5	29,2	10,0	24,4	131,1	142,7	2	2	3	1	8	2	1	1
11.	43,8	30,5	43,3	25,4	9,8	20,1	137,6	96,5	2	1	3	1	8	2	1	1
12.	48,8	43,1	49,5	32,5	9,8	23,9	121,6	103,5	3	2	2	1	7	4	1	1
13.	50,3	36,9	56,5	33,3	18,6	19,3	121,9	129,2	3	3	4	1	7	1	0,5	1
14.	56,6	46,6	58,5	36,4	18,4	23,5	158,2	102,5	1	2	2	1	8	3	0,5	1
15.	60,6	48,2	55,9	35,9	14,8	23,8	106,6	113,8	2	3	3	1	6	1	1	1
16.	52,1	41,0	49,9	25,6	18,7	21,2	122,6	107,7	2	2	3	1	10	1	0,5	1
17.	38,6	30,1	43,4	22,3	16,0	16,2	137,2	119,5	1	1	1	1	8	2	0,5	0
18.	78,4	58,5	60,8	36,2	16,7	18,2	95,6	154,5	1	1	1	1	11	1	0,5	1
19.	68,6	56,1	62,1	37,4	14,3	28,3	144,5	140,5	1	1	2	1	10	2	1	1
20.	58,9	55,6	54,8	31,0	18,5	27,0	146,0	167,6	1	1	2	1	7	2	0,5	0
21.	94,3	61,1	67,5	44,4	13,0	20,4	79,8	121,0	2	1	3	1	10	0	1	1
22.	80,2	52,3	58,2	42,5	17,8	17,9	81,3	120,4	1	1	2	1	11	1	1	1
23.	55,2	40,9	56,6	28,3	20,1	15,1	76,1	120,0	1	1	3	1	11	0	1	1
24.	72,4	58,4	68,8	35,6	23,0	19,5	76,3	156,7	2	2	4	1	12	0	0,5	1
25.	51,7	35,4	51,3	26,3	18,4	10,0	70,4	117,3	3	2	4	1	11	0	1	1
26.	57,3	39,6	55,9	27,5	19,0	9,8	77,5	127,1	3	2	4	1	11	0	0,5	1

27.	56,7	38,0	49,8	26,7	17,6	9,5	74,8	133,3	2	2	3	1	11	0	1	1
28.	46,1	36,3	43,5	28,8	14,3	10,5	109,0	149,5	1	2	2	1	9	1	0,5	1
29.	64,6	45,4	56,4	33,0	15,3	13,4	66,8	130,8	3	4	4	1	11	0	1	1
30.	67,5	45,8	49,4	32,7	17,5	20,5	134,3	107,4	4	3	4	1	11	3	1	0
31.	102,8	59,7	85,6	55,6	27,9	11,3	77,9	96,8	3	3	3	1	11	0	1	1
32.	43,8	38,7	34,3	19,9	9,4	15,6	116,9	168,7	3	3	3	1	8	2	1	1
33.	60,7	43,6	54,0	31,5	17,0	15,6	92,0	110,2	4	4	4	1	10	1	1	1
34.	65,7	47,5	58,4	39,3	17,6	23,8	113,4	132,9	4	4	4	1	10	2	1	1
35.	70,6	47,1	60,4	38,2	16,3	9,3	107,9	119,1	3	3	3	1	10	1	1	1
36.	58,8	51,4	52,8	27,8	17,6	17,1	131,7	161,6	3	3	3	1	11	2	1	1
37.	57,9	49,3	46,9	28,3	12,5	15,4	100,2	143,4	2	2	3	1	10	1	1	0
38.	54,1	41,9	50,9	30,3	19,2	13,3	95,0	136,2	4	3	4	1	11	1	1	1
39.	55,7	44,7	46,8	27,9	14,5	14,2	96,5	137,7	2	2	2	1	10	2	1	1
40.	44,2	37,9	44,1	22,7	15,4	14,6	132,6	105,6	2	3	3	1	8	2	1	1
41.	63,9	61,8	60,9	37,4	12,1	27,0	153,1	164,9	1	1	2	1	8	3	1	1
42.	83,6	51,6	77,2	50,2	20,9	12,6	82,7	94,0	4	4	4	1	10	0	1	1
43.	72,0	57,4	62,2	38,8	14,8	21,8	126,8	139,1	2	1	2	1	8	2	1	0
44.	51,1	36,6	46,4	21,7	12,4	10,2	75,6	140,8	3	2	3	1	12	0	1	1
45.	73,5	64,7	65,9	36,5	17,7	28,8	134,1	154,8	3	2	4	1	10	3	1	1
46.	80,9	52,0	67,4	40,4	25,9	27,4	135,0	122,0	1	2	2	1	9	2	0,5	1
47.	51,9	41,0	42,6	28,9	16,0	17,1	153,3	119,3	1	2	2	1	8	3	1	1
48.	37,4	32,0	38,2	21,1	10,5	16,6	137,2	134,9	1	1	1	0	8	2	1	1
49.	40,8	33,0	37,1	22,2	10,5	10,3	93,2	157,8	4	3	4	1	11	0	1	0
50.	722,5	552,3	642,9	372,3	158,6	161,6	69,1	140,0	3	3	3	1	11	0	1	1
51.	63,2	47,4	67,3	39,2	20,2	29,4	164,8	133,6	3	3	4	1	7	4	1	1
52.	49,4	37,9	46,8	29,4	14,3	20,9	141,9	121,7	3	3	3	1	8	3	0,5	1
53.	67,7	54,2	68,0	39,5	18,6	21,9	104,1	127,9	3	2	3	1	10	1	1	1
54.	70,4	52,2	64,0	38,4	12,6	17,1	94,6	148,2	2	2	3	1	11	0	0,5	1
55.	48,6	39,8	38,7	21,5	14,9	11,0	103,2	141,4	3	3	3	1	11	0	0,5	1
56.	77,7	53,0	72,1	41,0	20,5	14,6	83,2	134,8	3	2	3	1	11	0	1	1
57.	66,5	47,5	63,0	34,8	25,1	22,1	135,2	102,0	3	3	3	1	9	3	1	1
58.	50,6	40,2	51,0	30,6	14,8	15,6	118,2	145,4	2	2	3	1	9	1	1	1
59.	64,0	51,3	53,4	33,7	14,6	13,7	104,4	135,1	4	3	4	1	11	0	1	1

60.	67,8	69,3	81,9	42,3	22,1	25,6	164,1	107,2	3	1	3	1	8	3	0,5	0
61.	63,9	54,5	55,4	29,4	17,0	25,1	147,2	131,4	3	3	3	1	10	3	1	1
62.	67,3	56,1	70,3	39,1	25,7	19,8	140,7	107,1	2	2	3	1	7	3	1	1
63.	67,6	46,6	66,0	43,2	16,1	22,4	148,9	93,6	2	2	2	1	8	2	0,5	0
64.	71,8	47,9	72,2	43,3	26,1	16,4	133,0	112,8	3	2	3	1	8	2	1	1
65.	47,1	31,8	42,7	30,0	11,9	11,7	130,4	90,4	3	2	3	1	7	2	1	1
66.	50,5	37,7	57,8	29,0	19,9	21,4	152,8	110,0	3	3	4	1	9	2	1	1
67.	64,0	43,3	64,2	42,2	17,4	17,0	131,7	104,8	3	2	3	1	9	1	1	1
68.	58,6	43,1	56,8	28,1	16,8	19,3	69,8	97,0	2	3	3	1	8	0	1	1
69.	59,0	40,8	52,3	32,0	16,1	19,9	151,0	117,8	2	2	4	1	7	2	1	1
70.	69,4	46,1	55,5	30,0	21,1	19,0	101,7	125,1	3	3	3	1	10	0	1	1
71.	60,6	42,9	49,6	32,0	17,9	15,5	101,1	101,3	2	2	2	1	9	1	0,5	1
72.	54,7	40,0	50,5	28,9	11,0	19,4	136,1	104,6	3	3	4	1	6	2	1	1
73.	50,1	35,2	46,5	28,0	15,8	17,3	137,5	92,6	2	2	2	1	10	2	1	1
74.	95,0	72,1	99,3	60,1	27,2	33,1	108,6	129,7	2	2	2	1	10	1	1	1
75.	76,1	65,0	78,6	38,5	18,6	40,3	172,5	87,0	1	1	2	1	7	3	0,5	1
76.	67,1	55,5	56,3	34,6	14,6	23,3	144,5	139,6	1	2	1	1	8	2	0	0
77.	85,6	62,3	63,7	43,2	19,0	29,0	103,9	124,7	2	2	3	1	10	1	1	1
78.	63,4	57,0	60,7	32,8	17,7	27,3	135,8	161,0	2	2	3	1	8	3	1	1
79.	114,0	76,6	99,5	64,2	23,4	26,4	74,9	111,3	3	2	3	1	9	0	1	1
80.	66,5	61,0	73,8	40,5	23,7	26,2	173,8	85,8	1	1	2	1	6	4	1	0
81.	43,4	29,6	33,8	19,8	9,5	18,6	145,6	106,1	1	1	1	1	7	2	0,5	1
82.	47,4	35,0	46,7	29,8	14,7	15,4	122,8	104,4	3	3	4	1	10	2	1	1
83.	59,3	44,6	57,1	33,8	16,4	28,3	164,2	100,7	1	1	2	1	8	3	1	1
84.	73,9	54,8	61,8	32,5	14,7	22,2	77,4	117,2	3	3	4	1	9	1	1	1



Obr. 11: Herbářová položka *Alnus × pubescens*