

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Velikost genomu vrby z podrodu *Salix* subgen. *Salix*
se zaměřením na smuteční vrby
(*Salix babylonica* agg.)

Bc. Veronika Chodilová

Diplomová práce
předložená
na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Mgr. v oboru
Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: doc. RNDr. Radim Jan Vašut, Ph. D.

Konzultant práce: Mgr. Lucie Koblíková

Olomouc 2022

Chodilová V. 2022 Velikost genomu vrb z podrodu *Salix* subgen. *Salix* se zaměřením na smuteční vrby (*Salix babylonica* agg.) [diplomová práce]. Olomouc: Katedra ekologie a ŽP PřF UP v Olomouci, 63 s. 1 příloha, česky.

Abstrakt

Metoda průtokové cytometrie byla využita pro stanovení absolutní a relativní velikosti genomu a stanovení DNA-ploidní úrovně u taxonů rodu *Salix* podrod *Salix* se zaměřením na skupinu smutečních vrb. Z celkových 97 analyzovaných vzorků byla nejmenší hodnota absolutní velikosti genomu naměřena u diploidního poddruhu *S. triandra* subsp. *triandra* ($2C = 0,711$ pg). Naopak největší absolutní velikost genomu byla zjištěna u hexaploidního druhu *S. 'Sacramento'* ($2C = 2,529$ pg). Po porovnání nejmenší hodnoty obsahu jaderné DNA a největší hodnoty obsahu jaderné DNA bylo zjištěno, že se od sebe hodnoty liší 4násobně. DNA-ploidní úrovně u podrodu *Salix* byly zjištěny od diploidní po hexaploidní úroveň s tím, že tetraploidní úroveň byla převládající. Získané výsledky mohou doplnit databázi mapování genomů, která slouží pro vzájemné porovnání rostlinných genomů při zjišťování absolutní velikosti genomu u krytosemenných rostlin. U některých případů se jedná o vůbec první informace ohledně velikosti genomu u určitých druhů, kříženců nebo kultivarů.

Klíčová slova: hybridizace, polyploidie, průtoková cytometrie, *Salicaceae*, velikost genomu

Chodilová V. 2022 Genome-size variability in willows (*Salix* subgen. *Salix*) with special emphasis on weeping willows (*Salix babylonica* agg.) [master's thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University of Olomouc. 63 pp. 1 Appendix, Czech.

The abstract

The method of flow cytometry has been used to determine absolute and relative size of genome size and also to determine DNA-ploidy level for taxons of genus *Salix* subgen. *Salix* with special emphasis on weeping willow trees. From all the 97 analysed samples the lowest absolute genome size value has been measured / detected at diploid subsp. *S. triandra* subsp. *triandra* ($2C = 0,711$ pg). Contrarily the highest absolute genome size value has been detected at hexaploid species *S.* 'Sacramento' ($2C = 2,529$ pg). After comparing the values of the smallest nuclear DNA content and of the biggest nuclear DNA discovery has been made with the finding that the values differ 4 times. DNA-ploidy level at *Salix* subgen. *Salix* were detected from diploid to hexaploid level with the conclusion that the tetraploid level was the predominant one. The results which has been obtained might supplement the database for genome mapping, that serves for reciprocal comparison of vegetal genomes when investigating the absolute size of the genom with angiosperm plants. At some case this is the very first information concerning the genom size of some specific varieties, hybrids or cultivars.

Key words: flow cytometry, genome size, hybridization, polyploidization, *Salicaceae*

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Radima J. Vašuta, Ph. D. a Mgr. Lucíí Kobřilovou a s použitím uvedené literatury.

V Olomouci 16.5.2022

.....
Podpis

Obsah

Seznam tabulek	vii
Seznam obrázků	viii
Seznam příloh.....	x
Poděkování	xi
1 Úvod	1
2 Úvod do systematiky vybraných morfortypů vrb	2
2.1 Čeleď <i>Salicaceae</i> a rod <i>Salix</i>	2
2.1.1 Přehled studovaných taxonů vrb	6
2.1.2 Přehled kulturních taxonů <i>S. babylonica</i> agg.	12
2.1.3 Druhy bez hybridizace se <i>S. babylonica</i>	23
2.2 Karyologie rodu <i>Salix</i>	28
2.2.1 Polyploidizace	28
2.2.2 Velikost genomu	29
2.2.3 Průtoková cytometrie	30
3 Cíle práce.....	32
4 Materiál a metody.....	33
4.1 Sběr, původ a uchování rostlinného materiálu	33
4.2 Stanovení DNA-ploidní úrovně a velikosti genomu	34
5 Výsledky.....	35
5.1 Stanovení ploidní úrovně a velikost genomu vrb	35
5.2 Porovnání ploidie a absolutní velikosti genomu u známých rodičovských druhů a jejich kříženců	42
6 Diskuse	45
6.1 Variabilita ve velikosti genomu	45
6.2 Vznik hexaploidního druhu <i>S. 'Prairie Cascade'</i>	48
7 Závěr.....	49
8 Literatura	50
Přílohy	57
1 Přehled analyzovaných vzorků.....	57

Seznam tabulek

Tab. č. 1: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u přírodních taxonů (kříženci a druhy) a stanovení DNA-ploidní úrovně.....	36
Tab. č. 2: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u kulturních taxonů (druhů a kultivarů) a stanovení DNA-ploidní úrovně.	37
Tab. č. 3: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u kříženců neznámého původu a stanovení DNA-ploidní úrovně.	39
Tab. č. 4: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu <i>S. fragilis</i> x <i>S. triandra</i> a jeho rodičovských druhů.	42
Tab. č. 5: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu <i>S. ×rubens</i> a jeho rodičovských druhů.	42
Tab. č. 6: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu <i>S. 'Blanda'</i> a jeho rodičovských druhů	43
Tab. č. 7: Hodnoty absolutní velikosti genomu z databáze C-value DNA database a výsledky předložené práce	46

Seznam obrázků

Obr. č. 1: Habitus <i>S. babylonica</i>	9
Obr. č. 2: <i>S. babylonica</i> – detail listů (svrchní a spodní strana).....	9
Obr. č. 3: Habitus <i>S. alba</i>	10
Obr. č. 4: <i>S. alba</i> – detail listů (svrchní a spodní strana)	10
Obr. č. 5: <i>S. fragilis</i> – detail listů (spodní a svrchní strana).....	12
Obr. č. 6: Habitus <i>S. chrysocoma</i>	14
Obr. č. 7: <i>S. chrysocoma</i> – detail listů (spodní a svrchní strana).....	14
Obr. č. 8: Habitus <i>S. alba</i> 'Tristis'..	15
Obr. č. 9: <i>S.</i> 'Tristis' – detail listů (spodní a svrchní strana).....	15
Obr. č. 10: <i>S.</i> 'Tristis' ♂ – detail listů (spodní a svrchní strana)	15
Obr. č. 11: <i>S.</i> 'Tristis' ♀ – detail listů (spodní a svrchní strana).....	15
Obr. č. 12: <i>S.</i> 'Tortuosa' – detail listů (spodní a svrchní strana).....	17
Obr. č. 13: <i>S.</i> 'Pendula'– detail listů (spodní a svrchní strana).	17
Obr. č. 14: Habitus <i>S. ×erythroflexuosa</i>	18
Obr. č. 15: <i>S. erythroflexuosa</i> – detail listů (svrchní a spodní strana)	18
Obr. č. 16: <i>S.</i> 'Blanda' – detail listů (svrchní a spodní strana).....	19
Obr. č. 17: <i>S.</i> 'Blanda' – detail listů (spodní a svrchní strana).....	19
Obr. č. 18: <i>S.</i> 'Bijdorpe' – detail listů (svrchní a spodní strana).....	20
Obr. č. 19: <i>S.</i> 'Oeresundiana' – detail listů (spodní a svrchní strana).....	20
Obr. č. 20: Habitus <i>S. ×rubens</i>	21
Obr. č. 21: <i>S. ×rubens</i> – detail listů (svrchní a spodní strana)	21
Obr. č. 22: <i>S. excelsa</i> – detail listů (spodní a svrchní strana).....	22
Obr. č. 23: <i>S. triandra</i> – detail listů (spodní strana).....	24
Obr. č. 24: <i>S. lucida</i> – detail listů (svrchní a spodní strana)	25
Obr. č. 26: <i>S.</i> 'Prairie Cascade'– detail listů (svrchní a spodní strana).....	26
Obr. č. 27: <i>S. humboldtiana</i> – listy (spodní a svrchní strana)	27
Obr. č. 28: Vztah absolutní velikosti genomu k ploidní úrovni	39
Obr. č. 30: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy hexaploidního jedince <i>S.</i> 'Prairie Cascade' (PRA1).....	40
Obr. č. 31: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy diploidního jedince <i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i> (TRI_TRI1)	41

Obr. č. 32: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy triploidního jedince <i>S. fragilis</i> × <i>S. triandra</i> (FRA3).	41
Obr. č. 33: Znázornění hybridizace dvou rodičovských druhů <i>S. fragilis</i> × <i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	42
Obr. č. 34: Znázornění hybridizace dvou rodičovských druhů <i>S. alba</i> × <i>S. fragilis</i>	43
Obr. č. 35: Znázornění hybridizace dvou rodičovských druhů <i>S. babylonica</i> × <i>S. fragilis</i>	44

Seznam příloh

1	Přehled analyzovaných vzorků.....	57
1.1	Přírodní taxony (druhy a kříženci).....	57
1.2	Kulturní taxony (druhy a kultivary).....	60
1.3	Kříženci neznámého původu	63

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce doc. RNDr. Radimu J. Vašutovi, PhD., nejen za odborné vedení mé diplomové práce a konzultace, ale i za trpělivost, ochotu, vstřícnost a čas. Velké poděkování patří i konzultantce práce Mgr. Lucii Koblrové za praktickou pomoc při laboratorní práci, analýze dat a za veškerý čas, který mi věnovala. V neposlední řadě bych ráda poděkovala všem svým blízkým za podporu po celou dobu studia.

1 Úvod

Rostliny patří k nejdůležitějším organismům planety Země, dosahují nenahraditelného významu pro celou biosféru. Byly to ony, kdo jako první organismy kolonizovaly souš na planetě Zemi.

Mimo jiné, zásluhou činností zelených rostlin byly vytvořeny vhodné podmínky pro život na souši. Rostlinná říše nabízí obrovskou škálu druhů od mikroskopických pouhým okem neviditelné řasy až po obrovské sekvoje či blahovičníky, dorůstající výšky okolo 100 metrů (Větvicka 2003). Z pohledu stáří i rozměrů se rostliny řadí k těm nejrozmanitějším.

Díky tomu, jak je rostlinná říše rozmanitá a druhově bohatá, je kladen velký význam na zkoumání a porozumění jejího fungování. Jeden z významných a známých přírodovědců Carl Linné se zasloužil o zavedení systému klasifikace rostlin a živočichů.

Například ve svém díle *Species Plantarum*, které publikoval v roce 1753 se nacházejí prvopočátky platného systému jmenování rostlinných druhů (Linnaeus 1753). V díle byla aplikovaná takzvaná binomická nomenklatura, tedy značení jedince na základě dvoučlenných jmen. První název náleží rodovému jménu a druhý jménu druhovému. Systém usnadňuje lepší zmapování rostlin a zároveň ulehčuje dorozumívání odborníkům napříč světadíly. Linného systém označování druhů dvouslovným názvem vytvořil základ pro dnešní moderní nomenklaturu (Choate 1912, Boorstin 1997). Rostlinné druhy, které byly popsány již samým autorem Carlem Linném se označují zkratkou „L“.

V současnosti je známo okolo 308 312 až 391 000 cévnatých rostlin nacházejících se na Zemi, ale přesné číslo dosud není jisté (Christenhusz et Byng 2016, Dasgupta 2016). Existuje stále mnoho druhů, které dosud nejsou známy a registrované. K množství nepoznaných druhů napomáhá mimo jiné i časté křížení příbuzných jedinců, a to jak spontánně, tak i uměle. Jedním z rostlinných zástupců, u kterého dochází k rozsáhlé hybridizaci je rod *Salix* L. (vrba), o kterém předložená práce pojednává. U tohoto rodu dochází k časté mezidruhové hybridizaci. Mnohdy jsou vzniklí kříženci nesnadno odhaleni. Domnělé rodičovské druhy jsou fenotypově značně proměnlivé a není jednoduché stanovit hranici mezi rodičovskými druhy a domnělými kříženci. Jak tedy zjistit, zda se jedná o již známý druh či zcela nového křížence? Jeden z vhodných postupů pro odhalení příbuznosti je využití moderních biosystematických metod, tj. molekulárně genetické a cytogenetické metody.

2 Úvod do systematiky vybraných morfotypů vrb

2.1 Čeleď *Salicaceae* a rod *Salix*

Do čeledi *Salicaceae* Mirb. (v moderním pojetí; Chase et al. 2016) náleží zástupci opadavých nebo zřídka i stálezelených dřevin, které dorůstají keřovitých až stromovitých velikostí a obsahují měkké roztroušeně pórovité dřevo (Chmelař et Koblížek 1990, Zhenfu et al. 1999, Horáček 2019).

Obecně zástupci čeledi *Salicaceae* tvoří jednoduché střídavé listy se zpravidla dobře vyvinutými palisty. Vzácněji se objevují i vstřícné listy (Chmelař et Koblížek 1990, Zhenfu et al. 1999). Okraje čepele listů jsou charakterizovány jako celokrajné nebo pilovité s tzv. salikoidními zuby (listová žíla na vrcholu rozšířená s doprovodnými žlázkami) (Ramírez et Cevallos-Ferriz 2000, Argus et al. 2010). Květenství jehnědovitého typu obsahuje nápadné nebo naopak zcela nenápadné květy, které jsou jednopohlavné bez květních obalů (tzv. achlamydní květy). Plod jednopouzdrá tobolka puká 2 až 4 chlopněmi (Chmelař et Koblížek 1990, Úradníček et Chmelař 1995, Horáček 2019).

Drobná semena postrádají endosperm, díky kterému se vyznačují krátkodobou životaschopností. Proti této skutečnosti se zástupci adaptovali a klíčení semen při získání vhodných podmínek trvá velmi krátce. K nalezení vhodných podmínek slouží anemochorní šíření (Musil et Möllerová 2005, Vašut et al. 2013). Řada zástupců obsahuje fenolové glykosidy. Například u rodu *Salix* se jedná o tzv. salicin a u rodu *Populus* L. je obsažen tzv. populin (Raj et al. 2022).

Těžiště čeledi *Salicaceae* se v jeho úzkém pojetí nachází v mírném až subarktickém pásu obou polokoulí (Chmelař et Koblížek 1990, Musil et Möllerová 2005). V tomto starším pojetí zahrnuje okolo 330 až 700 druhů a je na ni nahlíženo několika koncepty. V tradičním pojetí do čeledi náleží pouze 2 rody, a to konkrétně *Salix* a *Populus* (Cronquist et Takhtadzhian 1981). Dle asijského zpracování se navíc z rodu *Salix* vyčleňují i rody *Chosenia* Nakai a *Toisusu* Kimura (Ohashi 2000). Moderní systematické studie ukázaly, že toto pojetí je nesprávné a rody *Chosenia* a *Toisusu* náleží do rodu *Salix* (Chen et al. 2010).

V moderním pojetí byla do čeledi *Salicaceae* zařazena dříve rozlišovaná čeleď *Flacourtiaceae* Rich. ex DC (Argus 2006, Chase et al. 2016). Klasifikace čeledi se s nástupem molekulárních metod stala poměrně složitější a dle nejnovějšího pojetí zahrnuje čeleď tři podčeledi *Salicoideae* Arnott, *Samydoideae* Reveal

a *Scyphostegioideae* Reveal, s tím že samotný rod *Salix* náleží do kmenu *Saliceae* Rchb. spadající do podčeledi *Salicoideae* (Chase et al. 2016).

V české flóře jsou zastoupeni zástupci obou rodů, a to *Salix* a *Populus* (Musil et Möllerová 2005, Vašut et al. 2013).

Zástupci samotného rodu *Salix* představují dvoudomé dřeviny obsahující měkké dřevo s heterogenními dřevnými paprsky a mohutným kořenovým systémem (Novák 1961, Dostál 1989, Chmelař et Koblížek 1990). Zároveň se vyskytují v mnoha formách, od nízkých půdokryvných plazivých či poléhavých keříků až po velké vzrostlé stromy (Chmelař et Koblížek 1990, Vašut et al. 2013, Novák et Skalický 2017). Příkladem plazivého keříku, který roste při zemi je uváděna 2 až 10 cm vysoká *S. herbaceae* L. (Vašut 2019). Naopak velké statné stromovité formy mohou dosáhnout výšky okolo 30 metrů (Musil et Hamerník 2003). Nejstatnější stromovitý druh naší květeny je *Salix alba* L. (Úradníček et Chmelař 1995, Kohout et al. 2010, Vašut 2019).

Charakteristickými znaky rodu jsou celistvé střídavé zřídka vstříčné listy s krátkými řapíky. Nejčastěji jednopohlavné bezobalné květy tvoří jehnědovitý typ květenství (Chmelař et Koblížek 1990, Větvička 2003, Rottenberg 2007, Vašut et al. 2013). Pupeny se v zimním období kryjí pouze jednou šupinou (Dostál, 1989). Opylení probíhá entomogamně (Chmelař et Koblížek 1990), avšak dle Arguse (1986) k anemogamnímu opylení může docházet běžněji.

Obecně zástupci rodu *Salix* náleží z ekologického hlediska k nenáročným dřevinám (Šimíček 2019). Druhy nevyžadují velké nároky na půdní prostředí, zároveň je většina druhů dobře adaptovaná na kolísání hladiny spodní vody, v tomto ohledu se od ostatních druhů nejvíce odlišuje *S. caprea* L. (Musil et Möllerová 2005, Úradníček et al. 2009, Šimíček 2019). Naopak vyhraněné nároky na světelné podmínky vyžaduje většina zástupců rodu (Šimíček 2019). Například *S. fragilis* L. patří k velmi náročným druhům na světlo, nesnese ani slabý boční zástín (Chmelař et Koblížek 1990).

Celkově je po celém světě rozlišováno přibližně 450 druhů rodu *Salix*. Například Vašut et al. (2013) uvádějí, že rod *Salix* zahrnuje okolo 300 až 550 druhů. V publikaci autorů Musil et Möllerová (2005) je zmíněné podobné rozmezí od 300 do 600 druhů, zatímco například práce Wu et al. (2015) uvádí užší rozsah počtu druhů, a to 450 až 520. Lze tedy říci, že se názory na skutečný počet druhů poměrně odlišují. V Evropě se nachází okolo 65 druhů (Myklestad et Birks 1993, Argus 1997) a konkrétně v České republice je dle publikace Musil et Möllerová (2005) 21 původních druhů. Vašut et al. (2013) v publikaci uvádějí celkový počet původních druhů v České republice

22 s tím, že 1 druh patří k vyhynulým (*S. starkeana* Willd.). Dle Kohout et al. (2010) je uvedeno okolo 30 evidovaných spontánních hybridů. Šimíček (2019) dodává, že zástupce rodu *Salix* nenajdeme v Austrálii, na Novém Zélandu a v Antarktidě.

Některé druhy, které rychle rostou a náleží k dlouhověkým dřevinám se řadí mezi tzv. pionýrské dřeviny (Větvička 2003, Dickmann 2006). Vynikají vysokou produkcí biomasy (Dickmann 2006) a v neposlední řadě jsou úspěšní při osídlení nově vzniklých lokalit a stanovišť, díky velmi dobré strategii šíření (Musil et Möllerová 2005, Kohout et al. 2010).

Na základě Skvorcova (1999) dělení se v Evropě nacházejí tři hlavní podrody rodu *Salix*. Jmenovitě se jedná o *S.* subgen. *Salix*, *S.* subgen. *Vetrix* a *S.* subgen. *Chamaetia*. Vašut et al. (2013) upozorňují na to, že toto systematické členění je akceptováno především v Evropě a Rusku. Argus (1997) uvádí čtyři podrody, kromě výše zmíněných je navíc uveden *S.* subgen. *Longifoliae*. Jednotlivé podrody jsou dále děleny na několik sekcí. V minulosti se objevilo několik dalších snah o dělení rodu, avšak na většinu je dnes pohlíženo sporně (Vašut et al. 2013).

Rod *Salix* se vyznačuje komplikovanou taxonomií a sčítá nespočet poddruhů, odrůd, hybridů a kultivarů, které společně tvoří rozmanitost morfologických forem (Dickmann et Kuzovkina 2014). K příčinám obtížné determinace patří zejména častá hybridizace (Chmelař et Koblížek 1985), ke které dochází nejen ve volné přírodě, ale často i umělým kontrolovaným šlechtěním a následným vznikem nových kultivarů (Kuzovkina 2015). Další příčinou obtížného určování druhů je skutečnost, že mnohé vrby kvetou ještě před olistěním a posléze, v době, kdy dojde k olistění, se květy na jedincích již nenacházejí. Z čehož vyplývá, že v jeden moment není možné porovnat všechny významné morfologické znaky květů a listů (Větvička 2003). Dalšíh vystihujících znaků, které je možné využít pro determinaci určitého taxonu, je ve skutečnosti více.

K základním znakům náleží například rozdílnost kmenů (zejména ve zbarvení nebo velikosti), odění letorostů, barva, velikost nebo tvar pupenů, barva listů, vzhled listové čepele, odění rubu a líce, množství žilek, černání listů nebo charakter palistů (Musil et Hamerník 2003). U květů je možné rozlišit pohlaví, tvar, velikost jehněd, jejich zbarvení, období květu, počet tyčinek, odění semeníku nebo tvar čnělky (Bělohávková et al. 2002, Musil et Hamerník 2003, Větvička 2003). Z důvodu velkého rozsahu odlišností vrb se značná část odborníků vyhýbá studiu rodu *Salix* (Chmelař et Koblížek 1985).

Musil et Möllerová (2005) ve své publikaci uvádějí další speciální, avšak mnohdy důležité determinační znaky. Prvním z nich je přítomnost lišt na dřevě. Zjištění, zda lišty na dřevě existují, se provádí po sloupnutí kůry v nejlepším případě u dvouletých nebo starších větví. Podobu mají podélných valů. Jako dalším specifickým znakem je uveden výskyt primárních listů tzv. katafylů. Jedná se o listy nacházející se na prýtu v nejnižších místech. Chmelař et Koblížek (1985) k výše zmíněným speciálním znakům dodává i nektarové žlázy. Jde o výrůstky rozmanitých tvarů, které na povrchu vylučují nektar.

Vašut et al. (2013) představují problematiku v determinaci danou komplikovaným genetickým základem. Při determinaci je významné působení selekčního tlaku a zároveň znalost variability nejen morfologických znaků, ale i celkový areál a různé možnosti osídlení biotopů. Autoři současně zdůrazňují vhodnost využití moderních metod, které umožňují získání velkého množství zejména nezávislých znaků. Jedná se o znaky nepříliš často ovlivněné prostředím a zároveň mnohdy i selekčně neutrální.

Vrby mají široké využití. Řada druhů vrb je vysazována za účelem melioračního využití pro zpevňování břehů vodních toků a strání, tedy pro ně ve vhodných biotopech (Chmelař 1983). Vzhledem k tomu, že se vrby řadí společně s topoly k rychle rostoucím dřevinám, oba druhy se pěstují na tzv. výmladkových plantážích. Vypěstovaná biomasa je využívána na produkci dřeva a následné zpracování na štěpky, polena, pelety nebo brikety. Autoři Kohout et al. (2010) uvádějí, že díky slabším prutům vrb je štěpkování jednodušší, přesto je ale více populární pěstování topolů na plantážích. Méně známé uplatnění rodu je ve farmaceutickém průmyslu a lékařství, kde se především využívá kůra stromů (Úradníček et al. 2009). Šimíček (2019) zároveň uvádí, že výrobky z vrbové kůry jsou v dnešní době nahrazované produkty ze syntetických látek. Při výčtu možností využití vrb by se nemělo opomenout ani na užití v papírenském průmyslu (Úradníček et al. 2009).

Vrby jsou všeobecně známé k využití pro košíkářství, jejich větve se využívají jako zdroj proutí. V dnešní době se podstatně častěji objevuje tzv. „živé košíkářství“, jedná se o rostoucí stavby z vrbového proutí (Chmelař 1983, Heinrich et al. 2019).

Přítomnost zástupců vrb si vychvalují i mnozí včelaři, protože včelám nabízejí bohatou včelí pastvu s kvalitním zdrojem pylu a nektaru (Chmelař et Koblížek 1985, Úradníček et al. 2009).

Značné množství druhů, především jejich vybraných kultivarů, má významnou estetickou hodnotu. Vybrané druhy se vyznačují pohlednými částmi stromu. Dekorativní

mohou být především vzhledné květy či jehnědy, pokroucené, převislé nebo naopak vzpřímené větve mnohdy nápadně zbarvené a také různě barevné listy (Gromova et al. 2014). Díky svému elegantnímu vzhledu nacházejí uplatnění jako okrasné dřeviny nebo i jako výsadba živých plotů (Úradníček et al. 2009). Hojně se vysazují také v soukromých zahradách, parcích, sídlištích, městských částech a na dalších místech. Významné místo mezi pěstovanými okrasnými druhy mají tzv. smuteční druhy (Koblížek 2008). Jedná se o vrby s nápadně dlouhými a obloukovitě převislými větvemi. Za výchozí druh je považována vrba babylónská (*Salix babylonica* L.), pěstují se dále taxony (kultivary), o kterých se předpokládá, že jsou kříženci tohoto druhu nebo s tímto druhem příbuzné. Tyto vrby patří mezi tetraploidní zástupce *Salix* subgen. *Salix* (Vašut et al. 2013).

: nejčastěji *S. ×sepulcralis* Simonk. (*S. ×salamonii* Carrière), *S. alba* 'Tristis', *S. ×pendulina* Wender. (*S. ×blanda* Anderss.), *S. matsudana* 'Pendula' nebo nebo *S. ×erythroflexuosa* Rag. (Chmelař et Koblížek 1990, Vašut et al. 2013, Vašut 2019). Převislým „smutečním“ vrbám jsou příbuzné kultivary s nápadně pokroucenými větvemi, které jsou tradičně nazývány jako *S. matsudana* 'Tortuosa' (Vašut 2019).

2.1.1 Přehled studovaných taxonů vrb

Skupina tzv. smutečních vrb patří k nejoblíbenějším a dlouhá léta pěstovaným druhům (Koblížek 2008). V Česku je jejich pěstování doloženo herbářovými doklady od 19. století (Vašut in verb.). Nápadným znakem skupiny je již zmíněný habitus: dlouze obloukovitě převislé větve. Pro taxonomickou blízkost je do této skupiny zařazena také skupina vrb s nápadně pokroucenými větvemi, které byly dosud označovány jako *S. matsudana* 'Tortuosa'. Smuteční vrby vycházejí z taxonu *S. babylonica* a většina taxonů je považována za její křížence s jinými evropskými druhy (Koblížek 2008). Pravdou zůstává, že se v České republice *S. babylonica* nachází poměrně vzácně a hojněji se pěstují její kříženci (Musil et Möllerová 2005, Vašut 2019). Vašut et al. (2013) jako jednu z nejčastějších smutečních vrb uvádějí *S. ×sepulcralis*. K dalším převislým kultivarům patří *S. alba* 'Tristis', *S. ×pendulina*, *S. ×erythroflexuosa* a *S. matsudana* 'Pendula', jedná se ale o méně rozšířené zástupce (Koblížek 2008, Vašut et al. 2013).

Přehled se týká běžných i vzácnějších morfotypů kultivarů převislých i pokroucených vrb, patřící především do podrodu *Salix* a nacházející se na území České

republiky. Důraz je kladen na zástupce podrodu *Salix*, u kterých se již v minulosti předpokládalo, že se s druhem *S. babylonica* kříží (tj. především evropské druhy *S. alba* a *S. fragilis*). Cílem bylo získat rešerši všech u nás dostupných morfortypů zmíněných vrb a také potenciálních rodičovských druhů, které se hypoteticky mohou na hybridizaci podílet.

Podrod *Salix* zahrnuje u nás čtyři původní druhy: *Salix alba*, *Salix fragilis*, *Salix triandra* L. a *Salix pentandra* L., z pěstovaných zástupců (kteří mají určitý vztah k převislým nebo pokrouceným vrbám) do této skupiny řadíme *Salix babylonica*, *Salix matsudana* Koidz., *Salix pieroti* Miq. („východoasijská vrba bílá“), *Salix excelsa* S.G.Gmel. (střední Asie) a zástupce *Salix pentandra* agg.: např. severoamerickou *S. lucida* Muhl. nebo středoasijskou *S. pseudopentandra* (Flod.) Flod. (Fang et al. 1999, Argus et al. 2010, Vašut et al. 2013). Zařazen je také druh *Salix humboldtiana* Willd. (ser. *Protitea* Kimura), který je sice evolučně vzdálený (Argus et al. 2010, Chen et al. 2010), ale morfologicky zdánlivě velmi podobný druhu *S. babylonica*.

Salix babylonica (vrba babylonská)

Jedná se o pomalu rostoucí strom, dorůstající do výšky 9 až 12 metrů. Nápadné větve stromu visí dlouze dolů, jsou lysé a zbarvené do hnědé nebo zelené barvy. Listy dosahují délky 8-16 cm s kopinatým až čárkovitě kopinatým tvarem a dlouhými špičatými špičkami, klínovitou bází a pilovitým okrajem. Dobře vyvinuté palisty jsou zkroucené (Chmelař 1984, Koblížek 2006, Vašut et al. 2013, Kuzovkina 2015). Dle Horáčka (2019) nebo Vašuta (2019) se strom vyskytuje nejčastěji se samičími jehnědami, které jsou zéměř přisedlé a velikost jehněd dosahuje velikosti až 2 cm. Tvar jehněd je udáván jako úzký a zakřivený.

Charakteristické znaky druhu jsou při determinaci poměrně nezaměnitelné, problém může být jen u porovnávání s hybridy, u kterých byly znaky přeneseny (Vašut et al. 2013).

S. babylonica se nachází v oblastech jižní Asie od Kavkazu po Japonsko (Vašut et al. 2013). Předpoklad původního areálu rozšíření náleží Číně, i přes to, že se druh ve volné přírodě v převislé podobě nevyskytuje (Argus et al. 2010). Autoři Santamour et McArdle (1988) uvádějí, že pěstování *S. babylonica* je v Evropě a východní části Spojených států široce rozvinuté. Zatímco Chmelař (1984) zmiňuje informaci, že se druh objevuje jen v teplejších oblastech, zejména v Mediteránu. Dle jeho názoru může být

důvodem náchylnost na mrazové podmínky. Autoři Chmelař (1984) a Vašut et al. (2013) uvádějí výskyt *S. babylonica* na území Evropy pouze samičího klonu. Dále Dostál (1989) podotýká, že výskyt druhu je vzácný a častěji se pěstují kříženci. Musil et Möllerová (2005) dodávají, že se výše uvedená informace týká i území České republiky.

V rámci druhu *S. babylonica* jsou rozlišovány následující kultivary a morfotypy (podle Santamour et McArdle 1988, Chmelař 1984, Vašut et al. 2013, Kuzovkina 2015):

- *Salix babylonica* '**Babylon**' – tímto jménem jsou označovány typické převislé morfotypy druhu, charakterizované výše. V této práci je taxon označován jako *Salix babylonica*.
- *Salix babylonica* '**Crispa**' (syn.: *S. babylonica* f. *annularis* (J.Forbes) Asch., *S. babylonica* 'Annularis') – větve jsou převislé se spirálovitě zkroucenými listy. Jedná se o samičí taxon. V této práci je kultivar označován jako *Salix* '**Crispa**' (druhové jméno není používáno kvůli nejasnostem ve vymezení kulturních druhů *S. babylonica* agg., viz komentář u *S. matsudana*).
- *Salix babylonica*. '**Sacramento**' je považovaná za relativně málo známý klon *S. babylonica*. Vyznačuje se méně nápadnými převislými větvemi, otevřenou korunou a velkými listy. Kultivar je neznámého původu, Kuzovkina (2015) se domnívá, že pochází z Chile, kdežto Santamour et McArdle (1988) považují za původ Švýcarsko a označení jako zkomoleninu latinského „*ad Sacramentum*“ (u Božích muk). V této práci je taxon pracovníě označován jako *Salix* '**Sacramento**'.
- *Salix babylonica* '**Seiko**' – se vyskytuje jako samčí nepřevislý kultivar, který pochází z Japonska. V současnosti je považován za identický se *S. babylonica* f. *rokkaku* Kimura, který má pravděpodobně nejbližším původním přírodním typům druhu. Axon je v této práci pracovníě označován jako *Salix* '**Seiko**'.

Za křížence *S. babylonica* jsou považovány následující taxony (podle Chmelař 1984, Kuzovkina 2015, López et al. 2021):

- se *S. alba* – kříženci označování jako *S. ×sepulcralis*, *S. ×salamonii* nebo *S. ×chrysocoma* Dode. viz komentář k taxonu *S. ×sepulcralis*.
- se *S. fragilis* – kříženci označování jako *S. ×pendulina* Wender., *S. ×blanda* Anderss. nebo *S. ×elegantissima* Koch. viz komentář k taxonu *S. ×pendulina*.

- se *S. pentandra*? – kříženec sporného původu, hypoteticky jeden z možných původů taxonu *Salix* 'Prairie Cascade', viz komentář u taxonu.
- se *S. humboldtiana* – kříženec s nepotvrzeným původem: *Salix* 'Argentinensis'.

Obr. č. 1: Habitus *S. babylonica*. Lokalita: Olomouc, univerzitní kampus PŘF UP Envelopa (Foto: V. Chodilová, 2022).



Obr. č. 2: *S. babylonica* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Bystovany (Olomouc), bývalé arboretum Horizont – ID: BAB2.



Salix alba (vrba bílá)

Nejstatnější stromový druh rodu *Salix* v České republice (Úradníček et al. 2009). Dosahuje stromovitého vzrůstu od 15 metrů, ale mnohdy až 30 metrů (Dostál 1989). Velikost listů se pohybuje okolo 1,2 až 1,6 cm a tvar je dle Vašuta (2019) kopinatý až úzce eliptický se zřetelně pilovitým okrajem a alespoň na rubu hedvábně přitiskle chlupatý. Na bázi listové čepele se obvykle nacházejí 2-4 žlázky. Oblé žluté až černohnědé letorosty mají také hedvábně chlupatý vzhled, později se zčásti stanou olýsalé. Jedinci disponují samičími květy s jednou nektarovou žlázkou a téměř přisedlým olýsalým semeníkem. V každé chlopni tobolek se nachází 6-8 semen.

Jedná se o teplomilnou dřevinu, která roste na hlubších, vlhčích půdách, na březích větších řek a v lužních lesích. Dobře snáší tekoucí i stojatou vodu, zatímco na klimatické změny jako například pozdní mraz může být náchylnější. Toleruje i slabší přistínění (Úradníček et Chmelař 1995, Úradníček et al. 2009).

Areál rozšíření *S. alba* se nachází v mírném a mediteránním pásmu západní Eurasie a v severní Africe. Díky zavlečení roste i v Severní Americe a Austrálii (Úradníček et al. 2009, Horáček 2019). V České republice je rozšíření roztroušené, zejména v nižších polohách podél řek, ale dosahuje i do podhůří (Vašut et al. 2013).

Dle Vašuta (2019) je *S. alba* řazena do skupiny úzkolistých vrb společně se *S. fragilis* a *S. triandra*.

K nejčastěji se vyskytujícím autochtonním hybridům v České republice náleží *S. ×rubens* Schrank. (*S. alba* × *S. fragilis*). Naopak *S. ×undulata* Ehrh. (*S. alba* × *S. triandra*) nebo *S. ×ehrhartiana* Sm. (*S. alba* × *S. pentandra*) se vyskytují velmi vzácně (Vašut et al. 2013).

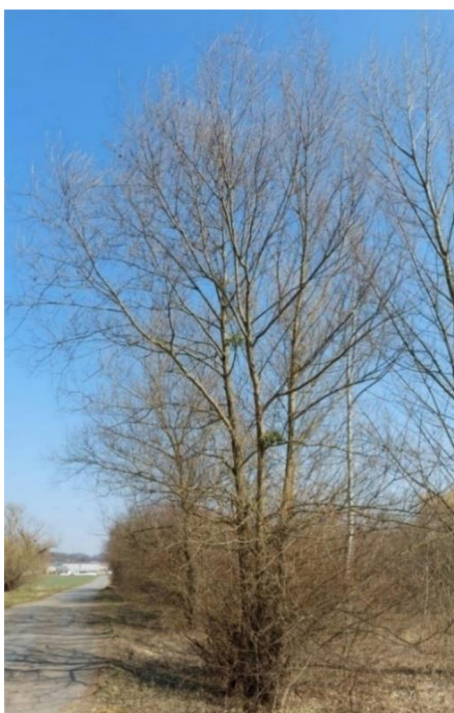
Z okrasných kultivarů a kříženců se setkáváme s následujícími taxony:

- *Salix alba* 'Tristis'

Kulturní kříženci se *S. alba* (podle Chmelař 1984, Kuzovkina 2015):

- se *S. babylonica* – viz komentář k taxonu *S. ×sepulcralis*.
- se *S. matsudana* 'Tortuosa' – předpokládá se, že takto vznikli kříženci *Salix* 'Bijdorp' a *Salix* 'Dart's Snake'.

Obr. č. 3: Habitus *S. alba*. Lokalita: Krčmaň, pískovna (Foto: V. Chodilová, 2022).



Obr. č. 4: *S. alba* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Olomouc (Nové Sady) ulice Zikova – ID: ALB1.



Salix fragilis (vrba křehká)

S. fragilis dorůstá do výšky okolo 6 až 15 metrů. Větvený kmen s tmavším dřevem je často křivý. Mladé větve, které se snadno v uzlinách lámou, jsou mnohdy odnášeny proudem vody a poté uchyceny. Díky lámavosti a křehké struktuře mladých větví byl strom pojmenovaný právě jako vrba křehká. Řapík při bázi čepele obsahuje jen 1-2 žlázky. Dobře vyvinuté palisty kopinatého tvaru, záhy opadávají. Hedvábitě chlupaté juvenilní listy v dospělosti olysají. Vzhled vyvinutých listů je charakterizován jako úzký, 7 až 10 cm dlouhý, zašpičatělý, hrubě pilovitý a na svrchní straně tmavozelený. Spodní strana listu má světlejší až sivou barvu. Květní listeny jsou naopak chlupaté, kopinaté, na konci tupé či tupě zašpičatělé, pupeny a rašící listy též obsahují chloupky. Kvete v měsíci dubnu (Větvíčka 1999, Úradníček et al. 2009, Šimíček 2019, Vašut 2019).

Vhodné podmínky pro výskyt taxonu se nacházejí na vlhkých, zamokřených, živných, těžkých, šterkovitých i písčitých půdách. Dále vyžaduje vysoké nároky na světelné podmínky, nesnese ani slabý boční zástín. Naopak požadavky na vláhu nejsou tak vysoké, bez následků překoná i krátkodobé zaplavení (Dostál 1989, Musil et Möllerová 2005, Šimíček 2019, Úradníček et al. 2009). Vyskytuje se například na břehových porostech, vodních příkopech, vlhkých loukách nebo na březích rybníků (Vašut et al. 2013).

Areál druhu zasahuje do střední, severní a východní Evropy, na izolované lokality ve Francii, severním Balkánu a na Kavkaz. V České republice se nachází od suprakolinního až po montánní stupeň, obecně hojně na celém území vyjma lužních lesů, kde se neobjevuje (Úradníček et al. 2009, Vašut et al. 2013).

Při určování může dojít k zaměnění se zástupcem *S. alba* nebo jejími kříženci a druhým zaměnitelným druhem je *S. triandra* a její kříženci (Vašut et al. 2013).

Belyaeva (2009) vytvořila nové jméno pro tradičně chápaný druh *S. fragilis*, který nese název *S. euxina* Belyaeva. Zároveň navrhla nahrazení jména druhů *S. fragilis* s.str. za nově vzniklý název. Marchenko et Kuzovkina (2022) analyzovali a identifikovali vzorky nově vzniklého taxonu uvedeného v práci Belyaeva (2009) a došli závěru, že nedávné nahrazení *S. fragilis* za *S. euxina* bylo chybné. A navrhují nadále zachovat a používat pouze původní název *S. fragilis*.

Z přírodních kříženců je známá častá *S. ×rubens* (= *S. ×fragilis* sensu Belyaeva, *S. ×basfordiana* Schl.), vzácně *S. ×alopecuroides* Tausch ex Opiz (Vašut et al. 2013, Šimíček 2019, Vašut 2019, Chytrý et al. 2021).

Z kulturních kříženců *S. fragilis* se pěstuje pouze jeden taxon (Chmelař 1984, Vašut et al. 2013):

- se *S. babylonica* – kříženci označováni jako *S. ×pendulina* Wender., *S. ×blanda* Anderss. nebo *S. ×elegantissima* Koch. viz komentář k taxonu *S. ×pendulina*.

Obr. č. 5: *S. fragilis* – detail listů (spodní a svrchní strana).
Lokalita: Starý Bohumín.



2.1.2 Přehled kulturních taxonů *S. babylonica* agg.

***Salix ×sepulcralis* (vrba náhrobní)**

Výška stromu se pohybuje od 10 do 20 m (Horáček 2019). Podle Chmelaře (1984) se staré stromy od mnohem mladších exemplářů velikostí mnohem neliší, dodává také, že téměř všechny starší stromy napadají plísně, které vykazují typické výrůstky na rozkládajících se částech kmene. Velmi tenké, dlouze převislé větve jsou výrazně žlutě zbarvené (Horáček 2019, Šimíček 2019). Horáček (2019) charakterizuje listy jako 7 až 12 cm dlouhé, čárkovitě kopinaté, jemně pilovité, na svrchní straně leskle zelené a na spodní straně šedozelené. Jedná se pouze o samičí klon (Santamour et McArdle 1988, Šimíček 2019). Jehnědy dorůstají do 3 až 4 cm (Horáček 2019).

Nejhojněji vysazovaná smuteční vrba se nejčastěji nachází na březích rybníků a řek (Koblížek 2008, Vašut 2019). Častěji se objevuje v teplejších oblastech, důvodem je citlivost na pozdní mrazy (Chmelař 1984). Chmelař (1984) zároveň uvádí, že taxon byl i dříve hojně rozšířený a většina starších smutečních vrb je právě *S. ×sepulcralis*.

Santamour et McArdle (1988) taxon zvaný *S. ×salamoni* považují za synonymum k *S. ×sepulcralis*, udávají, že se jedná o skupinu hybridů mezi *S. alba* a *S. babylonica*. Dále autoři oznamují, že se kříženec poprvé se jedinec objevil na majetku barona de Salamon před rokem 1864, pařížský botanik Élie-Abel Carrière nabízel tento botanickým zahradám a pomohl rozšířit morfortyp po Evropě.

Chmelař (1984) odlišuje od tohoto křížence morfortyp *Salix alba* 'Tristis' (uváděný také pod kultivarovým označení 'Vittellina Pendula'). Dle jeho názoru se úzce podobá *S. ×chrysocoma* (tj. synonymum pro *S. ×sepulcralis*), má ale pouze samičí květy a růst je oproti *S. ×chrysocoma* pomalejší. K dalším odlišným znakům patří kratší méně převislé větve a listy shazující mnohem dříve.

Autoři Vašut et al. (2013), Belyaeva et al. (2018) nebo Šimíček (2019) jako rodičovské druhy zmiňují *S. babylonica* a *S. alba* 'Tristis'.

Ze studia původních protologů taxonů *S. ×salamonii*, *S. ×sepulcralis* a *S. ×chrysocoma* vyplývá, že pouze Dodeův popis taxonu přesně odpovídá pestíkovému klonu široce pěstovanému v Evropě (Vašut, ústní sdělení). Proto je v této práci taxon s nápadně žlutými větvemi a vždy samčími květy označován jako ***Salix* 'Chrysocoma'**. Taxon se žlutohnědými větvemi, který byl získán pod označením *S. ×salamonii* je v této studii pracovní vylišován jako ***Salix* 'Salamonii'**.

***Salix* 'Chrysocoma'**

Někteří autoři si taxonomií *S. chrysocoma* nejsou zcela jistí a například Krüssmann (1986) taxon uznává za synonymum k *S. ×sepulcralis*. Nebo dle Baker (2009) je taxon považovaný za varietu *Salix ×sepulcralis* var. *chrysocoma*.

Dle Chmelaře (1984) je taxon označován za tzv. smuteční vrbu zlatou. Zejména v jarním období je dobře rozeznatelná od ostatních druhů. Díky svým dlouhým žlutě zbarveným větvím, které visí svisle dolů. Špičky větví mnohdy sahají až na zem nebo k vodě. Jedná se o rychle rostoucí statný strom dosahující výšky okolo 18 m. Listy, které jsou kopinaté, zachovávají svou zelenou barvu až do pozdního podzimu a opadávají až po prvních mrazících (Baker 2009, Belyaeva et al. 2018).

I když je na našem území nepůvodní, jedná se o jednu z nejčastěji pěstovaných okrasných vrb na našem území (Vašut et al. 2013).

Jako jeden z rodičů Chmelař (1984) uvádí *S. alba* 'Tristis' (Vittellina Pendula), druhý by dle jeho názoru mohla být silně převislá *S. babylonica*.

S. 'Oeresundiana' je považovaná za klon *S. ×chrysocoma* Dode pocházející ze Skandinávie (Chmelař 1984).

Obr. č. 6: Habitus *S. chrysocoma*. Lokalita Vsisko u rybníčku (Foto: V. Chodilová, 2022).



Obr. č. 7: *S. chrysocoma* – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Bystrovany (Olomouc), bývalé arboretum Horizont – ID: CHRY4.



***Salix alba* 'Tristis' (vrba bílá smuteční)**

Kultivar s výrazně převislými žlutě zbarvenými větvemi, velmi podobný předešlému taxonu a který je u nás označován za druhou nejčastěji pěstovanou smuteční vrbu. Chlupaté jsou větve i rub listové čepele. Tento taxon byl vylišován především Chmelařem (1984) a od *S. ×sepulcralis* (= *S. ×chrysocoma*) se liší přítomností pouze samičích květů a pomalejším růstem. K dalším odlišným znakům patří kratší méně převislé větve a listy shazující mnohem dříve (Chmelař 1984). Tento koncept byl přejat dalšími autory (Santamour et McArdle 1988, Vašut et al. 2013, Belyaeva et al. 2018, Vašut 2019), přestože se objevovaly pochybnosti o správnosti tohoto konceptu (Vašut, ústní sdělení). Genetické analýzy odhalily, že se jedná o křížence *S. babylonica*, nikoliv *S. alba* (Vašut, nepublikovaná data). Proto je v této práci taxon se žlutými až oranžovými větvemi a převážně samičími květy označován jako ***Salix* 'Tristis'**. Pod tímto označením jsou pracovně zahrnuty také morfotypy s převážně oboupohlavnými jehnědami.

Kultivar *Salix* 'Tristis' je pravděpodobně rodičovský taxon dvou kultivarů (podle Chmelař 1984, Vašut et al. 2013, Kuzovkina 2015):

- se *S.* '**Tortuosa**' – uměle vzniklý kříženec, který vytvořil argentinský šlechtitel A. E. Ragonese. Tradičně označován jako *S.* **×erythroflexuosa**, viz komentář u tohoto taxonu.
- se *S.* **alba** – předpokládá se, že takto vznikl kultivar *Salix* '**Oeresundiana**', viz poznámka u tohoto taxonu.

Obr. č. 8: Habitus *S. alba* 'Tristis'. Lokalita: Olomouc (Olomouc-město) ulice 17. listopadu (Foto: V. Chodilová, 2022).



Obr. č. 9: *S.* 'Tristis' – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Olomouc, městská část Povel, v blízkosti ZŠ Holečkova



Obr. č. 10: *S.* 'Tristis' ♂ – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Šumperk, mezi čerpací stanicí Shell a nákupním střediskem – ID: CHRY7.



Obr. č. 11: *S.* 'Tristis' ♀ – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Čechy pod Kosířem, na břehu rybníka v zámeckém parku, – ID: CHRY6.



Salix matsudana (vrba Matsudova)

Strom vysoký 5 až 15 m, je charakteristický olýsalými až lýsalými větvemi typicky zbarvenými do žlutě olivové až hnědošedé barvy (Vašut et al. 2013, Horáček 2019, Vašut 2019). Listy, které jsou úzké až čárkovitě kopinaté, na svrchní straně lysé a na spodní straně řídky chlupaté později olýsávající, dosahují délky 5 až 12 cm (Dostál 1989, Vašut et al. 2013, Horáček 2019).

Hojně se *S. matsudana* vysazuje v parcích, zahradách nebo na veřejných prostranstvích, výhodou je vysoká odolnost vůči stresu a dobrá přizpůsobivost (Vašut 2019, Zhang et al. 2021).

Tento taxon je původní na území severní Číny, Mongolska a Koreji. Po zavlečení se pěstuje po celém světě (Vašut et al. 2013, Vašut 2019, Zhang et al. 2021).

Dle Santamour et McArdle (1988) je *S. matsudana* považována za synonymum k *S. babylonica*. Obsahuje několik kultivarů. Nejčastěji pěstovaný kultivar *S. matsudana* 'Tortuosa' dorůstá keřovitě až menšího stromovitěho vzrůstu (Musil et Hamerník 2005). Důležitým determinačním znakem je růst hlavních větví do výšky a nepravidelné, spirálovité pokroucení letorostů, které jsou na koncích převislé (zejména u starších exemplářů). Jedná se o samičí klon (Santamour et McArdle 1988, Kuzovkina 2015), ale lze zřídka nalézt i jedince samčí nebo hermafroditní (Vašut, nepublikované údaje). Dle Chmelaře et Koblížka (1990) náleží taxon ke klimaticky odolnějším.

Kultivar *S. matsudana* 'Pendula' je převislý kultivar bez pokroucených větví a dorůstající nižší velikosti než předchozí taxon (Musil et Hamerník 2003, Vašut et al. 2013). Jemně chlupaté větve se zabarvují do šedavě žluté barvy. Svrchní strana listové čepele je taktéž hedvábitě chlupatá (Vašut et al. 2013). Musil et Hamerník (2003) uvádějí existenci pouze samičího klon a v neposlední radě se zmiňují o vyšší klimatické náročnosti.

Nepublikované genetické analýzy naznačují, že druhy *S. babylonica* a *S. matsudana* jsou si geneticky natolik blízké, že je pravděpodobné, že se nejedná o samostatné druhy (Vašut, ústní sdělení). Proto jsou v této práci kultivary tohoto taxonu pracovníčně označovány jako *Salix* 'Tortuosa', respektive *Salix* 'Pendula'.

Kříženci vzniklí křížením *Salix* 'Tortuosa' (podle Kuzovkina 2015, Vašut 2019):

- se *S.* 'Tristis' – viz *S.* ×*erythroflexuosa*.
- se *S. alba* – předpokládá se, že takto vznikli kříženci *Salix* 'Bijdorpe' a *Salix* 'Dart's Snake'. Stejný původ se předpokládá u taxonu *S. matsudana* 'Caradoc',

který je hojně pěstován ve Velké Británii, ale nepodařilo se nám jej získat kvůli omezením v důsledku Brexitu.

- V přírodě byli nalezeni spontánní kříženci, s dosud nepotvrzeným původem, ale pravděpodobně vznikli jako důsledek křížení se *S. alba*, *S. fragilis* nebo *S. ×rubens* (Vašut, nepublikované údaje). Mezi tyto spontánní křížence patří také vzorek pojmenovaný *Salix* 'Curly Obelisk' od Ing. V. Čížka.

Obr. č. 12: *S. 'Tortuosa'* – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Olomouc (Nové Sady) ulice Zikova – ID: MAT2.



Obr. č. 13: *S. 'Pendula'* – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Kunovice, sad VÚLHM – ID: MAT3.



***Salix erythroflexuosa* (vrba argentinská)**

Nižší převislý kultivar sloupcovité nebo kulovité formy, dobře rozeznatelný pomocí výrazně pokroucených větví, zbarvených do oranžové až oranžovo-červené barvy (Šimíček 2019, Vašut et al. 2013). Čepel listu je (Koblížek 2006, Vašut et al. 2013). Podle Vašuta (2019) je zaměnitelná se *S. matsudana*, jediný spolehlivý rozlišovací znak je celkový habitus a zbarvení větví.

Kříženec vytvořil argentinský botanik Arturo Enrique Ragonese, údajně jako kříženec *S. alba* 'Tristis' × *S. matsudana* 'Tortuosa' (Chmelař 1984, Koblížek 2006). Taxon si zachoval nejdekorativnější znaky obou rodičů: převislý charakter a barevné větve *Salix* 'Tristis' a pokroucené větve a listy *Salix* 'Tortuosa'. Exempláře v arboretu Mendelovy univerzity v Brně (v této studii ID: ERY3 a ERY4) představují nejstarší exempláře v Evropě, které A. E. Ragonese daroval doc. J. Chmelařovi.

Obr. č. 14: *S. erythroflexuosa* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Olomouc (Nové Sady), Zikova – ID: ERY2.



Obr. č. 15: Habitus *S. ×erythroflexuosa*. Lokalita: Olomouc (Nové Sady), Zikova (Foto: V. Chodilová, 2022).



Salix ×pendulina (vrba obloukovitá)

Strom dosahující v dospělosti výšky až 15 metrů s výrazně obloukovitě mírně převislými větvemi, které se v uzlinách lámou. Barva je nevýrazná zelená nebo šedavá. Řídce chlupaté listy na svrchní straně obsahují šedivý voskový povlak (Musil et Hamerník 2003, Koblížek 2006). Dle Koblížka (2006) je známý pouze samičí klon.

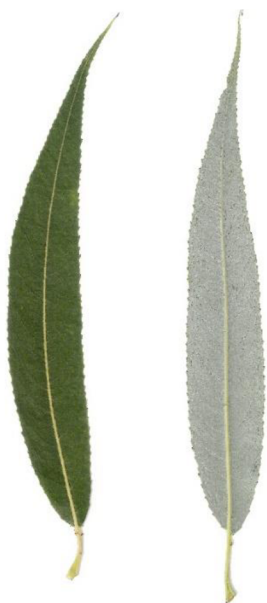
Nejedná se o hojně pěstovaný kultivar, ale na rozdíl od rodičovského druhu *S. babylonica* je poměrně mrazuvzdorný (Musil et Hamerník 2003). Předpokládá se, že kultivar vznikl zkřížením *S. babylonica* se *S. fragilis* (Vašut et al. 2013).

Taxon byl v Evropě dlouho známý jako *S. ×blanda*, dříve také jako *S. ×elegantissima*. V poslední době převažuje názor, že nejstarší jméno taxonu je *S. ×pendulina* (např. Belyaeva et al. 2018, Vašut 2019). Podle Vašuta (ústní sdělení) ale původní protolog druhu od G. W. Wenderotha nedává přesnou informaci o podobě taxonu a mohlo by se rovněž jednat o *S. babylonica* (morfortyp *S. 'Babylon'*). Proto je v této práci taxon pracovníčně označen jako ***Salix 'Blanda'***, tj. vychází z konceptu N. J. Anderssona, který předpokládal hybridní původ *S. babylonica* × *S. fragilis*.

V USA pěstovaný morfortyp není pravděpodobně totožný s evropským taxonem (Santamour et McArdle 1988). Nepodařilo se nám získat vzorek z USA, ale vzorek z Dendrologické zahrady v Průhonicích (ID: N-II-130) se vzhledem americkým rostlinám

podobá, ale jistotu totožnosti nemáme (Vašut, ústní sdělení), vzorek je pracovně označen jako *Salix* cf. 'Wisconsin'.

Obr. č. 16: *S.* 'Blanda' – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity – ID: BLA3.



Obr. č. 17: *S.* 'Blanda' – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Lednice, zámecký park – ID: BLA1.



***Salix* 'Dart's Snake'**

Kultivar s pokroucenými větvemi a listy. Na rozdíl od *S.* 'Tortuosa' má tmavě červeně zbarvené větve, na rozdíl od *S.* 'Erythroflexuosa' má větve přímo vzhůru vzpřímené. Předpokládáný vznik hybridizací *S. alba* × *S.* 'Tortuosa' (Kuzovkina 2015).

***Salix* 'Bijdorp'**

Podobný předešlému taxonu, jen větve spíš červenohnědé než tmavě červené. Prakticky téměř neodlišitelné. Předpokládá se původ stejnou hybridní kombinací, Kuzovkina (2015) mylně považovala za kultivar vrby babylónské (jako *S. babylonica* 'Bijdorp').

Obr. č. 18: *S.* 'Bijdorp' – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Kunovice, sad VÚLHM – ID: S-909.



Salix 'Oeresundiana'

S. 'Oeresundiana' je považovaná za křížence *S. alba* × *S.* 'Tristis' vzniklého ve Skandinávii. Má spíš „štrapatý“ než převislý habitus. Chmelař (1984) za semenáče vzniklého ze *S. ×chrysocoma*. V Česku jen ojediněle pěstovaný taxon.

Obr. č. 19: *S.* 'Oeresundiana' – detail listů (spodní a svrchní strana). Lokalita: Kunovice, sad VÚLHM – ID: S-927.



Salix ×rubens (vrba načervenalá)

Statný strom vysoký až 25 metrů, charakteristický olýsalými letorosty zbarvenými do špinavě žlutozelené, jemně oranžové nebo lehce načervenalé barvy. Listová čepel je na rubu lysá nebo roztroušeně chlupatá (Vašut 2019).

Dle autorů Úradníček et al. (2009) se jedná o křížence mezi *S. alba* a *S. fragilis*, který získal morfologické znaky po obou rodičích. Jedním z nich jsou křehké větve v uzlinách (Vašut 2019).

Irina Belyaeva (Belyaeva et al. 2018) se domnívá, že všichni kulturní kříženci z okruhu *S. babylonica* agg. (tj. taxony tradičně označované jako *S. ×sepulcralis*, *S. ×salamonii*, *S. ×chrysocoma*, *S. ×blanda*, *S. ×pendulina*, *S. ×elegantissima*, *S. ×erythroflexuosa* a *S. alba* 'Tristis') jsou různí kříženci *S. babylonica* × *S. ×rubens* (všechny společně pojmenované jako *S. ×pendulina*). Přestože je tento koncept chybný (Vašut, nepublikované údaje), zařadila jsem tohoto přírodního křížence i do této studie.

Obr. č. 20: Habitus *S. ×rubens*. Lokalita: Krčmaň, u rybníčku (Foto: V. Chodilová, 2022).



Obr. č. 21: *S. ×rubens* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Blatec, podél řeky Moravy.



Salix excelsa

Jedná se o strom vysoký až 30 m. Mladé větve jsou lysé nebo řídce chlupaté, hnědé nebo nažloutlé (Ali 2001). Dle Grierson et Long (1983) je vzhledově podobná *S. babylonica*, ale listy jsou širěji elipsovitě obkopynaté se žláznatými a pilovitými okraji. Řapík listu je 2 až 4 mm dlouhý a lysý. Přítomné palisty opadávají (Ali 2001).

Původní rozšíření se nachází na území od Kavkazu po střední Asii a západní Pákistán (Ali 2001).

Obr. č.22: *S. excelsa* – detail listů (spodní a svrchní strana).
Lokalita: Průhonice, Dendrologická zahrada VÚKOZ – ID: EXC2.



2.1.3 Druhy bez hybridizace se *S. babylonica*

V této kapitole se zabývám druhy z podrodu *Salix* subgen. *Salix*, u kterých nejsou dosud známí kříženci se *S. babylonica*, nebo nebyli dosud spolehlivě prokázáni (*Salix* 'Prairie Cascade'). Zahrnuje naše domácí druhy (*S. triandra* a *S. pentandra*), asijské druhy (*S. excelsa* a *S. pierotii*) a americké druhy (*S. humboldtiana* a *S. lucida*). Některý z druhů *S. pentandra* agg. (*S. pentandra* nebo *S. lucida*) se pravděpodobně podílel na vzniku křížence *Salix* 'Prairie Cascade'; *Salix pierotii* by mohla být geneticky blízká *S. babylonica* agg. (Vašut, ústní sdělení).

***Salix triandra* (vrba trojmužná)**

Bohatě větvený keř dorůstající výšky 3 až 6 metrů, který charakterizuje odlupující se borka ve formě plátů nebo šupin. Kůra, která je obnažená, má skořicově hnědé zbarvení (Musil et Hamerník 2003, Vašut et al. 2013, Úradníček et Chmelař 1995).

Taxon roste na výživnější hlinité nebo písčité půdě. Vyskytuje se také v mokřadních biotopech. *S. triandra* toleruje částečně stojatou vodu nebo záplavy, ale naopak citlivá je na pozdní mrazy (Šimíček 2019).

Euroasijský taxon, který obsazuje zejména temperátní oblastí. Jedná se o původní druh na území České republiky a objevuje se po celém území roztroušeně, zejména v mezofytiku a podhůří (Koblížek 2006, Úradníček et al. 2009, Vašut et al. 2013).

Existuje několik poddruhů *S. triandra* a dva se nacházejí i v České republice. *S. triandra* subsp. *triandra* a *S. triandra* subsp. *amygdalina* (L.) Schübl. et G. Martens (Vašut et al. 2013).

Kříženci druhu *S. triandra* nejsou velmi známí, ale patří sem například *S. ×undulata* (*S. alba* × *S. triandra*) nebo *S. ×alopecuroides* (*S. fragilis* × *S. triandra*) a *S. ×mollissima* (*S. viminalis* × *S. triandra*) (Vašut et al. 2013, Šimíček, 2019).

Obr. č. 23: *S. triandra* – detail listů (spodní strana). Lokalita: Palačov: luh podél potoka Jasenka – ID: TRI_TRI1.



***Salix pentandra* agg. (okruh vrby pětimužné)**

Ve studii jsem analyzovala 3 druhy z tohoto okruhu, *S. pentandra*, *S. lucida* a *S. pseudopentandra*. Podařilo se nám také získat vzorek *S. serissima* (L.H. Bailey) Fernald, ale jeho determinace není jistá, a proto je zde označen jako *S. cf. serissima*.

***Salix pentandra* (vrba pětimužná)**

Velikost keře nebo stromu se pohybuje od 3 do 15 m výšky, převážně se ale jedná o menší strom obsahující archaické znaky. Větší počet tyčinek, odstávající jehnědy nebo bíle ochmýřená semena zůstávají v tobolkách až do předjaří a slouží jako vhodné determinační znaky pro porovnání s ostatními středoevropskými druhy (Úradníček et Chmelař 1995, Úradníček et al. 2009, Šimíček 2019).

Taxon je zapsán v Červeném seznamu cévnatých rostlin České republiky a řadí se mezi potenciálně ohrožené druhy, které vyžadují další pozornost (kategorie C4).

Dřevina roste na vlhčích půdách s nízkým pH, často na rašelinném substrátu (Úradníček et al. 2009).

Areál rozšíření zasahuje do střední, severní a východní Evropy a do střední Asie (Úradníček et Chmelař 1995). V České republice roste zejména v oblastech od termofytika do oreofytika (Šimíček 2019).

Salix lucida (vrba lesklá)

Druh *S. lucida* dosahuje keřovitého nebo menšího stromovitého vzrůstu do 5 m výšky. Lesklé letorosty zbarvené do žlutohnědé až nahnědlé barvy jsou pro taxon charakteristické (Jepson 1993, Horáček 2019). Juvenilní listy lysé nebo bílo-rezavě chlupaté s vyvinutými palisty (Jepson 1993). Velikost dospělých listů se pohybuje okolo 6 až 14 cm. Kopinatá čepel listu je jemně vroubkovitá, nápadně špičatá a na bázi kulatá. Ze svrchní strany lesklá a zesponu šedohnědá (Jepson 1993, Horáček 2019).

Obr. č. 24: *S. lucida* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Kunovice, sad VÚLHM – ID: LUC1.



Salix pieroti

Druh *S. pieroti* dosahuje výšky keřovitého nebo menšího stromovitého vzrůstu do 8 metrů. Borka i větve jsou tmavě šedozelené nebo šedožluté. Čepel listu je kopinatá nebo podlouhle kopinatá, nejširší pod středem, svrchní strana šedivá a spodní strana zelená, v mládí je list hustě ochmýřený. Palisty jsou přítomné (Fang et al. 1999).

Jedná se o nepůvodní druh, pocházející z východní Asie (Fang et al. 1999).

Obr. č. 25: *S. pierotii* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Průhonice, Dendrologická zahrada VÚKOZ – ID: PIE1.



Salix 'Prairie Cascade'

Velmi výjimečně odolná mrazuvzdorná smuteční vrba se širokou smuteční korunou a lesklými zelenými listy. Za rodičovské druhy se označují *S. pentandra* L. a *S. ×pendulina* 'Blanda' (Dirr 2009) nebo *S. pentandra* × *S. alba* 'Tristis' (Remphrey et Pearn 2006).

Obr. č. 26: *S. 'Prairie Cascade'* – detail listů (svrchní a spodní strana). Lokalita: Kunovice, sad VÚLHM – ID: S-1210.



Salix humboldtiana

Druh je označován za stálezelený nebo opadavý strom. Druh je velmi proměnlivý ve svém habitu, je nápadný díky své vysoké a zároveň úzké koruně (někdy označováno jako *Salix humboldtiana* var. *pyramidalis* Kuntze), ale většinou má druh výrazně níčí větve podobně jako *S. babylonica*. Dospělý strom dosahuje výšky 10-15 metrů a občas se uvádí výška až 25 m. Dalšími charakteristickými rysy jsou produkce velkého množství malých semen, které ve vlhkém prostředí velmi dobře klíčí. Kůra je hladká a zbarvena do tmavě hnědé až šedé barvy. Světle zelené listy s pilovitým okrajem dorůstají délky až 15 cm (Liotta 2001, Baker 2009).

Původní areál druhu se nachází na území Mexika až do Jižní Ameriky (Bernal et al. 2015), pěstován je jen v subtropických oblastech Jižní a Latinské Ameriky, v Evropě je občas pěstován ve Středozeří.

Obr. č. 27: *S. humboldtiana* – listy (spodní a svrchní strana). Lokalita: Kremasti (Rhodos, Řecko) – ID: BAB3.



Salix pseudopentandra

Keř vysoký 5 až 7 metrů je charakterizován úzkými dlouze oválnými nebo kopinatými listy s jemně pilovitým okrajem. Svrchní strana listu má lesklý vzhled a zelenou barvu a na bíle zbarvené spodní straně se nacházejí chloupky, palisty chybí (Chang et Kim 2015).

Původní areál keře z Asie (Chang et Kim 2015).

2.2 Karyologie rodu *Salix*

U mnohých zástupců rodu *Salix* dochází ke snadné hybridizaci, zejména u zástupců podrodu *Salix* subgen. *Salix*. Z výše uvedených charakteristik taxonů je zřejmé, že determinace zejména smutečních vrb není snadná (Chmelař 1984, Vašut et al. 2013, Šimíček et al. 2019, Vašut 2019). Pro správné stanovení druhů nebo nižších úrovní je dnes využívána nejen morfologická charakteristika, ale zároveň i znalost rozmanité vnitřní charakteristiky, jako například biochemické složení nebo charakteristika genomu. Pomocí vnitřních vlastností je možné odhalit uskutečněné procesy, při kterých nebyla morfologická stavba rostliny pozměněna a zásluhou těchto znalostí lze lépe pochopit evoluční historii rostlin (Greiner 2013).

Obecně se o výhodě znalosti počtu, tvaru nebo velikosti chromozomů, pro využití k charakteristice druhové nebo nižší úrovně se zmiňuje Krahulcová (1998). Stace (2000) zároveň uvádí, že základní čísla chromozomů jsou významné z evolučního i taxonomického hlediska.

V rámci studovaného rodu je uváděno základní chromozomové číslo $x = 19$, u zástupce *Salix triandra* je výjimečně uváděno i $x = 22$ (Blackburn et Harrison 1924, Vašut et al. 2013, Šimíček 2019). Argus (1997) zmiňuje, že u *Salix* existuje mnoho druhů, které jsou polyploidní, od tri- až po dodecaploidy. Jeden z vymezených cílů práce se zabýval právě stanovením DNA-ploidní stupeň u vybraných taxonů.

2.2.1 Polyploidizace

Viditelným rysem chromozomální evoluce u rostlin klíčem k rychlé speciaci je polyploidizace (Alix et al. 2017, Chen et al. 2021). Pod pojmem polyploidie se rozumí jev, kdy se v jádrech buněk těla jedince nachází více než dvě sady chromozomů ($2n$) (Weiss-Schneeweiss et al. 2013). Ploidní úrovně zahrnují změny v počtu celých sad chromozomů (Birchler 2009). Polyploidie je obecně označována dle počtu chromozomových sad například jako triploidní, tetraploidní, ... dodekaploidní apod.

Ze současných studií vyplývá, že důležitou roli v evoluci všech eukaryotických organismů hraje zvětšování počtu chromozomů následkem polyploidizace (Kováčik 1983, Alix et al. 2017). Zatímco u živočichů je polyploidizace vzácná a přináší spíše negativní dopad, tak naopak u rostlin (zejména krytosemenných) se jedná o zcela běžnou záležitost, výjimkou jsou nahosemenné rostliny, u nichž k polyploidizaci nedochází často

(Muller 1925, Mable 2004, Šmarda 2016, Panawala 2017). Změna počtu chromozomové sady může být docílena přirozeně nebo i uměle pomocí šlechtění (Sattler et al. 2016).

Krytosemenné rostliny díky procesu polyploidizace překonaly hlavní evoluční přechody, adaptovaly se na podmínky prostředí a jsou součástí speciace (Alix et al. 2017). Dalšími příklady vlivu nejen přirozené ale i cílené polyploidizace u rostlin může být změna rychlosti růstu, změna velikosti, zlepšení tolerance k vodnímu stresu nebo vytvoření silnější epidermis nebo zvýšení výnosu (Sattler et al. 2016, Chen et al. 2021).

Polyploidii je možné dělit z několika hledisek. Dělení dle původu se rozumí původ chromozomů, které se účastní množení. Patří sem autopolyploidie a alopolyploidie, kdy u prvního se jedná o zmnožení vlastních chromozomů a u allopolyploidie dochází k mezidruhovému křížení a následnému zmnožení chromozomů (Weiss-Schneeweiss et al. 2013, Panawala 2017). K nejčastějším důsledkům vzniku polyploidie patří právě mezidruhá hybridizace (Stebbins 1985). Zároveň lze polyploidii dělit i podle časového horizontu na paleopolyploidii, mezopolyploidii a neopolyploidii. Paleopolyploidní druhy ve své evoluční minulosti prošly polyploidizací, ale dnes se ukazuje, že se jedná o diploidy. Pod výrazem neopolyploidie jsou označeny evolučně mladé taxony (Weiss-Schneeweiss et al. 2013).

Počty polyploidních druhů u kvetoucích rostlin a zároveň podíl polyploidních druhů v různých zemích nejsou zcela jasné, zejména z důvodu odlišných názorů na definici druhu (Briggs et Walters 2001). Počet chromozomů se u rostlin pohybuje mezi $2n = 4$ a $2n = 1520$. Minimální počet chromozomů $2n = 4$ patří několika taxonům například *Zingeria biebersteiniana* (Claus) P. Smirn., *Haplopappus gracilis* (Nutt.) A. Gray nebo *Xanthisma gracile* (Nutt.) D. R. Morgan & R. L. Hartman, naopak dosud nejvyšší analyzovaný počet chromozomů náleží druhu *Ophioglossum reticulatum* L. $2n = 1520$ (Bennett 1972, Bennett et Smith 1991, Johnson et al. 1989, Simpson 2010). Greilhuber et Leicht (2013) uvádějí, že polyploidie hraje pouze relativně malou roli v původu rozílů ve velikosti genomu.

2.2.2 Velikost genomu

Důležitými a zároveň charakteristickými znaky biodiverzity jsou označovány množství jaderné DNA a velikost genomu (Bennett et Leitch 2005).

Termín genom představuje veškerou genetickou informaci, která je uložena v DNA. Buněčná jádra eukaryotních organismů obsahují většinu DNA, zbylá část

je pak obsažena v semiautonorních organelách. Genetické informace jsou uspořádány do funkčních jednotek tedy do chromozomů (Doležel et al. 2012).

Genom společně s protoplazmou představuje materiální základ druhu. Veškerá DNA se nachází v buněčném jádře a představuje úplnou kopii dědičné informace. Pojem velikost genomu lze kvantifikovat jako obsah DNA v jádře, které je běžně vyjadřováno jako 2C hodnota (Doležel et al. 2007).

Obsah jaderného DNA neboli hodnotu velikosti genomu je možné vyjádřit v jednotkách pikogramů (pg) nebo megapárech bází (Mpb) přitom $1 \text{ pg} = 978 \text{ Mpb}$ (Doležel et al. 2003).

Počet chromozomálně analyzovaných krytosemenných rostlin bylo do internetové databáze „*Plant DNA C-values Database*“ nahráno 10 770 druhů krytosemenných rostlin, což odpovídá již 3 % z dosud odhadnutých 352 000 krytosemenných rostlin (Paton et al. 2008, Leitch et al. 2019).

Obsah jaderné DNA se u krytosemenných rostlin pohybuje v rozmezí od 0,12 pg až do 304,46 pg. Nejmenší analyzovaný jaderný genom je znám u druhu *Genlisea tuberosa* Rivadavia, Gonella & A.Fleischm. ($2C \approx 122 \text{ Mbp}$) $\gg 2C = 0,12 \text{ pg}$ (Fleischmann et al. 2014) a naopak největší velikost genomu byla naměřena u druhu *Paris japonica* Franch. $2C = 304,46 \text{ pg}$ (Pellicer et al. 2010).

Velikost genomu je možné zkoumat několika způsoby. Feulgenova denzitometrie (nověji využívání počítačové obrazové analýzy) nebo průtoková cytometrie jsou nejčastěji využívané metody pro stanovení velikosti genomu (Gregory et al. 2007). Dalším z vymezeným cílům diplomové práce bylo stanovení velikosti genomu, které bylo analyzováno za pomoci metody průtokové cytometrie.

2.2.3 Průtoková cytometrie

Charakteristiku a mnohé vlastnosti buněk je možné analyzovat prostřednictvím principu průtokové cytometrie (flow cytometry). V první řadě byla metoda vyvinuta jako ideální postup pro počítání a eventuálně i pro klasifikaci krevních buněk a od 80. let minulého století našla metoda mnohé využití i v ekologii, evoluci a biosystematice (Shapiro 2005, Kron et al. 2007, McKinnon 2018, Sliwinska 2018).

Jedná se o velmi rychlou, přesnou, relativně levnou a jednoduchou analýzu velkého množství částic. Vedle již zmíněných výhod je třeba zmínit také fakt, že se jedná o nedestruktivní způsob. Limitujícím faktorem využití principu průtokové cytometrie

může být cena samotného přístroje. Při přehlédnutí prvotních nákladů patří metoda k poměrně levným (Suda 2005, Sliwiska 2018).

Metoda poskytuje způsob třídění buněk. Ideální suspenze by měla obsahovat neporušené chromozomy a měla by být prostá fragmentů buněk. Kvalita získaných výsledků, závisí na kvalitě přípravy vzorku (Ormerod et Imrie 1990). Na přípravu vzorku stačí velmi malé množství prakticky jakéhokoliv pletiva nebo tkáně, možné je i využití mraženého materiálu. Výsledkem měření je po procesu digitalizace v tzv. histogram (Suda 2005). Metoda průtokové cytometrie je jedinečná, protože poskytuje informace o jednotlivých buňkách, lépe řečeno jejich jednotlivých molekulách, namísto o buněčné populaci jako celku. Většina ostatních metod umožňuje studium buněčné populace jako celku (Šmarda et al. 2008).

3 Cíle práce

Smuteční vrby, které byly předmětem předložené diplomové práce, patří mezi taxonomicky složitou skupinu vrb s nejasnou mírou hybridizace. U žádného z taxonů nebyl zatím jednoznačně zjištěn jejich hybridní původ.

Z výše uvedených důvodů byly stanoveny cíle této diplomové práce, tedy:

- Stanovení DNA-ploidní úrovně
- Analýza velikost genomu u vybraných zástupců
- Zjištění, zda lze použité metody vhodně využít pro detekci hybridních druhů

Biologická otázka byla, zda existují rozdíly ve velikosti genomu mezi hypotetickými rodičovskými druhy (především *S. babylonica*, *S. alba*, *S. fragilis*, *S. matsudana*, *S. pierotii*, *S. pentandra* agg.) a zda může případný rozdíl přispět k pochopení původu pěstovaných kultivarů.

4 Materiál a metody

Kapitola obsahuje shrnutí metodických postupů, které byly použity za účelem dosažení výsledků stanovených cílů.

Vědecká jména v odborných textech bývají obvykle standardizována podle určitého zdroje. V tomto případě nebylo možné využít žádný jednotný zdroj, protože pojmenování těchto okrasných taxonů se liší napříč literaturou (Chmelař 1984, Santamour et McArdle 1988, Kuzovkina 2015, Belyaeva et al. 2018), proto byla pro zjednodušení jmen botanických druhů využita databáze *Plants of the World online* a jména kulturních vrb jsou uváděna pracovníě pouze pod označením kultivaru bez příslušnosti k jednotlivým druhům.

4.1 Sběr, původ a uchování rostlinného materiálu

Vlastní sběr rostlinného materiálu se týkal vybraných zástupců podrodu *Salix* subgen. *Salix* se zaměřením na smuteční vrby. Sběr probíhal v období od poloviny dubna do konce měsíce října roku 2021. Rostlinný materiál byl sbírán R. J. Vašutem nebo V. Chodilovou vždy po předchozí domluvě před samotným měřením. Lokality sběru se primárně nachází na území ČR, tři vzorky pochází z Řecka a jeden z ostrova Rhodos. Sbírány byly malé části větvíček stromů s listy. Každý vzorek byl odebrán do jednotlivého, čitelně označeného mikrotenového sáčku, z důvodu, aby nedošlo k náhodnému pomíchání vzorků.

Sběr materiálu pro výzkum probíhal ve vegetačním období, kdy se na všech stromech nacházel materiál, který byl předmětem výzkumu. Za uvedených podmínek se samotným sběrem nebyl problém. Jediná potíž mohla nastat v případě sběru u vzdálenějších lokalit, protože pro studium dosažených cílů v laboratoři je nutné manipulovat s čerstvým materiálem. Pro výzkumnou část práce sloužila jen část materiálu, konkrétně část listu, která nevykazovala známky napadení škůdců nebo jiné choroby. Nasbírané listy byly využity pro stanovení DNA-ploidní úrovně a (nebo) pro změření velikosti genomu metodou průtokové cytometrie. Zbylá část rostlinného materiálu, která nebyla použita pro výzkum, byla pečlivě vylisována a zařazena do Herbária Katedry botaniky PřF UP v Olomouci (OL). Využitý materiál byl před využitím uchován v ledničce s průměrnou teplotou 4 °C. Seznam analyzovaných zástupců, jejich zkratk a seznam lokalit je uveden v Příloze 1.

4.2 Stanovení DNA-ploidní úrovně a velikosti genomu

Stanovení DNA-ploidní úrovně (Suda et al. 2006) a velikosti genomu (Greilhuber et al. 2005) probíhalo metodou průtokové cytometrie s použitím vnitřního standardu se známým obsahem DNA (Doležel et al. 2007). Samotné měření probíhalo na přístroji Partec PAS (Partec GmbH, Münster, Germany). Jako vnitřní standardy se známým obsahem DNA sloužily *Raphanus sativus* L. 'Saxa' (2C = 1.11 pg) a *Solanum lycopersicum* L. 'Stupické polní rané' (2C = 1.96 pg; Doležel et al. 1992). Postup samotné přípravy suspenze probíhal tak, že se nejprve odebrala část listové čepele ze vzorku i standardu. Velikost odebrané plochy listu byla cca 0,5 cm², tato plocha stačila k tomu, aby vzorek obsahoval požadované množství buněk. Odebrané části byly vloženy do Petriho misky, která obsahovala 1000 ml LB01 pufru. Poté za účelem izolace buněk byly rostlinné části (části rostlinné tkáně) pomocí žiletky společně jemně mechanicky nasekány a homogenizovány, z důvodu extrakce buněčných jader (izolace buněk). Následovalo přefiltrování připravené suspenze přes nylonový filtr do připravené zkumavky obsahující 500 µl pufru. Homogenát byl následně doplněn o 50 µl RNázy a obarven 50 µl fluorochromu PI (propidium jodid; obojí s koncentrací 50 mg/mL). U každého vzorku bylo vždy změřeno 5000 jader. V případě stanovení velikosti genomu byly vzorky vždy analyzovány alespoň třikrát a odchylka mezi nejnižší a nejvyšší získanou hodnotou nepřesáhla 2 % (viz Doležel et al. 2007).

5 Výsledky

5.1 Stanovení ploidní úrovně a velikost genomu vrb

Pro výzkumnou část práce sloužilo celkem 97 vzorků vrb (*Salix*), které zastupovaly 14 přírodních taxonů (druhy, kříženci, poddruhy), 15 kulturních taxonů a 6 vzorků předpokládaného spontánního křížení kulturních a přírodních taxonů. Tyto vzorky náleží do podrodu *Salix*. Navíc byl analyzován jeden vzorek z podrodu *Vetrix*, součástí výzkumu byl z důvodu případného srovnání.

Dle výsledků měření byl odhalen převládající tetraploidní cytotyp, který byl zjištěn u 88 vzorků, u 5 vzorků byl zjištěn diploidní stupeň, 3 vzorky byly hexaploidní a u jediného vzorku byla detekována triploidní úroveň.

Celkem 20 taxonů bylo podrobena analýze absolutní velikosti genomu. Průměrná velikost absolutního genomu u diploidů byla $0,725 \text{ pg} \pm 0,005 \text{ s.d.}$, jediný triploidní vzorek měl hodnotu absolutní velikosti genomu $1,129 \text{ pg} \pm 0,007 \text{ s.d.}$, u tetraploidních vzorků, byla naměřená průměrná hodnota absolutní velikosti genomu $1,622 \text{ pg} \pm 0,014 \text{ s.d.}$ a u hexaploidů byla průměrná absolutní velikost genomu $2,327 \text{ pg} \pm 0,017 \text{ s.d.}$.

U zbylých 16 taxonů byla stanovena pouze relativní velikost genomu. Všechny tyto vzorky byly tetraploidní a hodnoty relativní velikosti genomu se pohybovaly od 1,434 pg (ID: LUC2) až 1,770 pg (ID: V11).

U analyzovaného vzorku z podrodu *Vetrix* (ID: V09) byla zjištěna diploidní úroveň a hodnota relativní velikosti genomu vyšla 0,817 (pg).

Hodnota koeficientu variability (CV) u studovaných vzorků dosáhla průměrné hodnoty 3,65. Průměrné CV píků vnitřního standardu *R. sativum* 'Saxa' bylo 3,9 a u standardu *S. lycopersicum* 2,92.

Výsledky obou měření jsou vyjádřené v Tab. č. 1, 2 a 3.

Tab. č. 1: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u přírodních taxonů (kříženci a druhy) a stanovení DNA-ploidní úrovně.

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.	rel. 2C DNA (pg)
<i>S. triandra</i> subsp. <i>amygdalina</i>	TRI_AMY1	2x	0,711	0,005	-
<i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	TRI_HOP1	2x	0,711	0,007	-
<i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	TRI_TRI1	2x	0,753	0,005	-
<i>S. pseudopentandra</i>	S-1203	2x	0,893	0,004	-
<i>S. fragilis</i> × <i>S. triandra</i>	FRA3	3x	1,129	0,007	-
<i>S. alba</i>	ALB1	4x	1,644	0,007	-
<i>S. alba</i>	ALB2	4x	-	-	1,615
<i>S. alba</i>	ALB3	4x	-	-	1,605
<i>S. alba</i>	V05	4x	-	-	1,641
<i>S. babylonica</i>	BAB2	4x	-	-	1,634
<i>S. babylonica</i>	BAB4	4x	-	-	1,546
<i>S. babylonica</i>	S-1018	4x	-	-	1,652
<i>S. babylonica</i>	S-899-V7	4x	-	-	1,6
<i>S. babylonica</i>	THESS1	4x	-	-	1,767
<i>S. babylonica</i>	THESS2	4x	-	-	1,705
<i>S. babylonica</i>	THESS3	4x	1,649	0,013	-
<i>S. cf. babylonica</i>	BAB1	4x	1,666	0,009	-
<i>S. excelsa</i>	EXC2	4x	-	-	1,644
<i>S. excelsa</i>	S-0884	4X	-	-	1,687
<i>S. fragilis</i>	FRA1	4x	-	-	1,684
<i>S. fragilis</i>	FRA4	4x	1,732	0,014	-
<i>S. fragilis</i>	FRA-TRI	4x	-	-	1,637
<i>S. fragilis</i>	V11	4x	-	-	1,77
cf. <i>S. fragilis</i> × <i>S. pentandra</i>	H4	4x	-	-	1,584
<i>S. humboldtiana</i>	EXC1	4x	1,397	0,006	-
<i>S. humboldtiana</i>	BAB3	4x	1,459	0,011	-
<i>S. lucida</i>	LUC1	4x	-	-	1,741
<i>S. lucida</i>	LUC2	4x	-	-	1,434
<i>S. lucida</i>	LUC3	4x	-	-	1,72
<i>S. matsudana</i>	S-099	4x	-	-	1,610
<i>S. pentandra</i>	PEN1	4x	-	-	1,722

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.	rel. 2C DNA (pg)
<i>S. pentandra</i>	PEN2	4x	-	-	1,71
<i>S. pentandra</i> S. cf. 'Serissima'	SER-LUC	4x	-	-	1,702
<i>S. pieroti</i>	PIE1	4x	1,636	0,005	-
<i>S. pieroti</i>	PIE3	4x	-	-	1,568
<i>S. pieroti</i>	S-1029-VZ	4x	-	-	1,6
<i>S. xrubens</i>	AxF1	4x	1,7	0,14	-
<i>S. xrubens</i>	AxF2	4x	-	-	1,71
<i>S. xrubens</i>	RUB1	4x	-	-	1,69
<i>S. xrubens</i>	V01	4x	-	-	1,632
<i>S. xrubens</i>	V06	4x	-	-	1,71
<i>S. xrubens</i>	V14	4x	-	-	1,682

Tab. č. 2: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u kulturních taxonů (druhů a kultivarů) a stanovení DNA-ploidní úrovně.

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.	rel. 2C DNA (pg)
<i>S. 'Argentinensis'</i>	S-0201	4x	1,713	0,012	-
<i>S. 'Bijdorpe'</i>	S-909	4x	-	-	1,587
<i>S. 'Blanda'</i>	BLA1	4x	1,692	0,004	-
<i>S. 'Blanda'</i>	BLA2	4x	1,701	0,001	-
<i>S. 'Blanda'</i>	BLA3	4x	-	-	1,548
<i>S. 'Blanda'</i>	BLA4	4x	-	-	1,618
<i>S. 'Crispa'</i>	BAB_ANN1	4x	1,606	0,005	-
<i>S. 'Dart's Snake'</i>	S-917	4x	-	-	1,596
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	ERY1	4x	1,632	0,009	-
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	ERY2	4x	-	-	1,642
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	ERY3	4x	-	-	1,559
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	ERY4	4x	-	-	1,569
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	ERY5	4x	-	-	1,569
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	V07	4x	-	-	1,637
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	V08	4x	-	-	1,626
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	V10	4x	-	-	1,642
<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	V13	4x	-	-	1,623

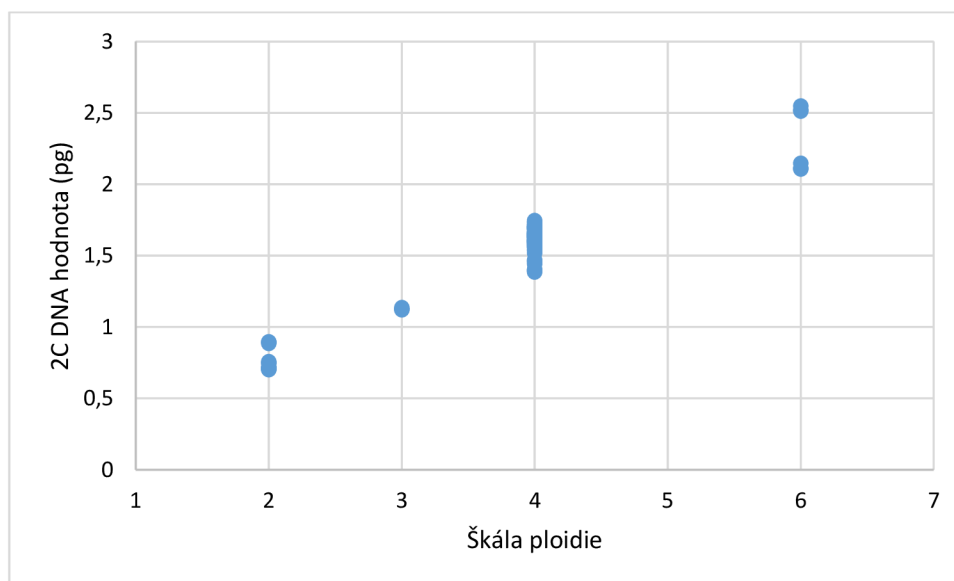
Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.	rel. 2C DNA (pg)
S. 'Chrysocoma'	CHRY1	4x	1,604	0,0	-
S. 'Chrysocoma'	CHRY2	4x	1,549	0,01	-
S. 'Chrysocoma'	CHRY3	4x	1,573	0,01	-
S. 'Chrysocoma'	CHRY4	4x	-	-	1,608
S. 'Chrysocoma'	CHRY5	4x	-	-	1,634
S. 'Chrysocoma'	CHRY8	4x	-	-	1,625
S. 'Chrysocoma'	V02	4x	-	-	1,606
S. 'Chrysocoma'	V03	4x	-	-	1,574
S. 'Chrysocoma'	V04	4x	-	-	1,577
S. 'Chrysocoma'	V12	4x	-	-	1,6
S. 'Oeresundiana'	OER1	4x	1,608	0,012	-
S. 'Oeresundiana'	S-927	4x	-	-	1,667
S. 'Pendula'	MAT3	4x	-	-	1,626
S. 'Pendula'	S-0887	4x	-	-	1,638
S. 'Salamonii'	S-0093	4x	1,658	0,003	-
S. 'Salamonii'	S-0454	4x	-	-	1,592
S. 'Seiko'	S-0899b	4x	-	-	1,592
S. 'Tortuosa'	MAT2	4x	-	-	1,616
S. 'Tristis'	CHRY6	4x	-	-	1,583
S. 'Tristis'	CHRY7	4x	-	-	1,590
S. 'Tristis'	N-II-125	4x	-	-	1,697
S. 'Tristis'	S-874	4x	-	-	1,606
S. 'Tristis'	TRS1	4x	-	-	1,635
S. 'Tristis'	VIT1	4x	-	-	1,766
S. 'Prairie Cascade'	PRA1	6x	2,124	0,018	-
S. 'Prairie Cascade'	S-1210	6x	-	-	2,347
S. 'Sacramento'	S-0943	6x	2,529	0,015	-

Tab. č. 3: Výsledky měření absolutní a relativní velikosti genomu u kříženců neznámého původu a stanovení DNA-ploidní úrovně.

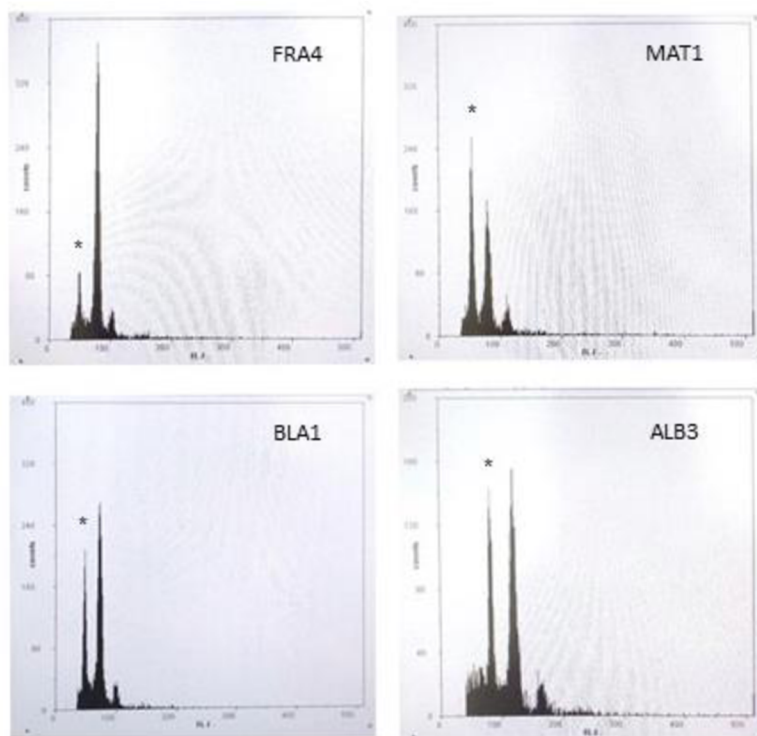
Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.	rel. 2C DNA (pg)
cf. <i>S. alba</i> × <i>S.</i> 'Chrysocoma'	H1	4x	1,579	0,01	-
cf. <i>S. alba</i> × <i>S.</i> 'Chrysocoma'	H2	4x	-	-	1,621
cf. <i>S. alba</i> × <i>S.</i> 'Chrysocoma'	H3	4x	-	-	1,604
<i>S. alba</i> × <i>S.</i> 'Chrysocoma'	CHRY9	4x	-	-	1,661
<i>S. alba</i> × <i>S.</i> 'Tortuosa'	MAT1	4x	1,641	0,008	-
<i>S.</i> cf. 'Tortuosa' × <i>S. alba</i> ?	S-1200-VZ	4x	-	-	1,617
<i>S.</i> cf. <i>fragilis</i> × <i>S.</i> 'Tortuosa'	S-1237	4x	-	-	1,709
<i>S.</i> cf. 'Wisconsin'	N-II-130	4x	-	-	1,602
<i>S.</i> 'Curly Obelisk'	ČIZ-01	4x	-	-	1,645

Obr. č. 28: Vztah absolutní velikosti genomu k ploidní úrovni

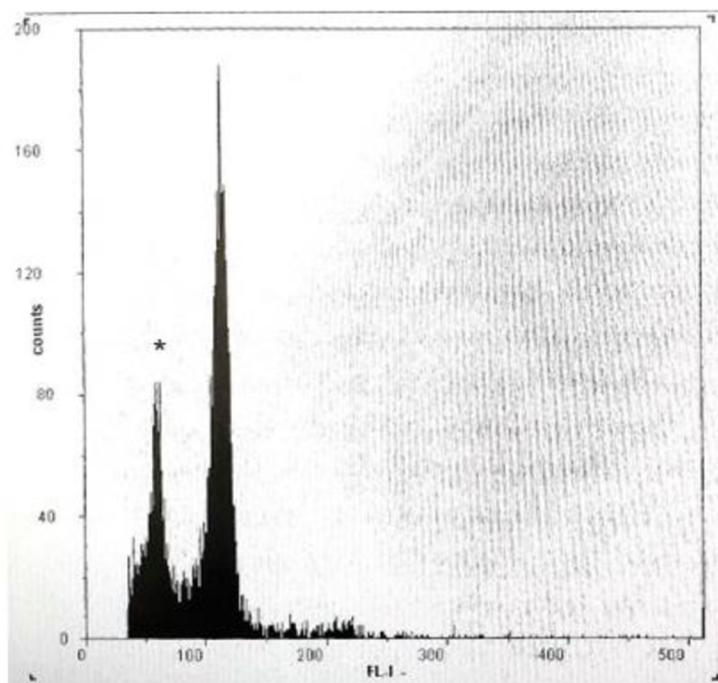
Graf zobrazuje vztah analyzované absolutní velikosti genomu s polyploidní úrovní a zároveň znázorňuje, že s rostoucí absolutní velikostí genomu narůstá i úroveň ploidie.



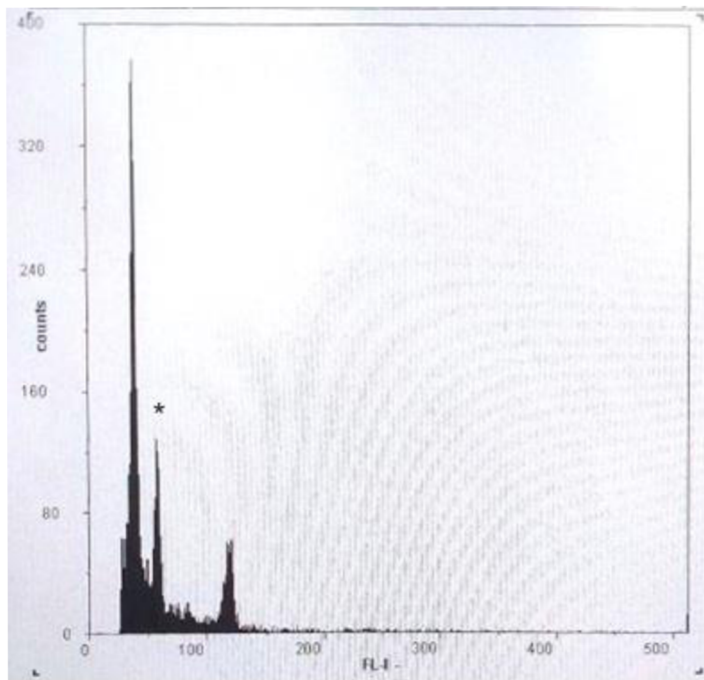
Obr. č. 29: Příklady grafických výstupů cytometrických analýz tetraploidních jedinců. Symbolem * jsou označeny píky vnitřních standardů. FRA4 (*S. fragilis*), MAT1 (*S. alba* × *S. 'Tortuosa'*), BLA1 (*S. 'Blanda'*), ALB3 (*S. alba*).



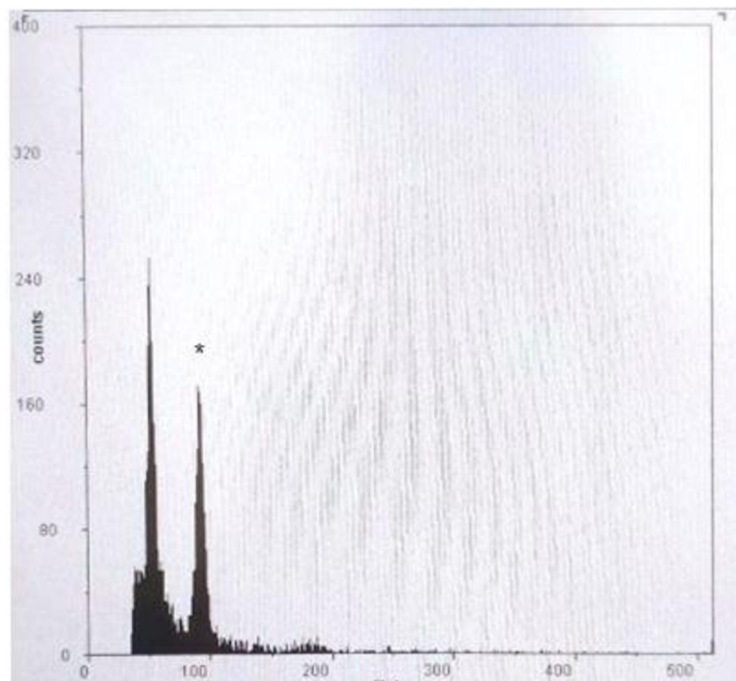
Obr. č. 30: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy hexaploidního jedince *S. 'Prairie Cascade'* (PRA1). Symbolem * jsou označeny píky vnitřních standardů.



Obr. č. 31: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy diploidního jedince *S. triandra* subsp. *triandra* (TRI_TRI1). Symbolem * jsou označeny píky vnitřních standardů.



Obr. č. 32: Příklad grafického výstupu cytometrické analýzy triploidního jedince *S. fragilis* × *S. triandra* (FRA3). Symbolem * jsou označeny píky vnitřních standardů.



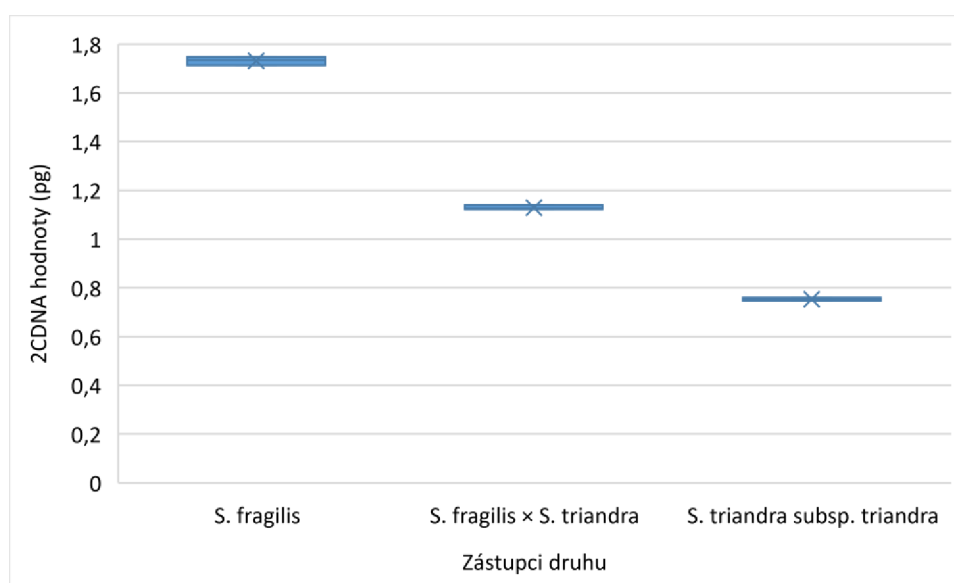
5.2 Porovnání ploidie a absolutní velikosti genomu u známých rodičovských druhů a jejich kříženců

Následující kapitola porovnává výsledky měření absolutní velikosti genomu u známých rodičovských druhů a jejich kříženců.

Tab. č. 4: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu *S. fragilis* x *S. triandra* a jeho rodičovských druhů.

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.
<i>S. fragilis</i>	FRA4	4x	1,732	0,014
<i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	TRI_TRI1	2x	0,753	0,005
<i>S. fragilis</i> x <i>triandra</i>	FRA3	3x	1,129	0,007

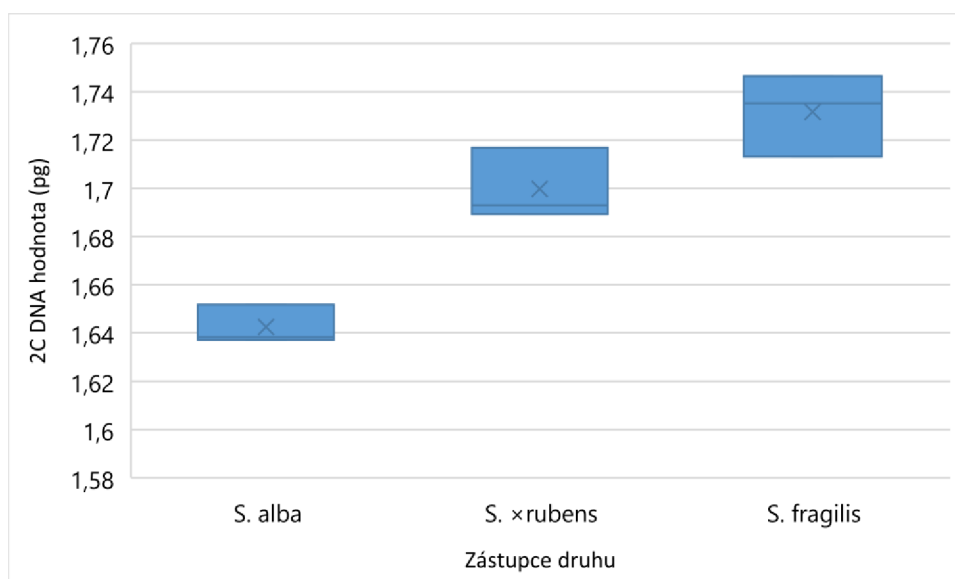
Obr. č. 33: Znárodnění hybridizace dvou rodičovských druhů *S. fragilis* × *S. triandra* subsp. *triandra*



Tab. č. 5: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu *S. ×rubens* a jeho rodičovských druhů.

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.
<i>S. alba</i>	ALB1	4x	1,644	0,007
<i>S. fragilis</i>	FRA4	4x	1,732	0,014
<i>S. ×rubens</i>	AxF1	4x	1,7	0,14

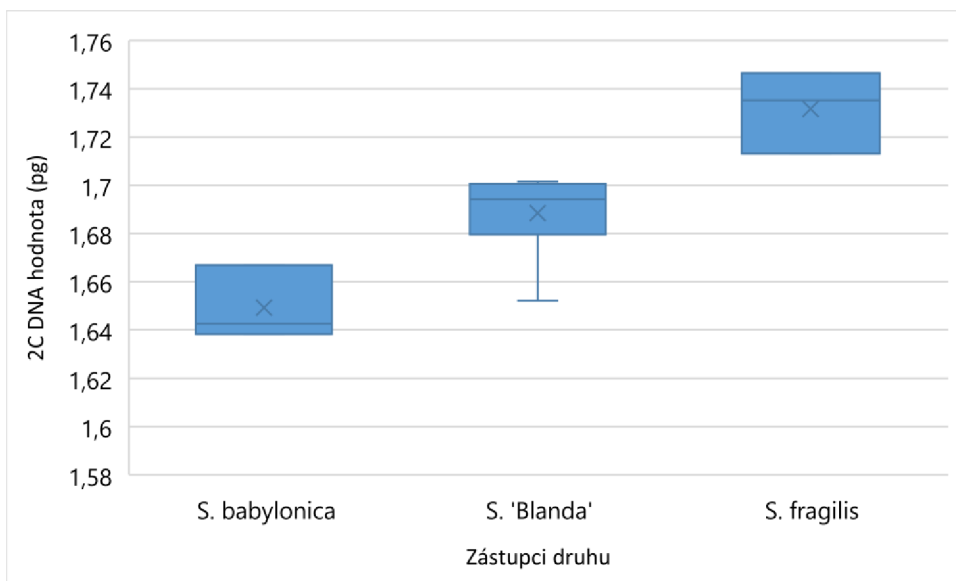
Obr. č. 34: Znázornění hybridizace dvou rodičovských druhů *S. alba* × *S. fragilis*



Tab. č. 6: Výsledky měření absolutní velikosti genomu hybridu *S.* 'Blanda' a jeho rodičovských druhů

Taxon	ID	Ploidní stupeň	2C DNA (pg)	s.d.
<i>S. babylonica</i>	THESS3	4x	1,649	0,013
<i>S. fragilis</i>	FRA4	4x	1,732	0,014
<i>S.</i> 'Blanda'	BLA1	4x	1,692	0,004
<i>S.</i> 'Blanda'	BLA2	4x	1,701	0,001

Obr. č. 35: Znázornění hybridizace dvou rodičovských druhů *S. babylonica* × *S. fragilis*



6 Diskuse

6.1 Variabilita ve velikosti genomu

Vašut et al. (2013) nebo Šimíček (2019) uvádějí, že majoritní část rodu *Salix* je diploidní a většina vrb dorůstající stromovité výšky a náležící do podrodu *Salix* je tetraploidní. Zároveň autoři uvádějí, že se vzácně objevují i vyšší DNA-ploidní úrovně, tzn. hexa-, octo- a decaploidní. Po získání výsledků předložené práce týkající se ploidie, vyšlo najevo, že u převážné většiny zkoumaných taxonů podrodu *Salix* se jedná o tetraploidy. Nové bylo zjištění hexaploidní ploidní úrovně, která byla naměřena u *S.* 'Prairie Cascade' a *S.* 'Sacramento', ale octo- a decaploidní úrovně zaznamenány nebyly.

Metodou průtokové cytometrie byla stanovena DNA-ploidní úroveň u všech analyzovaných vzorků. Povedlo se stanovit DNA-ploidní úroveň u všech čtyř druhů, které se v České republice nacházejí původně (Vašut et al, 2013). Konkrétně se u druhů *S. alba*, *S. fragilis* a *S. pentandra* jednalo o tetraploidní úroveň a u poddruhů *S. triandra* subsp. *triandra* a *S. triandra* subsp. *amygdalina* byla detekována diploidní úroveň. Dle autorů Dobeš et al. (1997) a Thinault (1998), kterým se podařilo shromáždit získaná data o počtu chromozomů, druhy *S. alba*, *S. fragilis* a *S. pentandra* mají chromozomové číslo $2n = 76$. Jelikož je v rámci studovaného druhu uváděno základní chromozomové číslo $x = 19$, příp. $x = 22$ (Blackburn et Harrison 1924, Vašut et al. 2013), u výše uvedených druhů se shodně jedná o tetraploidní úroveň. Dobeš et al. (1997) uvádějí informace o počtu chromozomů u poddruhů *S. triandra* subsp. *triandra* a *S. triandra* subsp. *amygdalina*, a to $2n = 38$ >>> diploidní úroveň. Mimo zmíněné taxony se v publikaci Dobeš et al. (1997) nacházejí údaje i o hybridních druzích *S. ×rubens* a *S. fragilis* × *S. triandra*, kříženci *S. fragilis* × *S. triandra* náleží chromozomové číslo $2n = 57$ >>> triploidní stupeň a u křížence *S. ×rubens* je uveden chromozomový počet $2n = 76$ >>> tetraploidní stupeň. Uvedené údaje se shodují se získanými údaji práce.

Po prostudování dostupné literatury vyšlo najevo, že u mnohých taxonů, náležících zejména do skupiny tzv. smutečných vrb dosud nebyly informace o počtu chromozomů nebo DNA-ploidním stupni uvedeny.

Dále byla u 30 vzorků stanovena absolutní velikost genomu. Dle *Plant DNA C-value Database* je u rodu *Salix* zmíněno 15 hodnot velikostí genomu, které náleží 15ti taxonům (Leicht et al. 2019). Z toho čtyři druhy byly analyzovány i v této předložené diplomové práci. Tři ze čtyř shodných taxonů, náleží k původním druhům České

republiky. Hodnoty absolutní velikosti genomu uvedené v databázi *Plant DNA C-value Database* viz. Tab. č. 8.

Tab. č. 7: Hodnoty absolutní velikosti genomu z databáze C-value DNA database a výsledky předložené práce (Leicht et al. 2019). (pozn. FC:PI – průtoková cytometrie:propidium jodid, FC:EB - ethidium bromid)

Taxon	ID	2C DNA (pg)	s.d.	Metoda	Autor
<i>S. alba</i>	-	1.65	-	FC:PI	Thibault 1998
<i>S. alba</i>	ALB1	1,64	0,007	FC:PI	tato studie
<i>S. babylonica</i>	-	1.53	-	FC:EB	Horjales et al. 2003
<i>S. babylonica</i>	THESS3	1,65	0,013	FC:PI	tato studie
<i>S. fragilis</i>	-	1.72	-	FC:PI	Thibault 1998
<i>S. fragilis</i>	FRA4	1,73	0,014	FC:PI	tato studie
<i>S. triandra</i>	-	0.79	-	FC:PI	Thibault 1998
<i>S. triandra subsp. triandra</i>	TRI_HOP1	0,71	0,007	FC:PI	tato studie

Po srovnání hodnot absolutní velikosti genomu uvedených v *Plant DNA C-value Database* a měřených hodnot této studie bylo zjištěno, že hodnoty u druhů *S. alba*, *S. fragilis* a *S. triandra* se víceméně shodují, zatímco hodnoty u druhu *S. babylonica* se liší o $\pm 0,12$ pg. Mírně odlišné výsledky absolutní velikosti genomu u *S. babylonica* mohou být způsobené díky odlišné metodice měření. Zatímco získaná hodnota $2C = 1,65$ pg byla stanovena metodou průtokové cytometrie za použití fluorescenčního interkalačního činidla propidium jodid a standartu *Raphanus sativus* L. 'Saxa' ($2C = 1.11$ pg), tak publikovaná hodnota $2C = 1,53$ pg (Horjales et al. 2003) byla analyzována metodou průtokové cytometrie, při které bylo použito odlišné fluorescenční barvivo ethidium bromid a standard *Petunia hybrida* ($2C = 2,73$ pg) (White et Rees 1987).

Dle výsledků měření předložené diplomové práce byla zjištěna nejnížší absolutní velikost genomu $2C = 0,711$ pg u diploidního poddruhu *S. triandra subsp. triandra* a naopak nejvyšší velikost genomu byla u hexaploidního kultivaru *S. 'Sacramento'* $2C = 2,529$ pg. Autorů, kteří se zabývali stanovením absolutní velikosti genomu není mnoho, a tak není možné zjistit údaje o velikosti genomu všech zkoumaných druhů, kříženců nebo kultivarů. Například dle *Plant DNA C-value Database* se rozmezí absolutní velikosti genomu u rodu *Salix* pohybuje od $2C = 0,70$ pg u druhu *S. elegantissima*

(Olszewska et Osiecka 1984) do $2C = 1,72$ pg u druhu *S. fragilis* (Thibault 1998) nebo dle Zhang et al. (2021) se rozmezí velikosti genomu u rodu *Salix* pohybuje od $2C = 0,72$ pg do $2C = 1,72$ pg. Tato data náleží celému rodu *Salix* a nejsou specifikované na podrod *Salix*, kterému se předložená práce věnuje.

Zajímavé bylo zjištění hexaploidních taxonů, která je dle dostupné literatury známá jen u druhů *S. nigricans* Sm. nebo *S. phylicifolia* L. (Vašut et al. 2013, Šimíček 2019). Nejpravděpodobnější vznik je přes triploidního křížence, který byl zjištěn například u *S. fragilis* a spontánní nebo umělou polyploidizací vznikl hexaploid.

6.2 Vznik hexaploidního druhu *S. 'Prairie Cascade'*

Kultivar amerického původu *S. 'Prairie Cascade'* vykazuje znaky skupiny smutečních vrby, avšak rodičovské druhy ani případná příbuznost se *S. babylonica* není dosud objasněna (Remphrey et Pearn 2006).

Zatímco Dirr (2009) jako případné rodičovské druhy uvádí *S. pentandra* × *S. ×pendulina* 'Blanda', tak Remphrey et Pearn (2006) uvádějí *S. pentandra* × *S. alba* 'Tristis' (Remphrey et Pearn 2006). Naopak Kuzovkina (2015) zmiňuje, že kultivar by mohl být výsledkem zkřížení *S. alba* × *S. babylonica* × (*S. fragilis* × *S. pentandra*). V tomto případě by charakteristický vzpřímený habitus mohl být původem od *S. alba* nebo *S. pentandra*. Zároveň by od druhu *S. pentandra* mohla získat lesklé zelené listy a odolnost proti mrazíkům. A v neposlední řadě je možné, že převislé větve by mohly být získány od druhu *S. babylonica*. Remphrey et Pearn (2006) přitom uvádí, že druhy jako *S. alba*, *S. babylonica* a *S. alba* 'Tristis' patří k hojně pěstovaným druhům v Severní Americe, zatímco *S. pentandra* se v kultivaci objevuje velmi zřídka (Kuzovkina 2015).

Jelikož z výsledků předložené studie vyplývá, že DNA-ploidní úroveň kultivaru *S. 'Prairie Cascade'* je hexaploidní. U výše uvedených hypotetických rodičovských druhů byla analyzována DNA-ploidní úroveň a z výsledků vyplývá, že u všech případných rodičovských druhů se jedná o tetraploidní úroveň.

Z tohoto důvodu je možné, že se jedná o kultivar vzniklý zpětným zkřížením.

Více dostupné literatury, která by se zabývala vznikem kultivaru *S. 'Prairie Cascade'* nebyla nalezena.

7 Závěr

Předložená práce se zabývala stanovením DNA-ploidní úrovně a velikost genomu u vybraných taxonů podrodu *Salix*. Výběr taxonů byl zaměřen především na vrby náležící do skupiny tzv. smutečných vrb. K dosažení stanovených cílů byla použita metoda průtokové cytometrie. Zároveň měla studie odhalit, zda metoda průtokové cytometrie a případné rozdíly ve velikosti genomu u hypotetických rodičovských druhů mohou přispět pro případné pochopení původu pěstovaných kultivarů.

Celkem bylo analyzováno 97 vzorků. Majoritní část vzorků pocházela z území České republiky, 3 vzorky se podařilo získat z Řecka a 2 vzorky z ostrova Rhodos. Po zhodnocení analyzovaných DNA-ploidních úrovní, lze konstatovat, že polyploidizace u taxonů podrodu *Salix*, je hojná. Zároveň ale bylo zjištěno, že cytotypová variabilita u studovaných taxonů je nízká. U převážné části vzorků byla stanovena tetraploidní úroveň. Dále byla analyzována i diploidní úroveň u poddruhu *S. triandra* subsp. *triandra*, *S. triandra* subsp. *amygdalina* a u druhu *S. pseudopentandra*. Jediným potvrzeným triploidním taxonem byl kříženec *S. fragilis* × *S. triandra*. Poslední zjištěná DNA-ploidní úroveň byla stanovena u kultivarů *S. 'Prairie Cascade'* a *S. 'Sacramento'* a jednalo se o hexaploidní úroveň.

Při stanovení relativní i absolutní velikosti genomu bylo odhaleno, že se velikost genomu u hypotetických rodičovských druhů téměř neodlišuje. A zároveň nebyly u majoritní části všech analyzovaných vzorků nalezeny velké rozdíly. Od ostatních vzorků se nejvíce lišila absolutní velikost genomu u taxonů *S. fragilis* × *S. triandra*, *S. triandra* subsp. *triandra*, *S. triandra* subsp. *amygdalina*, *S. pseudopentandra*, *S. 'Prairie Cascade'* a *S. 'Sacramento'*. Všechny vzorky, které byly podrobeny analýze relativní velikosti genomu, vykazovaly nízkou variabilitu mezi získanými hodnotami.

Je tedy nutné konstatovat, že využitá metoda průtokové cytometrie není sama o sobě vhodná pro detekci hypotetických rodičovských druhů. Vhodnější je využití metody průtokové cytometrie s dalšími metodami například morfologií nebo molekulární analýzou.

8 Literatura

- Ali S. I. (2001): *Salicaceae*. – In: Ali S.I. & Qaiser M. [eds]: Flora of Pakistan. Vol. 203, Department of Botany, University of Karachi, Karachi & Missouri Botanical Garden, St. Louis: 1–63.
- Alix K., Gérard, P. R., Schwarzacher, T. & Heslop-Harrison, J. S. (2017): Polyploidy and interspecific hybridization: partners for adaptation, speciation and evolution in plants. – *Annals of Botany*, 120(2): 183–194.
- Argus G. (1997): Infrageneric Classification of *Salix* (*Salicaceae*) in the New World. – *Systematic Botany Monographs*, 52: 121.
- Argus G. W., Eckenwalder J. E. & Kiger R. W. (2010): *Salicaceae*. – In: Flora of North America Editorial Committee, Flora of Northern America North of Mexico 7: *Salicaceae* – *Brassicaceae*, New York: 3–164.
- Baker M. L. (2009): The willows (*Salix*–*Salicaceae*) in Tasmania. – *Muelleria*, 27(2): 127–148.
- Bělohlávková R., Hroudá L. & Kubát K. (2002): Klíč ke květeně České republiky. – Academia, Praha
- Belyaeva I. V. (2009): Nomenclature of *Salix fragilis* L. and a new species, *S. euxina* (*Salicaceae*). – *Taxon*, 58(4): 1344–1348.
- Belyaeva I. V., Epantchintseva O. V., Govaerts R. H. A., McGinn K., Hunnux J. & Kuzovkina Y. A. (2018): The application of scientific names to plants in cultivation: *Salix vitellina* L. and related taxa (*Salicaceae*). – *Skvortsovia*, 4(2): 42–70.
- Bennett M. D. & Leitch I. J. (2005): Plant Genome Size Research: A Field In Focus. – *Annals of Botany*, 95(1): 1–6.
- Bennett M. D. & Smith J. B. (1991): Nuclear DNA amounts in angiosperms. – *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 309–345.
- Bennett M. D. (1972): Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. – *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 181(1063): 109–135.
- Bernal R., Gradstein S. R. & Celis M. (2015): Catálogo de plantas y líquenes de Colombia. – Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Birchler J. A. (2009): Ploidy Variation in Plants. – In eLS. John Wiley & Sons, Ltd.
- Blackburn K. B. & Harrison J. W. H. (1924): A preliminary account of the chromosomes and chromosome behaviour in the *Salicaceae*. – *Annals of Botany*, 38(150): 361–378.

- Boorstin D. J. (1997): Člověk objevitel: jak člověk objevoval svět a sebe sama. – Prostor.
- Briggs D. & Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – Univerzita Palackého, Olomouc.
- Cronquist A. & Takhtadzhian A. L. (1981): An integrated system of classification of flowering plants. – Columbia university press.
- Dasgupta S. (2016): How many plant species are there in the world? Scientists now have an answer. – Mongabay, News and Inspiration from Nature's Frontline.
- Dickmann D. I. & Kuzovkina J. (2014): Poplars and willows of the world, with emphasis on silviculturally important species. – Poplars and Willows: Trees for Society and the Environment, 22(8).
- Dickmann D. I. (2006): Silviculture and biology of short-rotation woody crops in temperate regions: Then and now. – Biomass and Bioenergy, 30(8–9): 696–705.
- Dirr M. A. (2009): Manual of woody landscape plants: their identification, ornamental characteristics, culture, propagation and uses – Stipes Publishing L.L.C, 6.
- Doležel J., Bartoš J., Voglmayr H. & Greilhuber, J. (2003): Nuclear DNA content and Genome Size of Trout and Human. – Cytometry. Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology, 51: 127–128
- Doležel J., Greilhuber J. & Suda J. (2007): Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. – Nature protocols, 2(9): 2233-2244.
- Doležel J., Sgorbati S. & Lucretti S. (1992): Comparison of three DNA fluorochromes for flow-cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. – Physiol. Plantarum 85: 625–631.
- Doležel J., Sgorbati S. & Lucretti S. (1992): Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. – Physiologia Plantarum, 85(4): 625–631.
- Doležel J., Vrána J., Šafář J., Bartoš J., Kubaláková M. & Šimková H. (2012): Chromosomes in the flow to simplify genome analysis. – Functional & Integrative Genomics, 12(3): 397–416.
- Fang Z., Zhao S. & Skvortsov A. K. (1999): *Salix* L. – In: Wu Z. Y. & Raven P. H. (eds), Flora of China 4: 162–274, Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Fleischmann A., Michael T. P., Rivadavia F., Sousa A., Wang W., Temsch E. M., Greilhuber J., Müller K. F. & Heubl G. (2014): Evolution of genome size and chromosome number

- in the carnivorous plant genus *Genlisea* (*Lentibulariaceae*), with a new estimate of the minimum genome size in angiosperms. – *Annals of Botany*, 114(8): 1651–1663.
- Gregory T. R., Nicol J. A., Tamm H., Kullman B., Kullman K., Leitch I. J., Murray B. G., Kapraun D. F., Greilhuber J. & Bennett, M. D. (2007): Eukaryotic genome size databases. – *Nucleic Acids Research*, 35.
- Greilhuber J. & Leitch I. J. (2013): Genome size and the phenotype. – In: *Plant Genome Diversity*, 2: 323–344. Springer, Vienna.
- Greilhuber J., Doležal J., Lysák M. A. & Bennett M. D. (2005): The origin, evolution and proposed stabilization of the terms ‘genome size’ and ‘C-value’ to describe nuclear DNA contents. – *Annals of botany*, 95(1): 255–260.
- Greiner S. & Bock, R. (2013): Tuning a ménage à trois: co-evolution and co-adaptation of nuclear and organellar genomes in plants. – *BioEssays*, 35(4): 354–365.
- Grierson A. J. C. & Long D. G. (1983): *Salicaceae, Salix*. – In: *Flora of Bhutan*. Royal Botanic Garden, Edinburgh Press, Edinburgh, 62–70.
- Gromova O. P. & Gorelov O. M. (2014): The decorative willows of MM Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine, their pests and measures of protection. – *Plant Introduction*, 63: 80–84.
- Heinrich M. K., von Mammen S., Hofstadler D. N., Wahby M., Zahadat P., Skrzypczak T., Soorati M. D., Krela R., Kwiatkowski W., Schmickl T., Ayres P., Stoy K. & Hamann H. (2019): Constructing living buildings: A review of relevant technologies for a novel application of biohybrid robotics. – In: *Journal of the Royal Society Interface*, 16(156). Royal Society Publishing.
- Horáček P. (2019): *Encyklopedie listnatých stromů a keřů*. – Cpress.
- Horjales L. M., Redondo Á. N., Blanco A. & Rodríguez M. A. (2003): Cantidades de DNA nuclear en árboles y arbustos. – *Nova Acta Científica Compostelana (Biología)* 13: 23–33
- Chang C. S. & Kim H. (2015): *The Woody Plants of Korea*. – Beta Version.
- Chase M. W., Christenhusz M. J. M, Fay M. F., Byng J. W., Judd W. S., Soltis D. E., Mabberley D. J., Sennikov A. N., Soltis P. S. & Stevens P. F. [The Angiosperm Phylogeny Group] (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: 1–20.

- Chen J. H., Sun H., Wen J. & Yang Y. P. (2010): Molecular phylogeny of *Salix* L. (*Salicaceae*) inferred from three chloroplast datasets and its systematic implications. – *Taxon* 59: 29–37.
- Chen R., Feng Z., Zhang X., Song Z. & Cai D. (2021): A new way of rice breeding: Polyploid rice breeding. – *Plants*, 10(3): 422.
- Chmelař J. & Koblížek, J. (1985): Příspěvek k určování československých vrby. – *Zprávy Československé Botanické Společnosti*, 20(2): 81–102.
- Chmelař J. & Koblížek J. (1990): 65. *Salicaceae* Mirbel – vrbovité. – In: Hejný S., Slavík B., Hrouda L. & Skalický V. (eds), *Květena České republiky 2*: 458–495, Academia, Praha.
- Chmelař J. (1983): *Dendrologie s ekologií lesních dřevin. 2. část: Hospodářsky významné listnáče.* – SPN.
- Chmelař J. (1984): Weeping willows. – *Int. Dendrol. Society Year Book*, 1983, 107–110.
- Choate H. A. (1912): The origin and development of the binomial system of nomenclature. – *Christenhusz M. J. M. & Byng J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase.* – *Phytotaxa*, 261(3): 201–217.
- Chytrý M., Danihelka J., Kaplan Z., Wild J., Holubova D., Novotný P., Řezníčková M., Rohn M., Dřevojan P. & Grulich, V. (2021): *Pladias database of the Czech flora and vegetation.*
- Jepson W. L. (1993): *The Jepson manual: higher plants of California.* – University of California Press.
- Johnson M. A. T., Kenton A. Y., Bennett M. D. & Brandham, P. E. (1989): *Voanioala gerardii* has the highest known chromosome number in the monocotyledons. – *Genome*, 32(2): 328–333.
- Koblížek J. (2006): *Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků: Klíč.* – Nakladatelství Sursum.
- Koblížek J. (2008): *Smuteční vrby pěstované v České republice.* – In: *Zborník referátov z medzinárodnej vedeckej konferencie: „Dendrologické dni v Arboréte Mlyňany SAV“*, 15.-16.10.2008. Vieska nad Žitavou: Arborétum Mlyňany SAV. 125–128.
- Kohout P. (2010): *Rychle rostoucí dřeviny v energetice: (topoly a vrby): [odborná monografie]. 1.* – Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, České Budějovice.
- Kováčik A. (1983): *Genetika rostlin.* – Zemědělské nakladatelství.

- Krahulcová A. (1998): Karyologie cévnatých rostlin při aplikaci metod klasického barvení chromosomů. – Ms., Průhonice. [Příručka Praktických Cvičení pro Posluchače Katedry Botaniky PřF UK].
- Kron P., Suda J. & Husband B. C. (2007): Applications of flow cytometry to evolutionary and population biology. – *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 38: 847-876.
- Krüssmann G. (1986): *Manual of cultivated broad-leaved trees and shrubs.* – Timber Press. 3.
- Kuzovkina Y. A. (2015): Compilation of the checklist for cultivars of *Salix* L. (Willow). – *HortScience*, 50(11): 1608–1609.
- Leitch I. J., Johnston E., Pellicer J., Hidalgo O., Bennett M. D. (2019): Plant DNA C-values database (release 7.1, Apr 2019) <https://cvalues.science.kew.org/>.
- Linnaeus C. (1753): *Species Plantarum.* – Laurentius Salvius, Stockholm.
- Liotta J. (2001): Rasgos biológicos de *Salix humboldtiana* Willd. y régimen de pulsos de inundación. – *Interciencia*, 26(9): 397–403.
- López H., Miranda E., Datri L., Faggi A. & Gallo, L. (2021): Presencia de *Salix ×argentinensis* Ragonese & Rial Alberti (*Salicaceae*) en la provincia de neuquén y caracterización comparativa de sus parentales.
- Mable B. K. (2004): ‘Why polyploidy is rarer in animals than in plants’: myths and mechanisms. – *Biological Journal of the Linnean Society*, 82(4): 453-466.
- Marchenko A. & Kuzovkina Y. (2022): Notes on the nomenclature and taxonomy of *Salix fragilis* (Salicaceae). – *Taxon*.
- McKinnon K. M. (2018): Flow cytometry: an overview. – *Current protocols in immunology*, 120(1): 5-1.
- Muller H. J. (1925): Why Polyploidy is Rarer in Animals Than in Plants. – *The American Naturalist*, 59(663): 346–353.
- Musi, I., & Möllerová J. (2005): Listnaté dřeviny. – *Lesnická Dendrologie*, 2.
- Musil I. & Hamerník J. (2003): Dendrologické srovnávací tabulky: pomůcka pro určování dřevin: sylabus vybraných druhů v rámci systému rostlin: přehled vegetačních stupňů a.v. FGO ČR: (lesnická dendrologie 4). – Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a environmentální, Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin. 3.
- Myklestad A. & Birks H. J. B. (1993): A numerical analysis of the distribution patterns of *Salix* L. species in Europe. – *Journal of Biogeography*, 1–32.
- Novák F. A. (1961): Vyšší rostliny: Tracheophyta. – Nakladatelství Československé akademie věd.

- Novák J. & Skalický M. (2017): Botanika: cytologie, histologie, organologie a systematika. – Powerprint.
- Olszewska M. J. & Osiecka R. (1984): The relationship between 2 C DNA content, systematic position, and the level of nuclear DNA endoreplication during differentiation of root parenchyma in some dicotyledonous shrubs and trees. comparison with Herbaceous species. – *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 179(8): 641-657.
- Ormerod M. G. & Imrie P. R. (1990): Flow Cytometry. – *Animal Cell Culture*, 543–558.
- Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R. & Simons A. (2009): Agroforestree Database: a tree reference and selection guide. – *Agroforestree Database: A Tree Reference and Selection Guide*. 4.
- Panawala L. (2017): Difference Between Aneuploidy and Polyploidy.
- Paton A., Brummitt N., Govaerts R., Harman K., Hinchcliffe S., Allkin R., Lughadha E. N. & Puentes F. (2008): Towards Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation: A working list of all known plant species – progress and prospects. – *Taxon*, 57: 602–611.
- Pellicer J., Fay M. F. & Leitch I. J. (2010): The largest eukaryotic genome of them all? – *Botanical Journal of the Linnean Society* 164: 10–15.
- Raj S., Solomon P. & Thangaraj B. (2022). *Salicaceae*. – In: *Biodiesel from Flowering Plants*, 491–494. Springer, Singapore.
- Remphrey W. R. & Pearn L. P. (2006): Crown architecture development in *Salix* ‘Prairie Cascade’, a pendulous willow. – *Botany*, 84(10): 1531-1541.
- Rottenberg A. (2007): Fertility and sexual structure in a polygamous willow population. – *Plant Systematics and Evolution*, 268(1): 257–260.
- Santamour Jr., F. S & McArdle, A. J. (1988): Cultivars of *Salix babylonica* and other Weeping Willows. – *Journal of Arboriculture (USA)* 14(7): 180-184.
- Sattle, M. C., Carvalho C. R. & Clarindo W. R. (2016): The polyploidy and its key role in plant breeding. – *Planta*, 243(2): 281–296.
- Shapiro H. M. (2005): *Practical flow cytometry*. – John Wiley & Sons.
- Simpson M. G. (2010): *Evolution and diversity of vascular plants*. – Academic Press: Burlington, MA, USA, 73–128.
- Sliwiska E. (2018): Flow cytometry – a modern method for exploring genome size and nuclear DNA synthesis in horticultural and medicinal plant species. – *Folia Horticulturae*, 30(1), 103–128.
- Stace C. A. (2000): Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. – *Taxon*, 49(3): 451–477.

- Stebbins G. L. (1985): Polyploidy, hybridization, and the invasion of new habitats. – *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 824-832.
- Suda J. (2005). Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. *Živa*, 53(1): 46–48.
- Suda J., Krahulcová A., Trávníček P., Krahulec F. (2006): Ploidy level versus DNA ploidy level: An appeal for consistent terminology. – *Taxon*, 55: 447–450.
- Šimíček V. (2019): Vrby. – Nadační fond prof. Augusta Bayera.
- Šmarda P., Knápek O., Březinová A., Horová L., Grulich V., Danihelka J., Veselý P., Šmerda J., Rotreklová O. & Bureš P. (2019): Genome sizes and genomic guanine+cytosine (GC) contents of the Czech vascular flora with new estimates for 1700 species. – *Preslia*, 91(2): 117–142.
- Šmarda P., Veselý P., Šmerda J., Bureš P., Knápek O. & Chytrá M. (2016): Polyploidy in a ‘living fossil’ *Ginkgo biloba*. – *New Phytologist*, 212(1): 11-14.
- The Plant World*, 15(11): 257-263.
- Thibault J. (1998): Nuclear DNA amount in pure species and hybrid willows (*Salix*): a flow cytometric investigation. – *Canadian Journal of Botany*, 76(1): 157-165.
- Úradníček L., Maděra P., Tichá & S. Koblížek J. (2009): Dřeviny České republiky. – Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 2: 367.
- Vašut R. J. (2019): 99. *Salicaceae* Mirb. – vrbovité. – In: Kaplan Z. [ed.], Klíč ke Květeně České republiky, 564-580. Academia, Praha.
- Vašut R. J., Sochor M. & Hroneš, M. (2013): Vrby české republiky. – Univerzita Palackého v Olomouci.
- Větvička V. (2004): Evropské stromy. – Aventinum.
- Weiss-Schneeweiss H., Emadzade K., Jang T. S. & Schneeweiss G. M. (2013): Evolutionary consequences, constraints and potential of polyploidy in plants. – *Cytogenetic and Genome Research*, 140(2–4): 137–150.
- White J. & Rees H. (1987): Chromosome weights and measures in *Petunia*. – *Heredity*, 58(1): 139–143.
- Wu J., Nyman T., Wang D. C., Argus G. W., Yang Y. P. & Che J. H. (2015): Phylogeny of *Salix* subgenus *Salix* s.l. (*Salicaceae*): delimitation, biogeography, and reticulate evolution. – *BMC evolutionary biology*, 15(1): 1-13.
- Zhang Z. S., Zeng, Q. Y. & Liu Y. J. (2021): Frequent ploidy changes in *Salicaceae* indicates widespread sharing of the salicoid whole genome duplication by the relatives of *Populus* L. and *Salix* L. – *BMC plant biology*, 21(1): 1-17.

Přílohy

1 Přehled analyzovaných vzorků

1.1 Přírodní taxony (druhy a kříženci)

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
ALB1	<i>S. alba</i>	CZ	Olomouc , městská část Nové Sady: veřejná zeleň na ulici Zikova, před domem č.p. 607/12	49°34'39.571"N, 17°15'16.411"E
ALB2	<i>S. alba</i>	CZ	Olomouc , městská část Nový Svět: břehové porosty na levém břehu řeky Moravy (a blízkého slepého ramene), asi 3,5 km JJV od kostela sv. Mořice v centru města	49°33'55.468"N, 17°16'3.835"E
ALB3	<i>S. alba</i>	CZ	Starý Bohumín (Bohumín) – meandry řeky Odry, ca. 1,5 km SV (48°) od kostela Narození Panny Marie v centru	49°55'46.491"N, 18°20'46.698"E
V05	<i>S. alba</i>	CZ	Křčmaň – pískovna, podél cesty na pravé straně ve směru na Křčmaň	49°31'05.5"N, 17°19'21.2"E
BAB2	<i>S. babylonica</i>	CZ	Bystrovany (Olomouc): při okraji areálu bývalého arboreta Horizont, přesah do ul. Droždínská, ca. 380 m S (3°) od kaple sv. Bartoloměje	49°35'58.621"N, 17°19'26.714"E
BAB4	<i>S. babylonica</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'45.980"N, 16°36'52.716"E
S-1018	<i>S. babylonica</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [přestováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-899-V7	<i>S. babylonica</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [přestováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
THESS1	<i>S. babylonica</i>	GR	Greece, Thessaloniki (Θεσσαλονίκη), public greenery in courtyard at the Defkalionos street (coll. Niki Iakovidou & Dimitrios Iakovidou)	40°30'35.4"N, 22°55'60.0"E
THESS2	<i>S. babylonica</i>	GR	Greece, Thessaloniki (Θεσσαλονίκη), public greenery at the Evripidou street (coll. Niki Iakovidou & Dimitrios Iakovidou)	40°30'34.5"N, 22°55'53.2"E
THESS3	<i>S. babylonica</i>	GR	Greece, Thessaloniki (Θεσσαλονίκη), public greenery in courtyard at the Defkalionos street (coll. Niki Iakovidou & Dimitrios Iakovidou)	40°30'35.4"N, 22°55'60.0"E
BAB1	<i>S. cf. babylonica</i>	CZ	Lednice – zámecký park, na JV břehu Zámeckého rybníka, ca. 770 m JJZ (191°) od Minaretu	48°48'26.558"N, 16°48'38.478"E
H4	<i>S. cf. fragilis</i> × <i>S. pentandra</i>	CZ	Vikantice : zarůstající louka při S okraji obce, asi 0,8 km SV (39°) od kostela sv. Wolfganga, 640 m n.m.	50°8'32.605"N, 17°0'2.075"E

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
EXC2	<i>S. excelsa</i>	CZ	Průhonice: Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "Vlasačka (S-III), ID S-III-20	50°0'59.885"N, 14°33'46.444"E
S-0884	<i>S. excelsa</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
FRA1	<i>S. fragilis</i>	CZ	Žichlínek , u polní cesty při levém břehu Moravské Sázavy, ca. 1,8 km JVJ (165°) od kostela Narození sv. Jana Křtitele v centru obce	49°51'57.433"N, 16°38'37.654"E
FRA4	<i>S. fragilis</i>	CZ	Olomouc , městská část Nový Svět: břehové porosty na levém břehu řeky Moravy (a blízkého slepého ramene), asi 3,5 km JJV od kostela sv. Mořice v centru města	49°33'55.468"N, 17°16'3.835"E
FRA-TRI	<i>S. fragilis</i>	CZ	Žichlínek , u polní cesty při levém břehu Moravské Sázavy, ca. 1,8 km JVJ (165°) od kostela Narození sv. Jana Křtitele v centru obce	49°51'58.255"N, 16°38'38.089"E
V11	<i>S. fragilis</i>	CZ	Přáslavice – podél silnice na levé straně ve směru na Svěsedlice	49°34'38.5"N, 17°22'45.1"E
FRA3	<i>S. fragilis</i> × <i>S. triandra</i>	CZ	Horní Bečva – přehrada: u mostku na břehu potoka Prostá, ca. 3 km JV od kostela sv. Jana a Pavla mučedníků v centru obce (125°)	49°25'0.639"N, 18°19'9.823"E
BAB3	<i>S. humboldtiana</i>	GR	Greece, Rhodes (Ρόδος), distr. Petaloudes (Πεταλούδες), Kremasti (Κρεμαστή): street greenery on the Eleftherias Avenue, near the Canton restaurant	36°24'53.403"N, 28°8'1.079"E
EXC1	<i>S. humboldtiana</i>	GR	Greece, Rhodes (Ρόδος), distr. Petaloudes (Πεταλούδες), Kremasti (Κρεμαστή): near bridge over seasonal stream, 2 km S from the Theotokos church in centre of town	36°23'35.990"N, 28°7'22.445"E
LUC1	<i>S. lucida</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
LUC2	<i>S. lucida</i>	CZ	Průhonice: experimentální zahrada VÚKOZ, areál VÚKOZ (Ing. J. Weger)	49°59'59.942"N, 14°33'44.810"E
LUC3	<i>S. lucida</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-099	<i>S. 'Pendula'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PřF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
PEN1	<i>S. pentandra</i>	CZ	Vikantice: podél potoka Staříč v louce mezi obcemi Vikantice a Šléglov, ca. 1 km SZ od kostela sv. Wolfganga v centru obce	50°8'39.499"N, 16°59'10.705"E
PEN2	<i>S. pentandra</i>	CZ	Vikantice: u silnice v obci, asi 400 m SVS (39°) od kostela sv. Wolfganga	50°8'22.601"N, 16°59'52.125"E
SER-LUC	<i>S. pentandra</i> agg. <i>S. cf. serissima</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
PIE1	<i>S. pierotii</i>	CZ	Průhonice: Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "Vrboviště (C-I), nejtypičtější strom bez ID	50°0'33.607"N, 14°34'0.489"E
PIE3	<i>S. pierotii</i>	CZ	Průhonice: Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "Vrboviště (C-I), zastíněný strom – ID: C-I-152	50°0'33.607"N, 14°34'0.489"E
S-1029-VZ	<i>S. pierotii</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
AxF1	<i>S. xrubens</i>	CZ	Olomouc, městská část Nový Svět: břehové porosty na levém břehu řeky Moravy (a blízkého slepého ramene), asi 3,5 km JJV od kostela sv. Mořice v centru města	49°33'55.468"N, 17°16'3.835"E
AxF2	<i>S. xrubens</i>	CZ	Olomouc, městská část Nový Svět: břehové porosty na levém břehu řeky Moravy (a blízkého slepého ramene), asi 3,5 km JJV od kostela sv. Mořice v centru města	49°33'55.468"N, 17°16'3.835"E
RUB1	<i>S. xrubens</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: starší strom v zarůstající (jižní) části brownfieldu na Švýcarském nábřeží	49°34'58.181"N, 17°15'35.725"E
V01	<i>S. xrubens</i>	CZ	Olomouc – ulice Holická, podél silnice na pravé straně ve směru do centra	49°34'46.8"N, 17°17'13.8"E
V06	<i>S. xrubens</i>	CZ	Krčmaň – u rybníčku, silnice D55 směrem na Olomouc	49°31'28.4"N, 17°20'30.7"E
V14	<i>S. xrubens</i>	CZ	Přáslavice – u retenční nádrže v blízkosti dálnice D35	49°34'38.4"N, 17°23'08.2"E
TRI_ AMY1	<i>S. triandra</i> subsp. <i>amygdalina</i>	CZ	Starý Bohumín (Bohumín) – meandry řeky Odry, ca. 1,7 km SV (55°) od kostela Narození Panny Marie v centru	49°55'45.726"N, 18°20'59.975"E
TRI_ HOP1	<i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'51.724"N, 16°36'50.140"E
TRI_ TRI1	<i>S. triandra</i> subsp. <i>triandra</i>	CZ	Palačov: luh podél potoka Jasenka při SZ okraji obce, 290 m n. m.	49°33'12.237"N, 17°54'55.366"E

1.2 Kulturní taxony (druhy a kultivary)

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
S-0201	<i>S. 'Argentinensis'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-909	<i>S. 'Bijdorf'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
BLA1	<i>S. 'Blanda'</i>	CZ	Lednice – zámecký park, na V břehu 1. ostrova (od zámku), ca. 1,07 km JZJ (203°) od Minaretu	48°48'19.474"N, 16°48'24.888"E
BLA2	<i>S. 'Blanda'</i>	CZ	Lednice – na pravém břehu Zámecké Dyje před mostem poblíž hotelu, ca. 350 m ZSZ (293°) od kostela sv. Jakuba Staršího	48°48'9.458"N, 16°48'3.375"E
BLA3	<i>S. 'Blanda'</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'46.155"N, 16°36'54.616"E
BLA4	<i>S. 'Blanda'</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'47.813"N, 16°36'52.870"E
BAB_AN N1	<i>S. 'Crispa'</i>	CZ	Luleč : na ulici před domem č.p. 204, asi 250 m V od kostela sv. Isidora ve středu obce, 300 m n.m.	49°15'16.276"N, 16°55'39.619"E
S-917	<i>S. 'Dart's Snake'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
ERY1	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Starý Bohumín (Bohumín): strom vysazený na ul. Oderská, ca. 1,75 km SV (57°) od od kostela Narození Panny Marie v centru	49°55'44.448"N, 18°21'2.251"E
ERY2	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: veřejná zeleň na ul. Zikova, před domem č.p. 614/28;	49°34'39.123"N, 17°15'6.657"E
ERY3	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'48.195"N, 16°36'52.416"E
ERY4	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Brno – městská část Ponava: Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity	49°12'48.368"N, 16°36'52.291"E
ERY5	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Zlín – městská část Štípa: výsadba v areálu ZOO Zlín (Lešná)	49°16'34.374"N, 17°43'7.063"E
V07	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Velký Týnec – ulice Bystřická, podél potoka Týnečka	49°33'06.4"N, 17°19'43.3"E
V08	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Přáslavice – u zahrady domu č. 4	49°35'01.3"N, 17°22'45.0"E
V10	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Přáslavice – před domem č. 304	49°35'02.2"N, 17°22'44.5"E

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
V13	<i>S. 'Erythroflexuosa'</i>	CZ	Svéšedlice – u rybníčku	49°34'30.1"N, 17°22'59.8"E
CHRY1	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: starší strom v zarůstající (jižní) části brownfieldu na Švýcarském nábřeží	49°34'58.118"N, 17°15'36.275"E
CHRY2	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Lednice – zámecký park, V břeh Grottova ostrova v jeho zhruba střední části, ca. 740 m JZJ (213°) od Minaretu; pravděpodobně výmladky původně starého robustního stromu z 19. století	48°48'30.869"N, 16°48'25.933"E
CHRY3	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Luleč : vysazený strom u místního hřiště, asi 330 m SZ od kostela sv. Isidora v centru obce	49°15'26.757"N, 16°55'19.051"E
CHRY4	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Bystrovany (Olomouc): při okraji areálu bývalého arboreta Horizont, přesah do ul. Droždínská, ca. 380 m S (3°) od kaple sv. Bartoloměje	49°35'58.846"N, 17°19'26.772"E
CHRY5	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Čechy pod Kosířem : na břehu rybníka v zámeckém parku, při J okraji obce	49°32'47.663"N, 17°2'15.136"E
CHRY8	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Horní Suchá : v parku, asi 120 m ZZS (276°) od kostela sv. Josefa v centru obce	49°47'56.019"N, 18°28'49.532"E
V02	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Olomouc – městská část Holice: Hamerský náhon	49°34'36.6"N, 17°17'39.7"E
V03	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Vsisko – u rybníku	49°33'01.6"N, 17°18'45.6"E
V04	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Krčmaň – příjezd k pískovně z obce Grygov, u vody	49°31'03.9"N, 17°19'21.4"E
V12	<i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Svéšedlice – naproti potoka Beroňka směrem k dálnici D35	49°34'28.3"N, 17°22'55.6"E
OER1	<i>S. 'Oeresundiana'</i>	CZ	Zlín – městská část Štípa: výsadba v areálu ZOO Zlín (Lešná)	49°16'29.331"N, 17°42'44.207"E
S-927	<i>S. 'Oeresundiana'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
MAT3	<i>S. 'Pendula'</i>	CZ	Kunovice – statný strom při okraji areálu VÚLHM (mimo sad) [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP	49°2'37.633"N, 17°25'34.729"E
S-0887	<i>S. 'Pendula'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
PRA1	<i>S. 'Prairie Cascade'</i>	CZ	Průhonice : Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "Vrboviště (C-I), silně zastíněný strom – ID: C-I-230	50°0'33.693"N, 14°34'0.701"E
S-1210	<i>S. 'Prairie Cascade'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
S-0943	<i>S. 'Sacramento'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-0093	<i>S. 'Salamonii'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-0454	<i>S. 'Salamonii'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-0899b	<i>S. 'Seiko'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
MAT2	<i>S. 'Tortuosa'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: veřejná zeleň na ul. Zikova, před domem č.p. 597/4	49°34'40.458"N, 17°15'23.371"E
CHRY6	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Čechy pod Kosířem : na břehu rybníka v zámeckém parku, při J okraji obce	49°32'52.524"N, 17°2'11.746"E
CHRY7	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Šumperk : veřejná zeleň, mezi čerpací stanicí Shell a nákupním střediskem	49°57'36.715"N, 16°58'34.075"E
N-II-125	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Průhonice : Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "javor, hrušně (N-II), ID: N-II-125	50°0'56.284"N, 14°33'42.372"E
S-874	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
TRS1	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: veřejná městská zeleň, u chodníku mezi ul. Velkomoravská a Trnkova	49°34'50.317"N, 17°15'5.090"E
VIT1	<i>S. 'Tristis'</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; původní sběr: Brno, Bohunice, nemocnice, leg. J. Chmelař]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E

1.3 Kříženci neznámého původu

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS
H1	cf. <i>S. alba</i> × <i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nové Sady: dva mladší stromy ve střední části brownfieldu na Švýcarském nábřeží [změřen jižnější strom]	49°34'59.753"N, 17°15'34.821"E
H2	cf. <i>S. alba</i> × <i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Olomouc – městská část Nemilany: okraji silnice na břehu Nemilanky, před odbočkou na Kožušany, asi 1,5 km od kaple sv. Jana a Pavla v centru této městské části	49°32'41.354"N, 17°15'39.063"E
H3	cf. <i>S. alba</i> × <i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Grygov: okraj cesty při plotu industriální zóny (rozvodna Grygov), naproti zahrádkám, ca. 1.35 km JJV (190°) od kostela sv. Jana Nepomuckého v centru obce	49°31'32.764"N, 17°18'28.631"E
CHRY9	<i>S. alba</i> × <i>S. 'Chrysocoma'</i>	CZ	Grygov: okraj cesty při plotu industriální zóny (rozvodna Grygov), naproti zahrádkám, ca. 1.35 km JJV (190°) od kostela sv. Jana Nepomuckého v centru obce	49°31'32.764"N, 17°18'28.631"E
MAT1	<i>S. alba</i> × <i>S. 'Tortuosa'</i>	CZ	Senice na Hané – podél říčky Blata, v obci v ul. Vodní, J od kostela sv. Máří Magdalény v centru obce	49°37'17.026"N, 17°5'23.451"E
S-1200-VZ	cf. <i>S. 'Tortuosa'</i> × <i>S. alba</i> ?	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-1203	cf. <i>S. 'Tortuosa'</i> × <i>S. alba</i> ?	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
S-1237	cf. <i>S. 'Tortuosa'</i> . × <i>S. fragilis</i>	CZ	Kunovice – sad VÚLHM [pěstováno z řízku v experimentální zahradě katedry botaniky PŘF UP; pozůstatek původní sbírky J. Chmelaře z arboreta MendelU v Brně]	49°2'37.646"N, 17°25'28.288"E
N-II-130	<i>S. cf. 'Wisconsin'</i>	CZ	Průhonice: Dendrologická zahrada VÚKOZ, výsadba v části "javory, hrušně (N-II), ID: N-II-130	50°0'56.284"N, 14°33'42.372"E
ČIZ-01	<i>S. 'Curly Obelisk'</i>	CZ	Olomouc – pěstována v exp. zahr. Katedry botaniky PŘF z řízku věnovaného Ing. J. Čížkem (dříve VÚLHM Kunovice). Spontánně vzniklý kříženec (Kunovice) neznámého původu.	49°34'31.2"N, 17°16'58.9"E