

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra pěstování lesů



DIPLOMOVÁ PRÁCE

Morfologická a genetická variabilita bříz na Třeboňsku

Autor: Bc. Michaela Štětinová

Vedoucí práce: doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

©2020 ČZU v Praze

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Michaela Štětinová

Lesní inženýrství

Název práce

**Morfologická a genetická variabilita bříz na Třeboňsku**

Název anglicky

**Morphological and genetic variability of birches in the Třeboňsko region**

---

### Cíle práce

Posoudit morfologickou a genetickou variabilitu diploidních a tetraploidních bříz na Třeboňsku.

### Metodika

Navažte na problematiku, kterou jste zpracovávala v rámci své bakalářské práce, dále ji rozvedte a doplňte ji o výstupy molekulárních analýz.

Na základě morfometrických dat bříz na Třeboňsku, např. z lokalit Červené blato, rašeliniště Pele a Žofinka, výstupů z průtokové cytometrie a molekulárních analýz zjistěte rozdíly v parametrech diploidních a tetraploidních druhů bříz. Porovnejte Vaše výstupy s dalšími studii z jiných analyzovaných oblastí.

Diskutujte svá zjištění s ohledem na problematiku taxonomického postavení bříz a dostupnou literaturu.

**Doporučený rozsah práce**

min. 45 stran

**Klíčová slova**

bříza pýřitá; bříza karpatská; bříza bělokorá

---

**Doporučené zdroje informací**

- Atkinson MD, Codling AN. 1986. A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia* 16: 75–87.
- Atkinson MD. 1992. *Betula Pendula* Roth (*B. Verrucosa* Ehrh.) and *B. Pubescens* Ehrh. *The Journal of Ecology* 80: 837–870.
- Ešnerová J, Karlík P, Zahradník D, Koňasová T, Stejskal J, Baláš M, Vítámvás J, Rašáková N, Stacho J, Kuthan J, et al. 2012. Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy lesnického výzkumu* 57: 112–125.
- Gardiner AS, Jeffers JNR. 1962. Analysis of the collective species *Betula alba* L. on the basis of leaf measurements. *Silvae Genetica* 11: 125–176.
- Gill JA, Davy AJ. 1983. Variation and polyploidy within lowland populations of the *Betula pendula*/*B. pubescens* complex. *New Phytologist* 94: 433–451.
- Mallet J. 2007. Subspecies, Semispecies, Superspecies. *Encyclopedia of Biodiversity*. Elsevier. 1–5.
- Steenis C. 1957. Specific and Intraspecific Delimitation. – *Flora Malesiana, Series 1* (5): 167–234.
- 

**Předběžný termín obhajoby**

2019/20 LS – FLD

**Vedoucí práce**

doc. Ing. Ivan Kuneš, Ph.D.

**Garantující pracoviště**

Katedra pěstování lesů

**Konzultant**

Ing. Rostislav Linda

Elektronicky schváleno dne 22. 2. 2019

**prof. Ing. Vilém Podrázský, CSc.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 13. 3. 2019

**prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.**

Děkan

V Praze dne 01. 10. 2019

---

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Morfologická a genetická variabilita bříz na Třeboňsku“ vypracovala samostatně pod vedením doc. Ing. Ivana Kuneše, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne

---

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Ivanovi Kunešovi, Ph.D. za odbornou pomoc. Zejména bych však chtěla poděkovat mému konzultantovi Ing. Rostislavu Lindovi za trpělivost při konzultacích, odborné rady a realizaci této diplomové práce. Poděkování patří též pracovníkovi CHKO Třeboňsko Ladislavu Rektorisovi za odbornou konzultaci a výběr vhodných lokalit pro sběr vzorků. Dále bych chtěla poděkovat celé své rodině a známým za podporu během celého studia. Děkuji!

## Abstrakt

Tato práce navazuje na problematiku morfologické variability bříz řešené v bakalářské práci a dále ji rozvádí a doplňuje o molekulární analýzy. Na základě dat získaných z jedinců odebraných na Třeboňsku, přesněji výstupů z průtokové cytometrie a molekulárních analýz (analýz mikrosatelitů), byla posouzena genetická variabilita mezi diploidními a tetraploidními taxony rodu bříza (*Betula* L.) na Třeboňsku. Celkem byly vybrány 3 lokality pro sběr vzorků s ohledem na přirozený výskyt *B. pubescens* a *B. carpatica*. Sběr proběhl v roce 2017, kdy bylo odebráno ze všech 3 lokalit 26 jedinců.

Statistická analýza velikosti genomu vzorků břízy bělokoré a vzorků bříz z okruhu břízy pýřité byla testována pomocí t-testu, který neprokázal významný statistický rozdíl v těchto hodnotách ( $t=1,08$ ;  $df=11$ ,  $p=0,3$ ). Následná analýza proporce sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními jedinci našla v celkových 86 alel 28 sdílených alel, tedy těch, které se vyskytovaly zároveň u diploidních i tetraploidních jedinců. Touto analýzou bylo taktéž zjištěno, že tetraploidní jedinci jsou pravděpodobně allopolyploidního původu.

Výsledky molekulární analýzy poukazují na relativně vysokou vnitrodruhovou variabilitu u tetraploidních jedinců v porovnání se zkoumanými diploidními jedinci. Z PCoA diagramu jsou patrné stejné výsledky. Diploidní jedinci nevykazují téměř žádnou genetickou variabilitu. Tetraploidní jedinci vykazují shlukovitost dat, která poukazuje na mírnou variabilitu mezi jedinci. Tato variabilita může být zapříčiněna hybridizací, která je u tohoto rodu velice častá.

Klíčová slova: bříza pýřitá; bříza karpatská; bříza bělokorá; analýza mikrosatelitů

## Abstract

This thesis continues in study of morphological variability of birch trees previously dealt with in bachelor thesis, further expands and completes it with molecular analysis. Based on the measurement obtained from Třeboň region specimen, precisely results from flow cytometry method and molecular analysis (Microsatellite analysis), genetic variability evaluation between diploid and tetraploid taxa of Birch genus (*Betula L.*) was conducted in Třeboň region. Altogether 3 locations with natural habitat of *B. pubescens* and *B. carpatica* were selected for sample analysis. The samples, total of 26 specimen from 3 locations, were collected in 2017.

Genome size statistical analysis of *Betula pendula* and *Betula pubescent* was tested using t-test which did not show a significant statistical difference in these values ( $t=1,08$ ;  $df=11$ ,  $p=0,3$ ). Subsequent analysis of the proportion of shared alleles between diploid and tetraploid specimen found 28 shared alleles in a total of 86, those that appeared in both diploid and tetraploid specimen. This analysis also revealed tetraploid individuals are likely to be of allopolyploid origin.

The results of molecular analysis indicate a relatively high intraspecific variability in tetraploid individuals compared to the studied diploid individuals. Same results are also evident from the PCoA diagram. Diploid specimen show almost no genetic variability. Tetraploid specimen show sameness of data, indicating slight variability between the specimen. This variability may be caused by hybridization, very common in this genus.

Key words: Downy birch; Carpathian birch; Silver birch; microsatellites analysis

# Obsah

<b>1 Úvod a cíle práce .....</b>	<b>10</b>
<b>2 Literární rešerše .....</b>	<b>12</b>
2.1 Taxonomie rodu Bříza.....	12
2.2 Problematika zařazení vybraných taxonů rodu Bříza .....	14
2.3 Obecná charakteristika rodu Bříza .....	16
2.3.1 Břízovité ( <i>Betulaceae</i> ) .....	16
2.3.2 Bříza ( <i>Betula</i> ).....	16
2.4 Charakteristika domácích taxonů.....	18
2.4.1 Bříza bělokorá ( <i>Betula pendula</i> Roth).....	18
2.4.2 Bříza trpasličí ( <i>Betula nana</i> L.) .....	18
2.4.3 Bříza pýřitá ( <i>Betula pubescens</i> Ehrh.) .....	18
2.4.4 Bříza karpatská ( <i>Betula caratica</i> W. et K.) .....	19
2.5 Využití rodu Bříza v lesnické praxi .....	20
2.5.1 Bříza a její využití v lesním hospodářství.....	20
2.5.2 Bříza jako náhradní dřevina .....	21
2.5.3 Bříza a zalesňování zemědělských půd .....	22
<b>3 Metodika .....</b>	<b>24</b>
3.1 Sběr vzorků .....	24
3.2 Charakteristika lokalit .....	26
3.2.1 NPR Červené Blato.....	26
3.2.2 NPR Žofinka .....	27
3.2.3 PR Rašeliniště Pele .....	28
3.3 Průtoková cytometrie .....	29
3.4 Izolace DNA a analýza mikrosatelitů .....	29
3.5 Statistická analýza dat .....	30
<b>4 Výsledky .....</b>	<b>32</b>
4.1 Shrnutí výsledků morfologické analýzy.....	32
4.2 Analýza velikosti genomu.....	33
4.3 Analýza mikrosatelitů .....	34
<b>5 Diskuze .....</b>	<b>37</b>
<b>6 Závěr.....</b>	<b>39</b>
<b>7 Reference.....</b>	<b>40</b>



<b>8 Přílohy .....</b>	<b>45</b>
8.1 Obrazová část .....	46
8.1.1 Tetraploidní zástupci.....	46
8.2 Mapová část .....	48

# 1 Úvod a cíle práce

Břízy (rod *Betula* L.) se vyskytují po celém území severní polokoule mírného a chladného pásma až po pásmo tundry (ÚRADNÍČEK 2010). Tyto dřeviny jsou označovány jako pionýrské a často se vyskytují na extrémních stanovištích (SÝKORA 1983). Determinace jednotlivých taxonů je v rámci rodu bříza často obtížná, a to zejména díky značné variabilitě jednotlivých druhů (KARLÍK et al. 2010). Tato variabilita, zejména z hlediska jejich morfologie, fyziologie, ekologie nebo genetiky je zapříčiněna s největší pravděpodobností reakcí na změnu klimatu v minulosti (LI 2007). Hlavním důvodem obtížného určení jednotlivých druhů bříz je jejich křížení a následná introgrese (JÄRVINEN et al. 2004).

Břízy jsou taktéž považovány za jeden z taxonomicky nejsložitějších cirkumpolárních rodů a jejich určování pomocí morfometrických znaků je velice obtížné (JÄRVINEN et al. 2004). Tento problém je způsoben zejména chybným nebo složitým určením jednotlivých druhů a jejich hybridů (THÓRSON et al. 2007). Takto nejasné taxonomické rozdělení bříz zapříčinilo nejasnosti ohledně celkového počtu druhů, který je různými autory nejčastěji uváděn mezi 30–60 (FURLOW 1990, ATKINSON 1992, JÄRVINEN et al. 2004).

V České republice je bříza označována za plevelnou dřevinu (ÚRADNÍČEK 2010), v lesnické praxi se využívala pouze jako přípravná dřevina (KAMENSKÝ et ŠTEFANČÍK 2010). Mezi přirozeně se vyskytující druhy na našem území můžeme považovat břízu bělokorou (*B. pendula* Roth), břízu pýřitou (*B. pubescens* Ehrh.), břízu trpasličí (*B. nana* L.) a břízu ojcovskou (*B. oycoviensis* Besser). Zajímavým taxonem je taktéž bříza karpatská (*B. carpatica* W. et K.), která je na našem území považována za samostatný druh (HEJNÝ et SLAVÍK 1990, SÝKORA 1983). Dalším druhem vyskytujícím se na našem území může být mimo jiné i bříza tmavá (*B. obscura* A. Kotula), která roste pouze v Severní Moravě (HEJNÝ et SLAVÍK 1990); její taxonomické zařazení je taktéž předmětem diskuse.

Bříza se v lesnictví využívala již v minulosti jako přípravná dřevina, kdy pro její pionýrské vlastnosti byla využívána pro prvotní výsadbu na rozsáhlých kalamitních holinách (KOUBA et ZAHRADNÍK 2010). Tato dřevina je taktéž hojně využívána při rekultivaci antropogenně poškozených území, jako jsou např. území po povrchové těžbě surovin.

Nejtypičtějším územím, kde bříza hraje nezastupitelnou roli, je lokalita severočeských uhelných dolů (např. Bílina či Tušimice) (SIMON et BUČEK 2010).

Velice významným místem, kde bříza získala své místo jsou Jizerské hory. V první polovině 90. let 20. století se na výzkumné ploše Jizerka (VÚLHM) provedly experimentální výsadby břízy karpatské. Tyto výsadby přinesly zásadní poznatky o schopnosti přežití této dřeviny v extrémních podmínkách a schopnost vytvářet vhodné podmínky pro uchycení a následný růst cílových hospodářských dřevin. Bříza karpatská prokázala vyšší odolnost vůči syndromu chřadnutí bříz oproti bříze bělokoré (KUNESŠ et al. 2010).



**Obrázek 1**– Habitat tetraploidního (vlevo) a diploidního (vpravo) jedince rodu bříza na území NPR Červené Blato.

Cílem této diplomové práce je posoudit morfologickou a genetickou variabilitu diploidních a tetraploidních druhů bříz na Třeboňsku a pomocí molekulárních analýz (analýzy mikrosatelitů) zhodnotit míru variability v rámci jedinců se stejnou velikostí genomu.

## 2 Literární rešerše

### 2.1 Taxonomie rodu Bříza

Břízy (rod *Betula*, čeleď břízovité – *Betulaceae*) (ÚRADNÍČEK 2010) jsou polyploidním rodem zahrnující diploidní, triploidní, tetraploidní, pentaploidní, hexaploidní, i jedince s vyšším stupněm ploidie (WOODWORTH 1929, MCALLISTER et ASHBURNER 2007).

V současnosti je čeleď břízovité (*Betulaceae*) rozdělena do dvou podčeledí: *Coryloidae* a *Betuloidae*. V podčeledi *Betuloidae* se dále nachází dva rody: *Betula* a *Alnus* (JÄRNIVEN et al. 2004). Počet jednotlivých druhů se značně liší v závislosti na autorovi (LI et al 2005); dle ATKINSONA (1992) rod bříza čítá 50 druhů, ASHBURNER et McALLISTER (2013) uvádějí až 64 taxonů a KULA (2011) uvádí až 120 druhů bříz. Uváděný počet druhů bříz je z důvodu taxonomické složitosti rodu často nadhodnocen, dle LI et al. (2005) se v současné době na celém světě nachází 30–45 druhů bříz.

<i>Taxonomické rozdělení</i>	<i>Český název</i>	<i>Latinský název</i>	<i>Rodové označení</i>
Říše	Rostliny	<i>Plantae</i>	
Podříše	Cévnaté rostliny	<i>Tracheobionta</i>	
Oddělení	Krytosemenné	<i>Magnoliophyta</i>	
Třída	Dvouděložné	<i>Rosopsida</i>	
Řád	Bukotvaré	<i>Fagales</i>	
Čeleď	Břízovité	<i>Betulaceae</i>	
Podčeleď		<i>Betuloidea</i>	<i>Betula</i>
		<i>Coryloidea</i>	<i>Alnus</i>

**Tabulka 1** - Taxonomické zařazení rodu *Betula* (Hejny & Slavík, 1990, 1997)

Názory na systematiku rodu *Betula* se u různých autorů liší. Dle nejnovějšího taxonomického přehledu bříz autorů ASHBURNERA et MCALLISTERA (2013) se břízy rozdělují do 4 rodů a ty pak dále na 8 sekcí. JÄRVINEN et al. (2004) rozděluje rod bříza do 2 podrodů: *Betulaceae* a *Betuloidea*, které se následně rozdělují na 2 rody: *Alnus* a *Betula*. V České republice jsou původní druhy dle ASHBURNERA et MCALLISTERA (2013) zařazeny do rodu sekce *Betula* a jeden druh do sekce *Apterocaryon*. Obecně je systematika bříz v současnosti stále problematická, a to z mnoha důvodů. Jedním z nich je např. častá hybridizace. Literatura zabývající se taxonomií a systematikou bříz zahrnuje celé spektrum popsáných druhů, poddruhů a hybridů (KUNEŠ et al. 2019).

## 2.2 Problematika zařazení vybraných taxonů rodu Bříza

Břízy patří mezi jedny z nejobtížněji determinovatelné druhy v oblasti střední Evropy (KARLÍK 2010). Samotná taxonomická problematika je způsobena zejména polyploidizací, hybridizací jednotlivých druhů bříz a jejich zpětným křížením s rodičovskými druhy – introgresí (JÄRVINEN et al. 2004). Křížení diploidních a tetraploidních druhů je v přírodě možné, pokud jsou výsledkem triploidní jedinci, jsou sterilní. Míra hybridizace v přírodních podmínkách nepřesahuje 4 % (SÝKORA 1983), u rodu bříza však sehrála velmi důležitou roli v samotném vývoji tohoto rodu (JÄRVINEN et al. 2004). Fenotyp a genotyp bříz může být mimo jiné ovlivněn také změnou klimatu, a proto je třeba se v současné době zaměřit i na tuto studii (GILL et DAVY 1983).

V České republice se přirozeně vyskytují diploidní a tetraploidní druhy bříz. Mezi druhy vyskytující se téměř na celém našem území patří bříza bělokorá (*Betula pendula* Roth), která je diploidní ( $2n=28$ ) a zejména ve vyšších polohách bříza pýřitá, která je tetraploidním druhem ( $2n=56$ ). Základní chromozomové číslo je  $x=14$ . Tetraploidní druhy bříz patří do poměrně složité skupiny subtilních, složitě determinovatelných taxonů (EŠNEROVÁ et al. 2012).

Mezi těmito dvěma druhy existují značné rozdíly, které se liší podle původnosti porostu. Například původní březové porosty rostoucí ve Finsku jsou ekologicky oddělené a vykazují značnou odlišnost. Ve Velké Británii je většina březových porostů sekundárního původu a rozlišení není již tak patrné jako u porostů ve Finsku (GILL et DAVY 1983).

Jedním z nejspolehlivějších zjištění ploidie je pomocí průtokové cytometrie (KARLÍK 2010). Princip průtokové cytometrie spočívá v navázání fluorescenčního barviva na dvoušroubovici DNA zkoumaného jedince a následné ozáření světlem náležité vlnové délky lze změřit intenzitu fluorescence. Výstupem průtokové cytometrie je mimo jiné zjištění velikosti genomu. U úzce příbuzných taxonů lze zaznamenat shodnou velikost genomu, u těchto případů je potřeba pro přesné odlišení využít molekulárních metod (například analýzu mikrosatelitních oblastí jaderné DNA) (KARLÍK et al. 2010).

V terénních podmínkách je však metoda průtokové cytometrie nepoužitelná, proto lze s určitými omezeními využít jednodušší metody, například morfometrická měření jednoduchými kancelářskými pomůckami (LINDA et al. 2017). Rozlišení diploidních a tetraploidních jedinců lze kromě morfometrie listových parametrů provést taktéž na základě morfometrie plodů, letorostů a pylových zrn (GILL et DAVY 1983). Diploidní druhy bříz zpravidla vykazují menší míru variability v morfologických a molekulárních kritériích než tetraploidní druhy (KUNEŠ et al. 2019).

Jedním z problematických taxonů je bříza skalní (*Betula petraea*), která vznikla dle HEJNÉHO et SLAVÍKA (1990) zkřížením *B. petraea* a *B. pubescens*. Jako samostatný druh ji podrobně popsal SÝKORA (1983). Tento druh je označován za typického zástupce reliktních borů. Vyskytuje se zejména ve středních polohách Českého masívu, a to konkrétněji na Labských pískovcích, Teplicko-Adršpašských skalách, Broumovských stěnách a Hejšovině. Typickými lokalitami pro tento druh jsou Polomené hory a Český ráj. Typickým stanovištěm jsou rašeliny a rašelinné pánve (Třeboňsko, Šumava, Českomoravská vysočina). V tomto případě je možné vzít v úvahu hybridizaci na dvou odlišných ekotypy (skály a rašeliny) (SÝKORA 1983).

Dalším z řady problematických taxonů je bříza karpatská (*Betula carpatica*). Jedná se o druh, který vznikl dle SÝKORY (1983) introgresí *B. pendula* a *B. odorata*, ovšem dle HEJNÉHO et SLAVÍKA (1990) má tento druh původ zcela odlišných rodičů, a to *B. pubescens* a *B. tortuosa*. Mnoho autorů se přiklání k možnosti zařazení břízy karpatské jako poddruhu břízy pýřité. V České republice se donedávna považovala bříza karpatská za samostatný druh. Lesníci se řídili dosavadní taxonomií používanou v České republice a na základě této taxonomie navrhli využitelnost břízy pýřité a břízy karpatské v odlišných nadmořských výškách. Pro břízou pýřitou byly v severních horách nejvhodnější podmínky do 1 000 m n. m., zatímco pro břízu karpatskou byly neoptimálnější podmínky nad 1 000 m n. m. (KUNEŠ et al. 2019). V těchto horských podmínkách má bříza karpatská vysoký potenciál při stabilizaci lesních porostů, a to díky svým fyziologickým a mechanickým vlastnostem, zejména pak velkou mrazuvzdorností, schopností vytvářet plazivé formy a stavby dřeva, která velice dobře odolává těžkému sněhu (KARLÍK 2010).

## 2.3 Obecná charakteristika rodu Bříza

### 2.3.1 Břízovité (Betulaceae)

Čeď břízovité (*Betulaceae*) z řádu bukotvaré (*Fagales*) jsou listnaté opadavé dřeviny s bohatě rozvinutým, srdcovitým, kořenovým systémem. Borka je zpravidla hladká, šupinovitá, někdy odlupčivá. Květy jsou jednopohlavné. Samčí květy s vyvinutým okvětím, samičí květy obvykle bez okvětí (HEJNÝ et SLAVÍK 1990). Plodem je nažka válcovitého tvaru s trojlaločnými podpůrnými šupinami a prostředním špičatým lalokem. List je jednoduchý s dlouhým řapíkem a střídavým postavením na letorostu (ÚRADNÍČEK 2010).

### 2.3.2 Bříza (*Betula*)

Jsou dřeviny až 35 m vysoké s nepravidelnou korunou. Z hospodářského hlediska jde o relativně krátkověkou dřevinu, která se dožívá zhruba 100 let (KOBILÍŽEK 2006). Hladká, zejména bílá borka může nabývat u určitých druhů i tmavohnědé až černé barvy. Pupeny jsou zpravidla zakryté několika šupinami a přisedlé. Samčí jehnědy na konci prýtů přezimující. Samičí jehnědy přezimují v pupenech zkráceného výhonu. Plodem je jednosemenná okřídlená nažka (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

Rod bříza se ve střední Evropě dělí do sekcí *Betula* (*B. pendula* Roth, *B. pubescens* Ehrh.) a *Apterocaryon* (*B. nana* L.) (KUNĚŠ et al. 2019). Jednotlivé druhy uvedené v sekcích jsou rozděleny zejména na základě příbuzenského historického vývoje (SCHENK et al. 2008).

Nejčastěji nalezneme břízu v mírných a boreálních pásmech severní Evropy, nicméně se vyskytuje téměř na celém jejím území. V pobaltských zemích se její zastoupení pohybuje mezi 17–28 %, ve skandinávských zemích mezi 11–16 % (HYNENEN et al. 2009). V České republice se vyskytuje 5–6 druhů bříz (ÚRADNÍČEK 2010). Podmínky jsou zde pro tyto druhy velice vhodné, ostatně bříza není náročnou dřevinou, jedinou zásadní podmínkou pro tuto dřevinu je dostatek světla. Břízy se vyskytují zejména na vlhkých hlinitopísčitých půdách, nicméně jsou dosti adaptabilní i na jiné půdní podmínky jako např. na zamokřené půdy, nebo na chudá suchá místa (HEIKE 1978).

Bříza z hospodářského hlediska není příliš využívanou dřevinou, nicméně některé formy bříz (např. „bříza karelská“, *B. pendula* var. *carelica*) mají uplatnění v nábytkářském



průmyslu, a to zejména díky její dekorativní kresbě, která je i značně ceněna. Tato dřevina má roztroušeně pórovitou stavbu dřeva a nevytváří jádro, popřípadě lze nalézt při růstu v nevhodných podmínkách i strom s nepravým jádrem, tato vada však snižuje kvalitu a hodnotu dřeva. Řadí se mezi tzv. dřeviny bělové, které mají po průřezu kmenem stejnou barvu. Velkou nevýhodou této dřeviny z hlediska dřevozpracujícího průmyslu je nízká odolnost dřeva vůči hnilobám (ZEIDLER 2010).

## 2.4 Charakteristika domácích taxonů

### 2.4.1 Bříza bělokorá (*Betula pendula* Roth)

Tento druh je charakterizován svojí ekologickou nenáročností a je často označován za pionýrskou dřevinu. Tato bříza je velice rozšířeným druhem rostoucím téměř na celém území Evropy vyjma Islandu, převážné části Řecka a Pyrenejského poloostrova. Nejhojnější je pak na severu, kde tvoří rozsáhlé březové porosty. V České republice se vyskytuje téměř na celém území kromě lužních a vysokohorských lesů (BURIÁNEK et al. 2014). Vytváří nepravidelnou vejcovitou korunu s přímým kmenem, který je v mládí hladký, žlutavě až načervenalé hnědý, později může být šedavě bílý až bílý a loupavý. Strom může být vysoký až 25 m s často převislými větvemi. Letorosty jsou lysé se zašpičatělými vejcovitými pupeny (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

### 2.4.2 Bříza trpasličí (*Betula nana* L.)

Tento druh nalezneme nejčastěji na rašeliništích. V České republice pak např. v Jizerských horách, Krušných horách a na Šumavě. Dále ji můžeme nalézt na vně státních hranic v Orlických a Novohradských horách. Tento keř dorůstá do výšky 20–50 cm a má poléhavé větve. Borka je v mládí hnědá loupavá, ve stáří pak šedočerná (HEJNÝ et SLAVÍK 1990). Kořenový systém je bohatý se spousty adventivních kořenů rostoucích ve vnější vrstvě půdy (ÚRADNÍČEK 2010). Pupeny mají vejčitý tvar a jsou tupě zašpičatělé. Samčí jehnědy přisedají přímo na letorost, samičí jsou stopkaté a vzpřímené. Plodem je nažka (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

### 2.4.3 Bříza pýřitá (*Betula pubescens* Ehrh.)

Areál rozšíření této břízy je v České republice úzce spjat s vlhkými a chladnějšími podmínkami v porovnání s *B. pendula* (GILL et DAVY 1983). Jedná se o oddělené populace vyskytující se zejména v mokřadech a rašeliništích (KUNEŠ et al. 2017). Tento druh můžeme nalézt např. v Krušných horách, na Šumavě, v Hrubém Jeseníku a Velké kotlině. Výškové maximum výskytu je 1290 m n. m. (BURIÁNEK et al. 2014). Dorůstá do výšky až 20 m. Borka je matně bílá, zřetelně hluboce brázděná borka. Větve prvých řádů směřují šikmo vzhůru, nepřevíslé. Letorosty středně až silně pýřité, neobsahující pryskyřičné bradavky. Pupeny mírně lepkavé, obvejčité. Samčí květy na koncích loňských prýtů v převislých jehnědách. Samičí jehnědy zprvu vzpřímené, po opylení převislé. Plodem je

nažka, která má lem až 1,5× širší až stejně široký jako semenné pouzdro (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

#### **2.4.4 Bříza karpatská (*Betula caratica* W. et K.)**

Bříza karpatská se vyskytuje ostrůvkovitě v pohořích střední, jižní a západní Evropy od Portugalska až po Rumunsko. V České republice ji nalezneme např. v Krušných horách a v Jeseníku. Typickou lokalitou, kde se vyskytuje tento druh, jsou zrašeliněné mrazové pánve v Jizerských horách (KARLÍK 2010). Její výškové maximum přirozeného výskytu je 1345 m n. m. (Hrubý Jeseník a Velká kotlina) (BURIÁNEK et al. 2014). Ve volné přírodě ji můžeme nalézt v keřových i stromových formách. Dosahuje výšky až 12 m. Tvoří nepravidelnou korunu, kmen je křivolaký, šikmý (ÚRADNÍČEK 2010) s bílou, žlutavou, červenavě hnědou až černou borkou. Větve jsou zpočátku plstnaté, později však olysávají. Pupeny jsou lepkavé, obvejčité. Samčí jehnědy převalené na konci prýtlů. Samičí zprvu vzpřímené, po oplodnění převalené. Plodem je nažka s lemem užším až stejně širokým jako je semenné pouzdro (HEJNÝ et SLAVÍK 1990).

Výčet dalších druhů bříz, které se přirozeně vyskytují na našem území (KULA 2011, KARLÍK 2010)

- *Betula oycoviensis* BESSER – Bříza ojcovská
- *Betula humilis* SCHRANK – Bříza nízká
- *Betula petraea* sensu SÝKORA – Bříza skalní
- *Betula obscura* A. KOTULA – Bříza tmavá

## 2.5 Využití rodu Bříza v lesnické praxi

### 2.5.1 Bříza a její využití v lesním hospodářství

Břízy jsou typickými zástupci pionýrských dřevin, které jsou schopny silně odolávat suchu, mrazu i vysoké teplotě (ZAKOPAL 1960). Jedná se o světlomilné dřeviny, které osidlují území, která byla antropogenně ovlivněna (holiny, výsypky, haldy, opuštěná zemědělská půda, imisní kalamita) (SLODIČÁK et al. 2017). Ve 30. letech 20. století byla bříza často využívána jako tzv. přípravná dřevina po mniškové kalamitě a v 80. letech téhož století taktéž jako přípravná dřevina po kalamitě imisí (MARTINÍK 2014).

Při použití břízy jako náhradní dřeviny v lesnictví je důležité vybrat vhodný druh pro dané stanoviště. Jednotlivé druhy bříz mají zčásti odlišné ekologické nároky. Bříza bělokorá je vhodná zejména na stanovištích v CHS 13, 21, 27 a 57, dále také na stanovišti hadcového boru a je méně vhodná v CHS 43 a 45. Břízu karpatskou a břízu pýřitou taktéž lze využít v HS 79, dále je pak bříza karpatská využitelná v klečovém LVS a ve vysokohorských lesích (MARTINÍK 2014).

Z mikroklimatického hlediska má bříza pozitivní vliv na růst cílových dřevin, které jsou v porostu společně s břízou. Při pozdních mrazech ostatní plně vyrašené listnáče omrzají, kdežto bříza je perfektně zvládá. V ochranném březovém porostu jsou sazenice cílových dřevin chráněné, a tudíž méně promrzají. Promrzání je zapříčiněno zejména mělkou půdou, která je v jarních měsících rozbahněná (ZAKOPAL 1958). Tento způsob ochrany cílových dřevin se využívá při zalesňování holých sečí, kde jsou špatné mikroklimatické podmínky (SOUČEK et ŠPULÁK 2010).

Z cílových druhů dřevin snášejí kalamitní holiny lépe jehličnaté dřeviny (smrk a modřín) než listnaté dřeviny, zejména dub a lípa jsou v růstu značně pomalejší a jsou více poškozovány pozdějšími mrazy. Poškozené sazenice mají tendenci růst do šířky až do doby, než se kultura zapojí. Růst listnatých dřevin společně s pomocnými výrazně kladně ovlivňuje jejich růst (ZAKOPAL 1963).

## 2.5.2 Bříza jako náhradní dřevina

Jedním ze současných problémů je kůrovcová kalamita, při níž vznikají několika hektarové holiny. Na těchto holinách vzniká utužená nepropustná půda, která díky této vlastnosti brání přirozenému růstu a vývoji cílových hospodářských dřevin (ZAKOPAL 1958). Bříza má velice pozitivní vliv na tyto půdní podmínky a díky svému kořenovému systému je schopna prokořenit i do silně zhutněných utužených půd (ZAKOPAL 1960), kde následně prohumózní půdní profil až do hloubky 20–60 cm. Ke zlepšení fyzikálních a půdních vlastností pak dochází v poměrně krátkém čase. Prostupnost kořenového systému do půdního profilu dokáže bříza nejlépe a nejrychleji za všech našich dřevin (9 let stará bříza má kořenový systém až do hloubky 70 cm půdního profilu, 15 let stará bříza má již 110 cm dlouhý kořenový systém a 30 let stará bříza může mít až 140 cm hluboký kořenový systém). Bříza je jako jediná dřevina schopna fyziologicky mělké povrchy půdy prohloubit, biologicky zaktivovat a navrátit tak zpět dřevní produkci (ZAKOPAL 1958).

Pro založení nové generace na poškozených plochách se doporučuje obnova umělá. Břízy jsou sice dřeviny s hojnou plodností, nicméně počet mateřských jedinců je velmi nízký pro úspěšné založení nové generace. Samotná síje se provádí v předjaří, kdy se seje na sníh, nebo ještě před vznikem sněhové pokrývky. Hmotnost dávky semen bříz se pohybuje od 30–40 kg/ha (MARTINÍK 2014). Po splnění všech požadovaných funkcí (vytlačení bylinné vegetace a plné zapojení) se bříza začne postupně samozreďovat. Tento přirozený vývoj lze samozřejmě urychlit, a to umělým zásahem, kdy je možné postupně uvolňovat a tvarovat březové porosty (kotlíky, pruhy, clonná forma) a následně podsazovat cílové dřeviny.

V první polovině 20. století postihla Krušné hory imisní kalamita, která měla za následek hromadné odumírání lesních porostů a následné okyselení a vyplavení důležitých živin z půdy. Rozsáhlý oslabený smrkový porost byl taktéž napaden hmyzím škůdcem (*Ips typographus*) a v kombinaci s imisní kalamitou se následně vytvořily rozsáhlé holiny (KULA 2011). První imisní těžby byly zahájeny již na počátku 20. století, kalamitního stavu bylo dosaženo v roce 1960 a maximální imisní zátěž byla zaznamenána v letech 1970–1980 (FERKL 2006).

Pro prvotní výsadbu a přípravu půdy pro cílové dřeviny se nejdříve vysadily přípravné dřeviny – v tomto případě šlo o břízu bělokorou, která se jevila jako velice vhodná náhradní

dřevina (BALCAR 2001). Břízy byly vybrány zejména pro svojí toleranci snášet vysoký obsah SO<sub>2</sub> v ovzduší. Celkem se těmito dřevinami založilo 35–40 tisíc ha porostů (FERKL 2006).

V průběhu zim 1995–1997 došlo k masivnímu poškození a následnému rozpadu březových porostů a defoliaci smrku ztepilého. Odumírání břízy, zejména diploidních jedinců pokračuje až do současnosti a je snaha nahradit ji původními autochtonními proveniencemi dřevin (smrk, buk a klen) (FERKL 2006).

Možnost využití tetraploidních druhů bříz při zalesnění takto poškozených ploch se jeví vhodnější oproti diploidním druhům. Je tomu tak zejména z důvodu schopnosti přežít těchto druhů v extrémnějších podmínkách a následná schopnost vytvořit takové podmínky, které umožní uchycení a následný vznik porostů cílových hospodářských dřevin. Tetraploidní druhy bříz jsou taktéž odolnější vůči syndromu chřadnutí oproti diploidním druhům, což dokládají výsledky studií KUNEŠE et al. (2010).

### **2.5.3 Bříza a zalesňování zemědělských půd**

První zmínka o zalesnění zemědělských ploch na území ČR pochází již ze 16. století, kdy došlo k rozšíření lesních porostů na těchto pozemcích v okolí města Karlovy Vary. První větší zalesňování zemědělských pozemků bylo však provedeno až po 2. světové válce; celkem bylo zalesněno 103 456 ha zemědělských pozemků. Zalesňování probíhalo zejména v jižních a západních Čechách, ale taktéž i na severní Moravě a ve Slezsku (KACÁLEK et BARTOŠ 2002).

V současnosti je stále vrůstající zájem o zalesňování zemědělských ploch. Zalesňují se zejména neproduktivní zemědělské plochy. Je tomu tak z důvodu vzrůstající potravinové produkce na evropském trhu a stanovení požadavků na jiné hospodářské využití těchto ploch vyskytujících se zejména v podhorských a horských oblastech České republiky (KACÁLEK et BARTOŠ 2002).

Primárním cílem toho opatření je produkce dřeva a udržení ekonomické stability neproduktivní plochy. Dalším neméně důležitým cílem je vytvoření nového krajinného

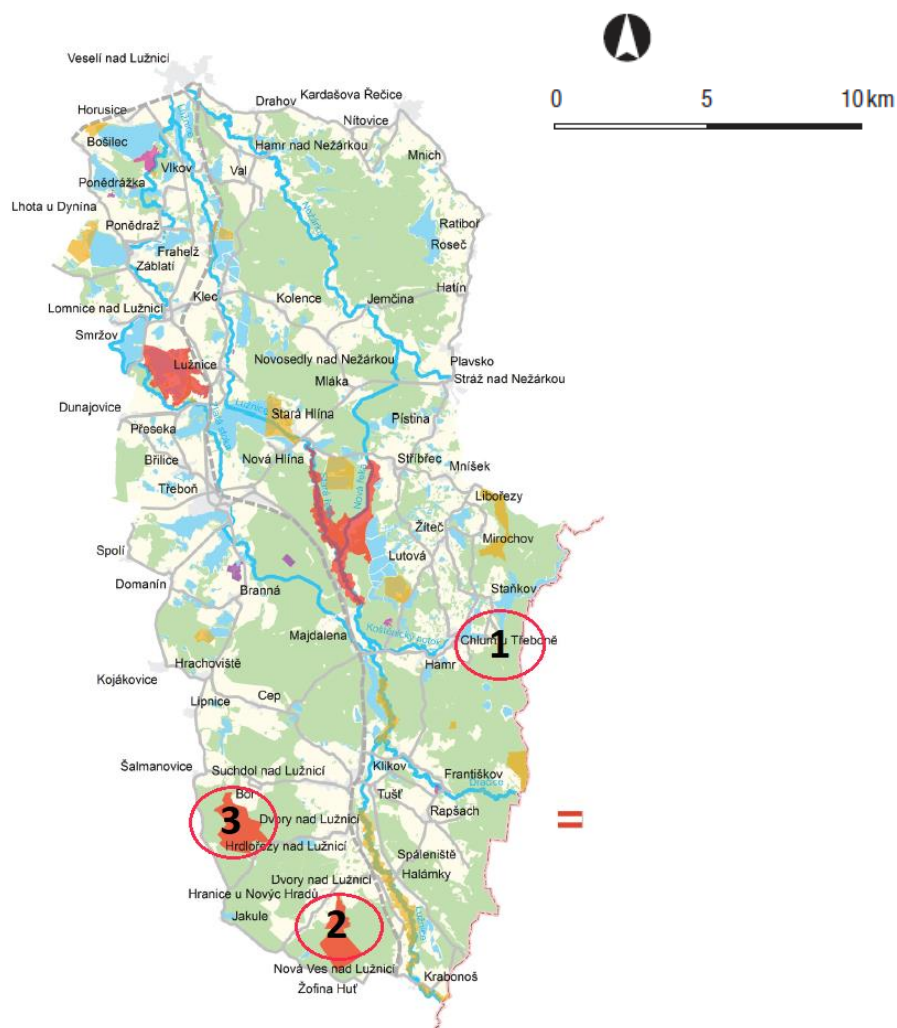
prvku, což má pozitivní vliv na vodní režim v krajině a ochranu půdy před erozí (KACÁLEK et BARTOŠ 2002).

Bříza, díky své nenáročnosti získala svoje místo při zalesňování zemědělských ploch, kde se využívá při první výsadbě jako pomocná dřevina. V současné době se výměra pozemků v České republice, které jsou vhodné pro zalesnění pohybuje okolo 265 000 ha. Zájem o zalesnění projevují zejména soukromí vlastníci, kteří po splnění náležitých legislativních podmínek mohou zažádat o finanční podporu stát (KACÁLEK et BARTOŠ 2002).

## 3 Metodika

### 3.1 Sběr vzorků

V roce 2017 byl proveden sběr vzorků ze 3 lokalit na Třeboňsku. Lokality byly vybírány na základě přirozeného výskytu bříz a na základě konzultací s pracovníkem správy CHKO Třeboňsko. Celkem byly odebrány vzorky 26 jedinců (viz Tab. 2). Umístění lokalit v rámci území CHKO Třeboňsko je znázorněno na a Obr. 2.



**Obrázek 2** - Mapa CHKO Třeboňsko z vyznačenými lokalitami. Časopis Ochrana přírody 4/2014. Agentura ochrany přírody (AOPK). [online]. [b.r.] [cit. 2014-04]. Dostupné z: <http://www.casopis.ochranaprirody.cz/z-nasi-prirody/chko-treboňsko/>

Poznámka 1. PR Rašeliniště Pele, 2. NPR Žofinka, 3. NPR Červené Blato



Z každého z vybraných jedinců byly odebrány dva plně olistěné letorosty, pro měření morfometrických parametrů. Každý letorost byl odebrán z jiné části koruny, aby došlo k co nejpřesnějšímu vyhodnocení. Část materiálu (cca 1 list) byl uchován v mrazícím boxu (-80 °C) pro následné genetické analýzy a cca 1 list byl použit pro analýzu velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie (viz dále).

Odebrané letorosty se herbářovaly a na dvou listech z každého letorostu byly měřeny vybrané morfologické parametry. Tato problematika byla řešena v bakalářské práci (ŠTĚTINOVÁ 2018); v kapitole výsledky této práce tak bude poskytnut souhrn již zjištěných informací.

**Tabulka 2** - Seznam odebraných jedinců v rámci Třeboňska s vyhodnoceným stupněm ploidie pomocí průtokové cytometrie.

Oblast	Lokalita	GPS [lat]	GPS [lon]	nadmořská výška [m]	pracovní determinace (v terénu)	ploidie (dle průtokové cytometrie)
Třeboňsko	PR Rašeliniště Pele	48,9593	14,96556	469	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,95911	14,96545	469	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,95885	14,96561	469	<i>B. pendula</i>	2n=2x
	NPR Žofinka	48,83286	14,87744	474	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,83244	14,87747	474	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,83245	14,87776	474	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,8319	14,8778	474	<i>B. pubescens</i>	2n=2x
		48,83172	14,87753	474	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,83181	14,87723	474	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,83186	14,8769	474	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,83353	14,87662	474	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		NPR Červené Blato	48,85827	14,80295	483	<i>B. pendula</i>
	48,85841		14,8033	483	<i>B. pubescens</i>	2n=3x
	48,85847		14,80412	483	<i>B. carpatica</i>	2n=2x
	48,8585		14,80481	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
	48,85857		14,80522	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
	48,85846		14,80597	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
	48,85856		14,80667	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
	48,85865		14,80723	483	<i>B. pendula</i>	2n=2x
	48,8586		14,80805	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
48,85864	14,80866	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x		

		48,85878	14,81094	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,85878	14,81243	483	<i>B. pendula</i>	2n=2x
		48,85881	14,81288	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,85902	14,81373	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x
		48,85945	14,81316	483	<i>B. pubescens</i>	2n=4x

## 3.2 Charakteristika lokalit

### 3.2.1 NPR Červené Blato

Národní přírodní rezervace Červené Blato byla vyhlášena 8. 5. 1974. Předmětem ochrany jsou přirozené blatkové a rašelinné bory, vzácná a ohrožená společenstva rostlin a živočichů, zejména pak borovice blatky a rojovníku bahenního. NPR Červené Blato se rozprostírá na ploše 403,58 ha a zasahuje do tří obcí (Byňov, Těšínov a Hrdlořezy u Suchdola nad Lužnicí) (ALBRECHT 2003).

Na území celé rezervace jsou vybudovány odvodňovací kanály, které rašeliniště odvodňují a tím způsobují nežádoucí vysušování. Odvodňovací kanály mají dvě vyústění: jihozápadní směr přes Borovskou stoku a severovýchodní směr přes Podřezanskou stoku. (AOPK 2020). Toto nevhodné odvodňování společně se současnou klimatickou změnou způsobilo masivní úhyn borovice blatky, a to zejména na konci 20. století, kdy starší populace borovice uhynula až o 20 % z celkového počtu. V současné době úhyn borovice není tak markantní, nicméně stále dochází k nežádoucímu zániku populace borovice blatky (ALBRECHT 2003).

Flóra je zde pestrá. Přirozená společenstva zde tvoří reliktní porosty borovice blatky (*Pinus rotundata*), vtroušeně pak lze nalézt krušinou olšovou (*Frangula alnus*) a břízu bělokorou (*Betula pendula*). Bylinné patro tvoří ohrožený rojovník bahenní (*Ledum palustre*). Převládají zde borůvkové porosty borůvky černé (*Vaccinium myrtillus*) a vlochyň bahenní (*Vaccinium uliginosum*). Na narušených vysušených místech proniká na obvodové části rašeliniště borovice lesní (*Pinus sylvestris*) (ALBRECHT 2003).

Toto území obývají zejména bezobratlí živočichové. Vyskytuje se zde šídlo rašelinné (*Aeschna subarctica*) či vážka tmavoskvřná (*Leucorrhinia rubicunda*). Je zde zjištěno až na 600 druhů motýlů. Pozorovat zde lze velmi hojný výskyt píďalky borůvkové (*Arichanna*

*melanaria*). Zajímavý je zde i výskyt populace dobrušky (*Nola aerugnula*) a bourovce cesmínového (*Phyllodesna ilicifolia*) (ALBRECHT 2003).

### 3.2.2 NPR Žofinka

Národní přírodní rezervace Žofinka byla vyhlášena 18. 4. 1975. Předmětem ochrany jsou přirozeně vyskytující blatkové a rašelinné bory. Populace ohrožených druhů borovice blatky a rojovníku bahenního. Celková rozloha NPR Žofinka činí 343,94 ha, která se rozprostírá v katastrálním území Dvory na Lužnici (ALBRECHT 2003).

Lesní porost zaujímá borovice blatka (*Pinus rotundata*), vtroušeně s borovicí lesní (*Pinus sylvestris*), břízou pýřitou (*Betula pubescens*), břízou bělokorou (*Betula pendula*), krušinou olšovou (*Frangula alnus*) a smrkem ztepilým (*Picea abies*). Bylinné patro tvoří rojovník bahenní (*Ledum palustre*), borůvka černá a bažinná (*Vaccinium myrtillus* a *V. uliginosum*), vřes obecný (*Calluna vulgaris*) a klikvá bahenní (*Oxycoccus palustris*) (ALBRECHT 2003).

Z živočichů se v rezervaci vyskytují nejhojněji obratlovci lesních porostů. Bylo zde zjištěno až na 42 druhů, mezi něž lze zařadit čápa černého (*Ciconia nigra*), datla černého (*Accipiter gentilis*) a ještěrku živorodou (*Zootoca vivipara*) (ALBRECHT 2003).

Na konci 20. století byly vytvořeny po celém obvodu rezervace hluboké odvodňovací kanály, které negativně ovlivnily vodní režim v lokalitě a tím napomohly i ke snížení růstu přirozeně se vyskytující vegetace. V současné době je v rámci řízené péče o rezervaci snaha o zpomalení odtoku vody z území NPR Žofinka, zaslepováním těchto odvodňovacích stok a taktéž budování jezírka, které zajistí opětovný rašelinotvorných proces. V současné době je vodní režim v této lokalitě monitorován a probíhá zde botanický průzkum a další studie. Z dřívějších údajů je patrné, že rašeliníště není závislé na hladinách spodních vod a jejich místech vývěru, ale spíše na přísunu srážkových vod (ALBRECHT 2003).

### 3.2.3 PR Rašeliniště Pele

Přírodní rezervace Rašeliniště Pele byla vyhlášena v roce 1994. Předmětem ochrany je niva dvou meandrujících potoků s početnými tůňkami a charakteristickou faunou a flórou. Celková výměra činí pouhých 11,3 ha, avšak charakter toho území nemá v Třeboňské pánvi obdobu (ALBRECHT 2003).

V minulosti byla tato niva odvodněna a využívána pro zemědělství (zejména jako louky). Jsou zde i dochovány pozůstatky hráze vodní nádrže. V současné době, je tato plocha opět zavodněna a ponechána přirozenému vývoji (ALBRECHT 2003).

Stromové patro tvoří smrk ztepilý (*Picea abies*), olše lepkavá (*Alnus glutinosa*) a olše šedá (*Alnus incana*). Z bylinného patra lze zde nalézt mimo jiné chrastici rákosovitou (*Phalaroides arundinacea*), d'áblíka bahenního (*Calla palustris*) a plovoucí koberce rašeliníku bodlavého (*Sphagnum cuspidatum*) (ALBRECHT 2003).

Faunu zde tvoří vzácné populace bezobratlých (měkkýši, korýši, pavouci, jepice, vážky, střechatky, pošvatky, chrostíci). Vyskytují se zde raci říční (*Astacus astacus*), vážky tmavoskvrnné (*Leucorhinia rubicunda*) a lovcíci vodní (*Dolomedes fimbriatus*). Z obratlovců lesních a lučních biotopů lze zde nalézt skokana ostronosého (*Rana arvalis*), skokana krátkonohého (*Rana lessonae*) a bekasinu otavní (*Gallinago gallinago*) (ALBRECHT 2003).

Všechny tyto lokality byly vybírány na základě konzultace s místním odborníkem a pracovníkem CHKO Třeboňsko a na základě databáze České flóry PLADIAS (WILD et al. 2019). Vybrané lokality jsou charakteristické pro přirozený výskyt zájmových taxonů.

### 3.3 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (angl. flow cytometry, FCM) je laboratorní metoda umožňující mimo jiné měření velikosti genomu. V této práci byla metoda průtokové cytometrie použita pro odlišení vzorků diploidních a tetraploidních bříz.

Buněčné parametry se měří na základě záznamu odraženého světla o dané vlnové délce od vzorku protékajícího kapilárou ve specializovaném přístroji (tzv. cytometru). Pomocí průtokové cytometrie lze tedy spolehlivě zjistit velikost buněčných jader jednotlivých vzorků (velikost genomu). Jako interakční činidlo byl v tomto případě použit propidium jodid (SUDA et PYŠEK 2010, SHAPIRO 2003).

### 3.4 Izolace DNA a analýza mikrosatelitů

Část odebraného materiálu určeného pro molekulární analýzy byla označena a skladována v mrazícím boxu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzorky byly před izolací DNA homogenizovány v oscilačním mlýnu (Retsch MM400) a DNA byla následně získána extrakcí pomocí DNEasy Plant Mini Kitu (výrobce QUIAGEN) dle přiloženého návodu. Čistota DNA byla kontrolována pomocí spektrofotometru. Izolovaná DNA byla zředěna na koncentraci  $10\text{ ng}/\mu\text{l}$  a taktéž skladována v mrazícím boxu při  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

PCR reakce byla provedena v celkovém objemu  $20\text{ }\mu\text{l}$ . Roztok obsahoval  $15\text{ ng}$  DNA, sadu primerů (viz dále) v objemu  $0,25\text{ }\mu\text{M}$  každého primeru,  $200\text{ }\mu\text{M}$  dNTP,  $2,5\text{ mM}$   $\text{MgCl}_2$  a bufferu PCR multiplex mix s polymerázou (ThermoFisher Scientific).

Pro analýzu bylo celkem bylo obdobně jako v předchozích studiích (KUNEŠ et al. 2019) vybráno 12 polymorfních lokusů (KULJU et al. 2004, TSUDA et al. 2009, TSUDA et al. 2009). Primery byly označeny barevnými sondami (NED, PET, VIC, 6-FAM) a optimalizovány do dvou multiplexů pro následnou analýzu pomocí sekvenátoru (Genetic Analyser 3500, Applied Biosystems).

PCR program dle Kulju et al. (2004) byl nastaven na následující program: iniciační krok (5 minut,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), následně cyklus ( $30\times$ ) – denaturace ( $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 60 sekund), annealing ( $57\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 75 sekund), elongace ( $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 150 sekund), následovaný finální elongací ( $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 10 minut).

PCR program dle Tsuda et al. (2009) byl nastaven na následující program: cyklus (30 ×) – denaturace (95 °C, 30 sekund), annealing (55 °C, 30 sekund), elongace (72 °C, 45 sekund), následovaný finální elongací (72 °C, 7 minut).

Finální PCR produkt byl doplněn o roztok formamidu s DNA standardem GeneTrace500 (dle návodu výrobce, Carolina Biolabs) a následně zanalyzován pomocí přístroje Genetic Analyser 3500. Surová data (ve formátu \*.fsa) byla analyzována pomocí software GeneMarker 1.80 (SoftGenetics).

### 3.5 Statistická analýza dat

Pro analýzu velikosti genomu (respektive 1Cx hodnot; GREILHUBER et al. 2005) byly nejprve tyto hodnoty vypočítány jako celková velikost genomu v pg/počet sad chromozomů jedince. Rozdíl v těchto hodnotách byl následně mezi vzorky diploidních bříz (*B. pendula*) a vzorky bříz z okruhu *B. pubescens* (tetraploidní jedinci) porovnáván pomocí t-testu, jelikož data splňovala všechny podmínky pro jeho použití. Normalita dat byla testována pomocí Shapiro-Wilkova testu, shoda rozptylů pak pomocí Fisherova testu.

Výpočet při porovnání velikosti genomu pomocí 1Cx hodnot:

$$\frac{\text{celková velikost genomu v pg}}{\text{počet sad chromozomů jedince}}$$

Proporce sdílených alel byla pro každý lokus vypočítána jako počet alel zjištěných v obou skupinách (tzn. u diploidů i tetraploidů)/celkový počet alel zjištěných na daném lokusu.

Genetická variabilita vzorků byla analyzována pomocí software STRUCTURE (EARL et al. 2012) zvláště pro diploidní a tetraploidní jedince po předchozím zjištění nepravděpodobnějšího počtu skupin v datasetu pomocí software STRUCTURE HARVESTER (EARL et al. 2012). Analýza byla provedena pro  $K = 1-4$  v případě diploidů a  $K = 1-5$  v případě tetraploidů. Pro každý případ bylo provedeno 20 analýz (běhů) přičemž

při každém bylo nastaveno 100 000 iniciálních iterací, které nejsou součástí výsledků (burn-in) a 100 000 následovných. Surová data ze softwaru STRUCTURE (EARL et al. 2012) byla následně analyzována v software CLUMPP (EARL et al. 2012). Příslušné diagramy byly vytvořeny v software DISTRUCT (ROSENBERG 2004).

Genetická variabilita mezi všemi odebranými vzorky byla analyzována pomocí analýzy hlavních koordinát (PCoA). Genetické vzdálenosti mezi jedinci byly vypočítány dle metody (BRUVO et al. 2004).

Veškeré výpočty s výjimkou analýzy v software STRUCTURE byly provedeny ve statistickém prostředí R a příslušného balíku “polysat” (CLARK 2011), grafické výstupy byly provedeny pomocí balíku “ggplot2” (WICKHAM 2016).

## 4 Výsledky

### 4.1 Shrnutí výsledků morfologické analýzy

Klasifikační funkce z bakalářské práce (ŠTĚTINOVÁ 2018) vykazují vysokou úspěšnost v odlišení diploidních a tetraploidních druhů bříz pomocí morfometrických parametrů. Klasifikační funkce obsahuje 3 vstupní parametry, kterými jsou: šířka čepele v horní  $\frac{1}{4}$ , úhel první žilky, počet zoubků mezi 3. a 4. žilkou. Na základě těchto parametrů byla vypočítána spolehlivost klasifikační funkce navržené LINDOU et al. (2017). Následně byly vypočítány ještě dvě klasifikační funkce, a to funkce ATKINSONA & CODLINGA (1986) a funkce EŠNEROVÉ et al. (2012). U těchto tří funkcí byla stanovena úspěšnost odlišení diploidních a tetraploidních zástupců bříz. Funkce LINDY et al. (2017) vykazovala nejvyšší úspěšnost určení ploidy, a to 82 %. Funkce ATKINSONA & CODLINGA (1986) vykazovala 77 % úspěšnost a 50 % úspěšnost měla funkce navržená EŠNEROVOU et al. (2012).

*Tabulka 3 - Porovnání spolehlivosti klasifikačních funkcí.*

<i>Oblast</i>	<i>Linda et al.</i>	<i>Akt. et Cod.</i>	<i>Ešnerová et al.</i>	<i>Počet vzorků</i>
<i>Třeboň</i>	82 %	77 %	50 %	104

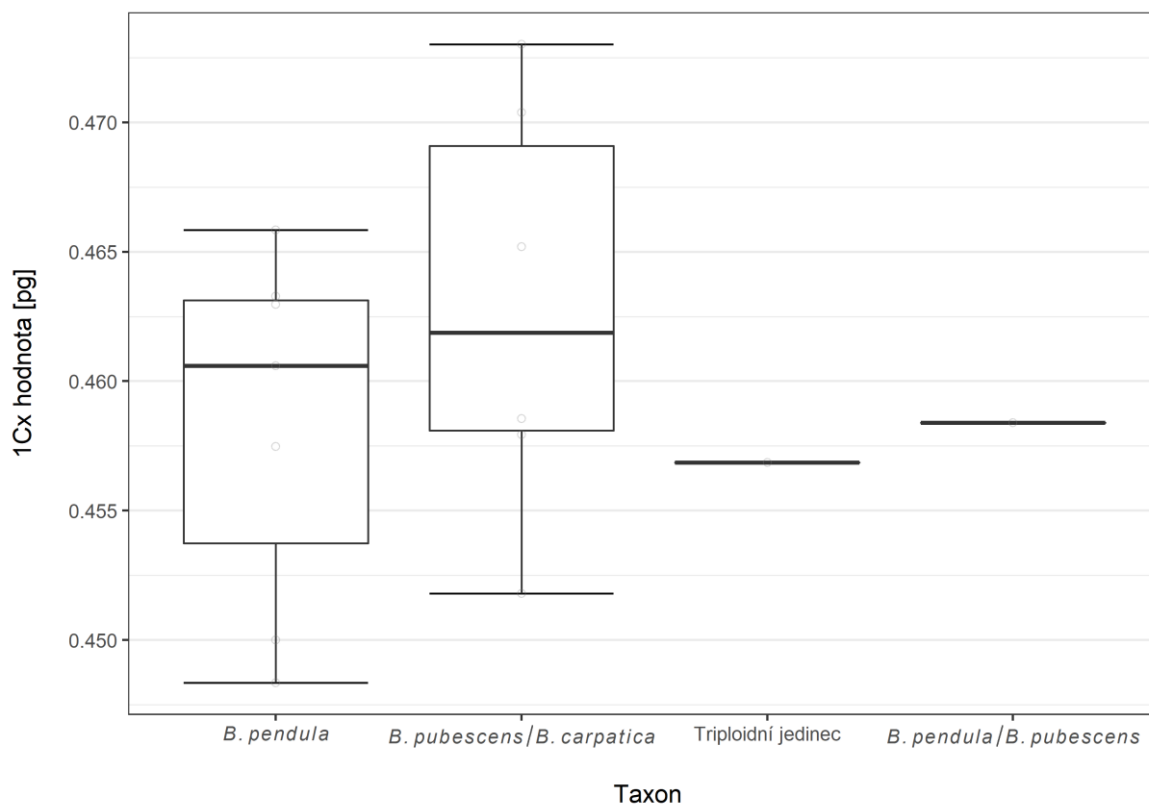
Následně byla provedena analýza hlavních komponent, která vykazuje možnost využití listových parametrů pro odlišení ploidy jednotlivých bříz. Tato analýza byla provedena obdobně jako ve studiích EŠNEROVÉ et al. (2012) a LINDY et al. (2017).

Rozlišení jednotlivých druhů dle morfometrických parametrů je množné, avšak je nezbytné vybrat nejvhodnější listové parametry. Mezi tyto parametry patří: délka čepele, šířka čepele, úhel špičky listu, úhel báze čepele, úhel vroubení listu, délka řapíku, vzdálenost nejširšího místa čepele od báze, počet postranních žilek, vzdálenost mezi zuby 3. a 4. žilky, šířka čepele listu v horní  $\frac{1}{4}$  a vzdálenost 4. žilky od čepele. Tyto parametry jsou považované za statisticky významné.



## 4.2 Analýza velikosti genomu

Velikost genomu byla porovnáována pomocí tzv. 1Cx hodnot (vypočítaných jako celková velikost genomu v pg/počet sad chromozomů jedince; GREILHUBER et al. 2005). Rozdíly mezi velikostí genomu vzorků břízy bělokoré a vzorků bříz z okruhu břízy pýřité byly testovány pomocí t-testu, který neukázal významný rozdíl v těchto hodnotách ( $t=1,08$ ;  $df=11$ ,  $p=0,3$ ). Grafické znázornění výsledků analýzy velikosti genomu viz Obr. 3



**Obrázek 3** - Grafické znázornění výsledků analýzy velikosti genomu. Spodní vous značí nejnižší pozorování vyšší nebo rovno spodnímu kvartilu (tj. spodní okraj krabice) -  $1,5 \times$  mezikvartilové rozpětí.

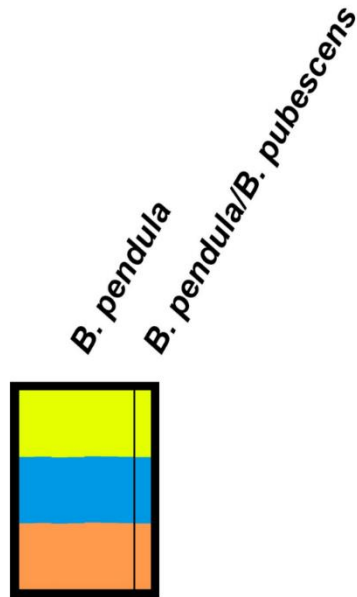
### 4.3 Analýza mikrosatelitů

Jako první analýza v rámci analýzy mikrosatelitů byla provedena analýza proporce sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními druhy, pro zjištění, zda jsou tetraploidní taxony autopolyploidního nebo polyploidního původu. Celkem bylo zaznamenáno 86 alel, z nichž se 28 (32,6 %) vyskytovalo zároveň u diploidních i tetraploidních taxonů.

*Tabulka 4 - Počet jedinečných alel nalezených na diploidních a tetraploidních jedincích. Počet společných alel mezi dvěma úrovněmi ploidie a celkový počet alel ve dvanácti mikrosatelitních lokusech použitých ke genotypizaci 26 vzorků.*

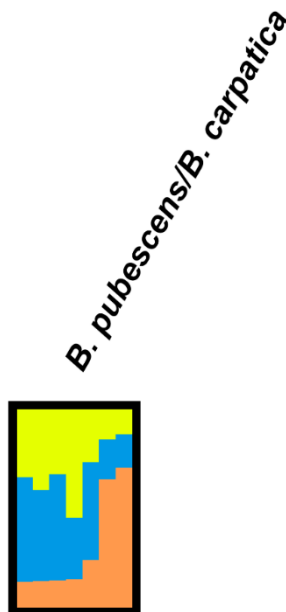
Lokus	Počet sdílených alel	Celkový počet alel
<i>LocL31</i>	2	7
<i>LocL54</i>	2	12
<i>LocL78</i>	0	0
<i>LocL022</i>	0	8
<i>LocL71</i>	3	6
<i>LocBema7</i>	2	4
<i>cL012</i>	3	10
<i>Bema1</i>	2	4
<i>Bema11</i>	3	4
<i>L27</i>	4	13
<i>Bep13</i>	4	9
<i>L34</i>	3	9
$\Sigma$	<b>28</b>	<b>86</b>

Pomocí softwaru STRUCTURE a STRUCTURE HARVESTER (EARL et al. 2012) byl nejprve zjištěn nejpravděpodobnější počet skupin v datech zvláště pro diploidní a tetraploidní jedince. V případě diploidů i tetraploidů byly programem STRUCTURE HARVESTER (EARL et al. 2012) určeny 3 skupiny jako nejpravděpodobnější rozdělení datasetu. Výsledky analýzy v programu STRUCTURE (EARL et al. 2012), následovaných analýzou v software CLUMPP (EARL et al. 2012) ukazují na téměř nulovou variabilitu mezi diploidními jedinci (Obr. 4).



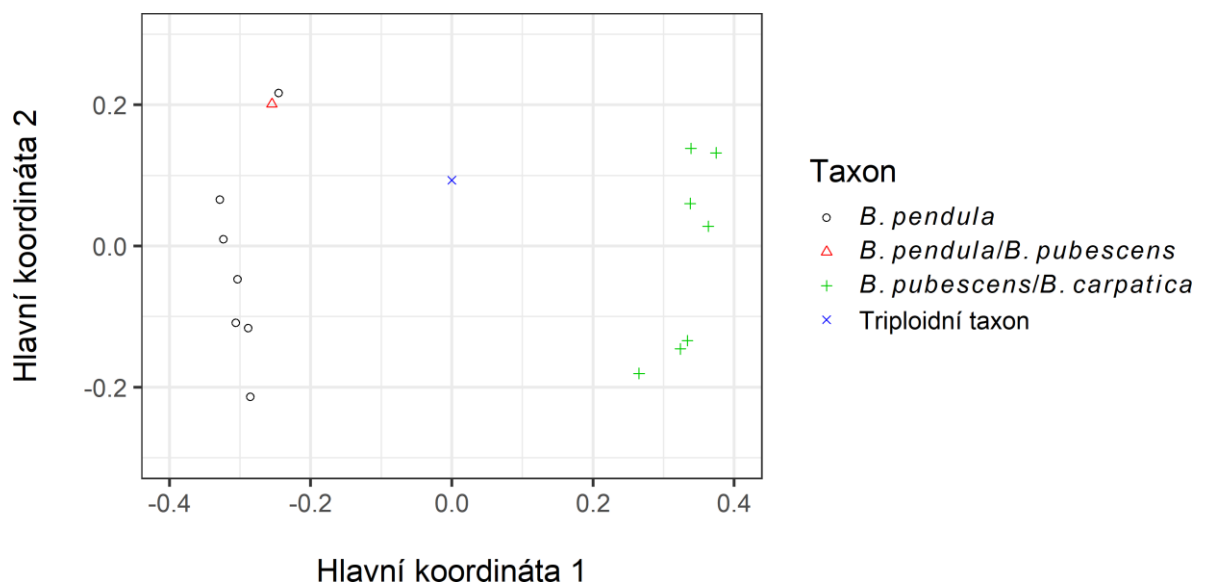
**Obrázek 4** - Výsledek shlukové analýzy pomocí softwaru STRUCTURE ( $K = 3$ ) u diploidních jedinců rodu *Betula* vyskytující se na území Třeboňka. Každý sloupec grafu znázorňuje jednoho jedince. Barvami je zde vyznačena příslušnost k jednotlivých genetických „skupinám“.

V případě tetraploidních jedinců (Obr. 5) je variabilita podobná jako v případě diploidních vzorků. Vzorky TR-CB-1 a TR-CB-13 (v pravé části diagramu na Obr. 5) vykazují nepatrnou odlišnost.



**Obrázek 5** - Výsledek shlukové analýzy pomocí softwaru STRUCTURE ( $K = 3$ ) u tetraploidních jedinců rodu *Betula* vyskytující se na území Třeboňka. Každý sloupec grafu znázorňuje jednoho jedince. Barvami je zde vyznačena příslušnost k jednotlivých genetických „skupinám“.

PCoA diagram ukazuje rozdělení jedinců dle ploidie (diploidní jedinci vlevo, tetraploidní vpravo) a dále relativně kompaktní shluky těchto dvou skupin. V rámci tetraploidních jedinců (*B. pubescens*/*B. carpatica*) byla pozorována lehká shlukovitost dat v PCoA diagramu. Pozorovaný triploidní jedinec je dle očekávání umístěn ve středu diagramu.



**Obrázek 6** - Analýza hlavních koordinát (PCoA) genetických vzdáleností dle BRUVO et al. 2004 (EARL et al. 2012). rodu *Betula* na území Třeboňska.

## 5 Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo posouzení morfologické a zejména pak genetické variability diploidních a tetraploidních druhů bříz na Třeboňsku pomocí molekulárních analýz. Díky těmto analýzám lze spolehlivě stanovit genetickou variabilitu odebraných vzorků.

Zjištění druhu pomocí morfometrických parametrů v terénních podmínkách lze uskutečnit, avšak pouze pro určité druhy. Je možné odlišit břízu bělokorou a břízu pýřitou na základě vybraných parametrů, které jsou nejspolehlivější (viz výsledky morfologické variability). Úroveň spolehlivosti určení dle klasifikační funkce Lindy et al. je až 82 %. Nicméně nelze spolehlivě identifikovat drobnější taxony.

Variabilita rodu *Betula* je velice rozmanitá a obsahuje velké množství drobných těžko determinovatelných taxonů. Je tomu tak zejména díky časté hybridizaci ve volné přírodě. Tato variabilita je taktéž zapříčiněna populační variabilitou taxonů. Diploidní zástupci bříz vykazují menší variabilitu v morfologických a molekulárních kritériích než tetraploidní druhy. U břízy bělokoré a břízy pýřité lze pozorovat interpecifické křížení, které je zjevné i z výše uvedených výsledků. Systematika tetraploidních druhů a hybridů je značně složitější (KUNEŠ et al 2019).

Zejména pak bříza karpatská (*B. carpatica* W. et K.) je velmi diskutovaným druhem v rámci taxonomického zařazení. Jako samostatný druh byla tato bříza začleněna do taxonomického systému v 19. století ve čtvrtém vydání *Plantarum Caroli Linné Species Plantarum*. Nicméně již v 18. století vyvstala otázka od Friedricha Wimmera, zda není bříza karpatská pouze forma břízy pýřité (*B. pubescens* Ehrh.), která se vyskytuje v horských oblastech. Toto označení břízy karpatské jako samostatného druhu vyvstává z morfologických vlastností jednoho jediného vzorku z roku 1805 (KUNEŠ et al. 2019). V České republice byla bříza karpatská popsána jako druh SÝKOROU (1983) a HEJNÝM et SLAVÍKEM (1990). Nejnovější botanický klíč taktéž popisuje břízu karpatskou, nicméně jako poddruh břízy pýřité. Avšak existují studie, které tento druh vůbec nezmiňují. Dle studie KUNEŠE et al. (2019) nelze brát břízu karpatskou jako samostatný druh. Výsledky této studie neprokázaly morfologické znaky, které by od sebe dostatečně odlišovaly tetraploidní jedince (KUNEŠ et al. 2019).

Lokality pro sběr vzorků byly vybírány na základě konzultace s pracovníkem CHKO Třeboňsko, kterým byly doporučeny na základě přirozeného výskytu bříz. Celkem byli vybrány 3 území, na kterých se přirozeně vyskytuje bříza karpatská. Z výše uvedených výsledků však molekulární analýza prokázala, že se nejedná o břízu karpatskou jako druh. Vzorky, které zde byly sebrány vykazovaly v terénních podmínkách znaky typické pro břízu pýřitou, nicméně molekulární analýza prokázala genetickou shodu s břízou karpatskou, která je diskutabilní s ohledem na taxonomické zařazení.

Pomocí průtokové cytometrie byla určena ploidie 26 nasbíraných jedinců ze třech lokalit (PR Rašeliniště Pele, NPR Žofinka a NPR Červené Blato). Z celkového počtu 26 jedinců bylo zjištěno 12 diploidních, 13 tetraploidních a 1 triploidní jedinec, který pochází z lokality NPR Červené Blato.

Zjištění velikosti genomu vzorků břízy bělokoré a vzorků bříz z okruhu břízy pýřité byla porovnávána pomocí 1Cx hodnot (výpočet viz níže) a následně se tyto zjištěné hodnoty porovnávaly pomocí t-testu, který nepředstavil významný rozdíl v těchto hodnotách.

Analýza proporce sdílených alel mezi diploidními a tetraploidními druhy našla z celkového počtu 86 alel 28 alel, které se zároveň vyskytovaly jak u diploidních, tak i u tetraploidních taxonů. Touto analýza přinesla taktéž zjištění, že tetraploidní jedinci jsou pravděpodobně allopolyploidního původu. Za pomoci softwaru STRUCTURE a STRUCTURE HARVESTER (EARL et al. 2012) byl zjištěn očekávaný počet skupin (3 nejpravděpodobnější skupiny jako rozdělení datasetu). Tato analýza byla provedena zvlášť pro diploidní a tetraploidní taxony. Následné výsledky byly dále analyzovány v softwaru CLUMPP (EARL et al. 2012). Variabilita diploidních jedinců se ukázala jako téměř nulová. V případě tetraploidních je výsledná analýza obdobná, nicméně dva jedinci vypovídají o nepatrné variabilitě.

Taktéž mírnou variabilitu mezi tetraploidními jedinci prokázal PCoA diagram, a to konkrétně u dvou zkoumaných vzorků. U diploidních jedinců byla prokázána téměř nulová variabilita stejně, jako u předchozí analýzy. Triploidní jedinec se v tomto případě vyskytoval přesně uprostřed mezi diploidních a tetraploidních jedinců.

## 6 Závěr

Tato práce se zabývá morfologickou, zejména pak genetickou variabilitou bříz na Třeboňsku, která byla zjišťována pomocí výstupů z průtokové cytometrie a molekulárních analýz. Vzorky pro studii pochází ze 3 lokalit, které byly vybrány na základě přirozeného výskytu *B. carpatica* na těchto lokalitách.

Důraz byl kladen na genetickou variabilitu tetraploidních jedinců, konkrétně pak na odlišení *B. pubescens* a *B. carpatica*. Na základě molekulárních analýz u tetraploidních jedinců byla zjištěna mírná variabilita mezi jedinci. Tato variabilita je pravděpodobně zapříčiněna populační variabilitou taxonů, nicméně na základě použitých genetických marker nebylo možné od sebe tyto dva druhy spolehlivě odlišit. Diploidní jedinci v proběhlé studii prokázali téměř nulovou genetickou variabilitu.

Taxonomické zařazení *B. carpatica* je velice diskutabilní. Mnohými autory, zejména v české literatuře je považována *B. carpatica* za samostatný druh, avšak existují autoři, kteří ji jako druh nezmiňují. Chybné označení této břízy jako druhu vyplývá z morfologických vlastností jednoho jediného vzorku z roku 1805. Dalším důvodem pro nejasné zařazení tohoto druhu je častá hybridizace a zpětná introgrese mezi druhy, která způsobuje vznik drobných často velice obtížně determinovatelných druhů. Tato hybridizace probíhá především mezi místními populacemi, proto je nutné

## 7 Reference

- ALBRECHT J., 2003: Chráněná území ČR VII. Českobudějovicko. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR – AOPK ČR, EkoCentrum. Praha: 807 s.
- ATKINSON, M. D. *Betula pendula* Roth (*B. verrucosa* Ehrh.) and *B. pubescens* Ehrh. *Journal of Ecology*, 1992, 80.4: 837-870.
- ATKINSON, M. D.; CODLING, A. N. A reliable method for distinguishing between *Betula pendula* and *B. pubescens*. *Watsonia* (UK), 1986.
- ASHBURNER, Kenneth; MCALLISTER, Hugh A.; HAGUE, Josephine. *The genus Betula: a taxonomic revision of birches*. London: Kew publishing, 2013.
- BALCAR, V., et al. Some experience with European birch (*Betula pendula*) and Carpathian birch (*Betula carpatica*) planted on the ridge part of Jizerske hory Mts. *Journal of Forest Science-UZPI* (Czech Republic), 2001.
- BRUVO, Ružica, et al. A simple method for the calculation of microsatellite genotype distances irrespective of ploidy level. *Molecular ecology*, 2004, 13.7: 2101-2106.
- EŠNEROVÁ, J., et al. Morfologická variabilita rodu bříza (*Betula* L.) v Krkonoších se zaměřením na tetraploidní zástupce. *Zprávy lesnického výzkumu*, 2012, 57.2: 112-125.
- FERKL J., *Lesy v Krušných horách*. In: ŠIŠÁK L., Stýblo, J. (eds.): *Ekonomické aspekty rekonstrukce náhradních porostů v Krušných horách*. ČZU, Fakulta lesnická a environmentální, Praha, 2006, 4–6 s.
- FURLOW, John J. The genera of *Betulaceae* in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 1990, 71.1: 1-67.
- GILL, J. A.; DAVY, Anthony J. Variation and polyploidy within lowland populations of the *Betula pendula*/*B. pubescens* complex. *New Phytologist*, 1983, 94.3: 433-451.
- GREILHUBER, Johann, et al. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Annals of botany*, 2005, 95.1: 255-260.
- GRIMM, Guido W.; RENNER, Susanne S. Harvesting *Betulaceae* sequences from GenBank to generate a new chronogram for the family. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2013, 172.4: 465-477.
- HIEKE, K. *Praktická dendrologie* (1). Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1978. 533 s.
- HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. *Květena České republiky* 2. Praha: Academia, 1990. 540 s.



HYNYNEN, J., et al. Silviculture of birch (*Betula pendula* Roth and *Betula pubescens* Ehrh.) in northern Europe. *Forestry*, 2010, 83.1: 103-119.

JÄRVINEN, Pia, et al. Phylogenetic relationships of *Betula* species (Betulaceae) based on nuclear ADH and chloroplast matK sequences. *American Journal of Botany*, 2004, 91.11: 1834-1845.

KACÁLEK, Dušan; BARTOŠ, Jan. Problematika zalesňování neproduktivních zemědělských pozemků v České republice. Současné trendy v pěstování lesů. Výroční mezinárodní seminář pracovníků zabývajících se pěstováním lesů v České a Slovenské republice. Kostelec nad Černými lesy, 2002, 16: 39-45.

KAMENSKÝ, M., ŠTEFANČÍK, I., Breza jako přípravná dřevina v hospodářských lesoch? *Bříza – strom roku*, 2010, 66 – 71.

KARLÍK, Petr, Taxonomická problematika bříz *Betula* L. v České republice se zvláštním zřetelem na drobné taxony z okruhu břízy pýřité *Betula pubescens* AGG. *Bříza – strom roku*, 2010, 61–65 s.

KARLÍK, Petr et al., Problematika určování druhů bříz *Betula* L. ve světle průtokové cytometrie. *Bříza–strom roku*, 2010, 51-56.

KOBLÍŽEK J., Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků. 2. rozšíř. vyd. Tišnov: Sursum, 2006, 551 s

KOUBA J., ZAHRADNÍK D. 2010: Vývoj porostů bříz v ČR a jeho změny v čase. *Bříza – strom roku*, 2010, 9 – 19.

KULA, E. Bříza a její význam pro trvalý rozvoj lesa v imisních oblastech. Kostelec nad Černými lesy. Lesnická práce, sro, 2011, 276.

KULJU, K. K. M.; PEKKINEN, M.; VARVIO, S. Twenty-three microsatellite primer pairs for *Betula pendula* (Betulaceae). *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4.3: 471-473.

KUNEŠ, I.; BALCAR, V.; ZAHRADNÍK, D. Influence of a planting hole application of dolomitic limestone powder and basalt grit on the growth of Carpathian birch (*Betula carpatica* W. et K.) and soil chemistry in the air-polluted Jizerské hory Mts. *Journal of Forest Science*, 2007, 53.11: 505-515.

KUNEŠ, Ivan, et al. Is *Betula carpatica* genetically distinctive? A morphometric, cytometric and molecular study of birches in the Bohemian Massif with a focus on Carpathian birch. *PloS one*, 2019, 14.10.

LINDA, Rostislav, et al. Morphological variability between diploid and tetraploid taxa of the genus *Betula* L. in the Czech Republic. *J For Sci*, 2017, 63.12: 531-7.

LI, Jianhua; SHOUP, Suzanne; CHEN, Zhiduan. Phylogenetic relationships of diploid species of *Betula* (Betulaceae) inferred from DNA sequences of nuclear nitrate reductase. *Systematic Botany*, 2007, 32.2: 357-365.

LI, Jianhua; SHOUP, Suzanne; CHEN, Zhiduan. Phylogenetics of *Betula* (Betulaceae) inferred from sequences of nuclear ribosomal DNA. *Rhodora*, 2005, 69-86.

MARTINÍK, ANTONÍN. Obnova lesa s jíjí břízou–zkušenosti ze smrkového porostu po větrné kalamitě. *Zprávy lesnického výzkumu*, 2014, 59.1: 35-39.

MCALLISTER, H.; ASHBURNER, K. *Betula megrellica*. *Curtis's Botanical Magazine*, 2007, 24.3.

SHAPIRO, Howard M. *Practical flow cytometry*. John Wiley & Sons, 2005.

SCHENK, Martijn F., et al. Phylogenetic relationships in *Betula* (Betulaceae) based on AFLP markers. *Tree Genetics & Genomes*, 2008, 4.4: 911.

SIMON, J., BUČEK, A., Bříza jako dominantní druh sukcesních stádií lesa rekultivovaných území po povrchové těžbě uhlí. *Bříza – strom roku*, 2010, 114–117 s.

SLAVÍK, Bohumil (ed.). *Květena České republiky*. Academia, 1990.

SLODIČÁK M. et al., MELIORAČNÍ A ZPEVNŮJÍCÍ FUNKCE LESNÍCH DŘEVIN V CHS BOROVÉHO A SMRKOVÉHO HOSPODÁŘSTVÍ., *Lesnický průvodce*, Strnady, 2017, 36 s.

SOUKUP F., PEŠKOVÁ V., LANDA J., Mykologické poměry na zalesněných zemědělských půdách. *Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti*, v. v. i., Strnady, 2008, 1-2.

SUDA, Jan, et al. Flow cytometry in botanical research. *Preslia*, 2010, 82.1: 1-163.

SYKORA, T., Taxonomie a rozsireni briz okruhu *Betula alba* v Ceskem masivu. *Zpravy Ceskoslovenske botanicke spolecnosti*, 1983.

ŠTĚTINOVÁ M., Morfologická variabilita bříz na Třeboňsku, *Bakalářská práce*, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2018.

THÓRSSON, Æ. Th, et al. Morphological variation among *Betula nana* (diploid), *B. pubescens* (tetraploid) and their triploid hybrids in Iceland. *Annals of botany*, 2007, 99.6: 1183-1193.

TSUDA, Yoshiaki, et al. Development of 14 EST-SSRs for *Betula maximowicziana* and their applicability to related species. *Conservation genetics*, 2009, 10.3: 661-664.

TSUDA, Yoshiaki, et al. Development of 11 EST-SSRs for Japanese white birch, *Betula platyphylla* var. *japonica* and their transferability to related species. *Conservation genetics*, 2009, 10.5: 1

ZAKOPAL V., Význam pomocných dřevin pro lesní kultury. *Lesnická práce* 39, 1963, 80-83 s.

ZAKOPAL V., Přínos břízy pro zalesnění našich kalamitních holin. *Lesnická práce* 31, 1958, 487–491 s.

ZEIDLER A., Vlastnosti dřeva břízy. *Bříza – strom roku*, 2010, 41–45.

WILD, Jan, et al. Plant distribution data for the Czech Republic integrated in the Pladias database. *Preslia*, 2019, 91: 1-24.

WOODWORTH, Robert H. Cytological studies in the Betulaceae. I. *Betula*. *Botanical Gazette*, 1929, 87.3: 331-363. Dostupné z: <http://pladias.cz>

## **Použitý software**

CLARK, Lindsay V.; JASIENIUK, Marie. POLYSAT: an R package for polyploid microsatellite analysis. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11.3: 562-566.

WICKHAM, Hadley. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer, 2016.

EARL, Dent A., et al. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 2012, 4.2: 359-361.

ROSENBERG, Noah A. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular ecology notes*, 2004, 4.1: 137-138.

## Seznam obrázků

Obrázek 1– Habitat tetraploidního (vlevo) a diploidního (vpravo) jedince rodu bříza na území NPR Červené Blato. ....	11
Obrázek 2 - Mapa CHKO Třeboňsko z vyznačenými lokalitami. Časopis Ochrana přírody 4/2014. Agentura ochrany přírody (AOPK). [online]. [b.r.] [cit. 2014-04]. Dostupné z: <a href="http://www.casopis.ochranaprirody.cz/z-nasi-prirody/chko-trebonsko/">http://www.casopis.ochranaprirody.cz/z-nasi-prirody/chko-trebonsko/</a> .....	24
Obrázek 3 - Grafické znázornění výsledků analýzy velikosti genomu. ....	33
Obrázek 4 - Výsledek shlukové analýzy pomocí softwaru STRUCTURE (K = 3) u diploidních jedinců rodu <i>Betula</i> vyskytující se na území Třeboňka. Každý sloupec grafu znázorňuje jednoho jedince. Barvami je zde vyznačena příslušnost k jednotlivých genetických „skupinám“. ....	35
Obrázek 5- Výsledek shlukové analýzy pomocí softwaru STRUCTURE (K = 3) u tetraploidních jedinců rodu <i>Betula</i> vyskytující se na území Třeboňka. Každý sloupec grafu znázorňuje jednoho jedince. Barvami je zde vyznačena příslušnost k jednotlivých genetických „skupinám“. ....	35
Obrázek 6 - Analýza hlavních koordinát (PCoA) genetických vzdáleností dle BRUVO et al. 2004 (EARL et al. 2012). rodu <i>Betula</i> na území Třeboňska. ....	36

## Seznam tabulek

Tabulka 1 - Taxonomické zařazení rodu <i>Betula</i> (Hejný & Slavík, 1990, 1997) .....	12
Tabulka 2 - Seznam odebraných jedinců v rámci Třeboňska s vyhodnoceným stupněm ploidie pomocí průtokové cytometrie. ....	25
Tabulka 3 - Porovnání spolehlivosti klasifikačních funkcí. ....	32
Tabulka 4 - Počet jedinečných alel nalezených na diploidních a tetraploidních jedincích. Počet společných alel mezi dvěma úrovněmi ploidie a celkový počet alel ve dvanácti mikrosatelitních lokusech použitých ke genotypizaci 26 vzorků. ....	34

## 8 Přílohy

### Seznam obrazových příloh

Foto 1 – Tetraploidní zástupci bříz, u kterých byla prokázána genetická variabilita. [Foto: R. Linda] .....	46
Foto 2 - Triploidní zástupce na území NPR Červené Blato. [Foto: R. Linda] .....	47
Foto 3 - Diploidní zástupce na území NPR Červené Blato. ....	47

### Seznam mapových příloh

Mapa 1 – Rozmístění diploidních jedinců na území PR Rašeliniště Pele a zasazení do krajiny. ....	48
Mapa 2 – Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců na území NPR Žofínka a zasazení do krajiny.....	49
Mapa 3 – Rozmístění diploidních, tetraploidních a triploidního jedince na území NOR Červené Blato. ....	50
Mapa 4 – Umístění lokalit v rámci Jihočeského kraje.....	51

## 8.1 Obrazová část

### 8.1.1 Tetraploidní zástupci



*Foto 1 – Tetraploidní zástupci bříz, u kterých byla prokázána genetická variabilita. [Foto: R. Linda]*



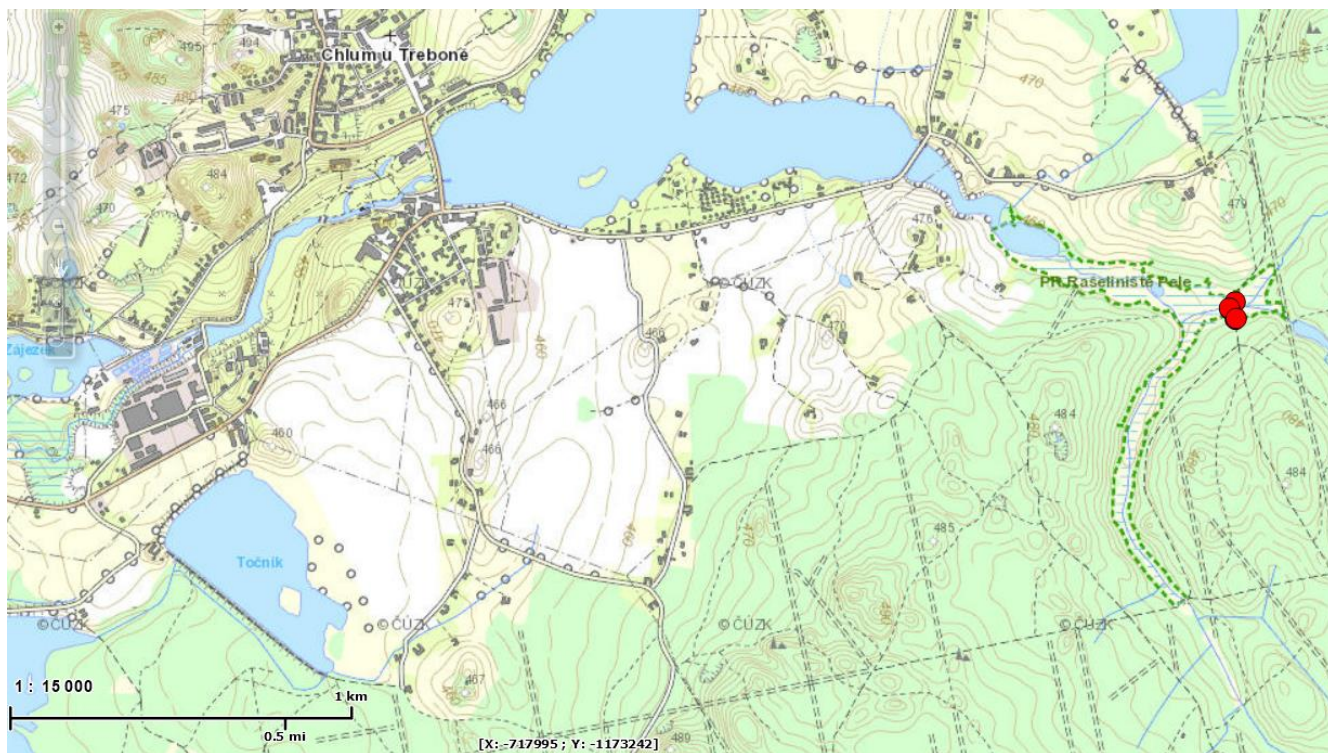
*Foto 3 - Diploidní zástupce na území NPR Červené Blato.  
[Foto: R. Linda]*



*Foto 2 - Triploidní zástupce na území NPR Červené Blato.  
[Foto: R. Linda]*

## 8.2 Mapová část

### Umístění diploidních jedinců na území PR Rašelinště Pele



*Mapa 1 – Rozmístění diploidních jedinců na území PR Rašelinště Pele a zasazení do krajiny.*

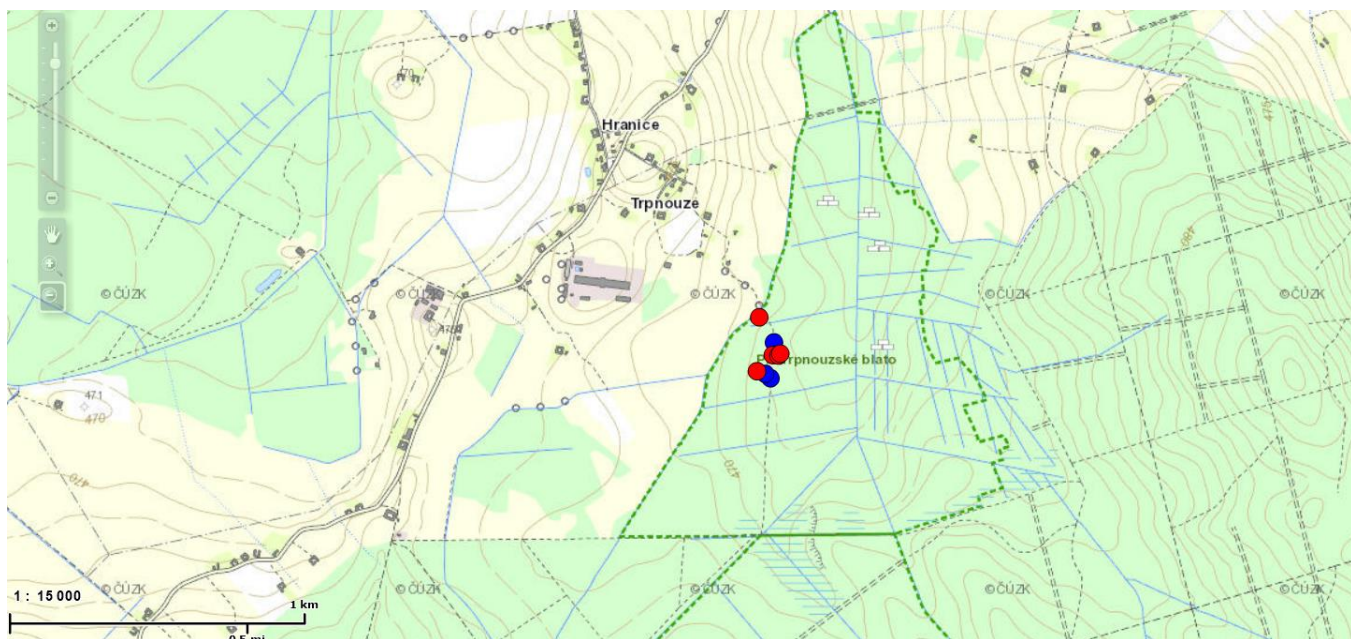
#### Legenda

● Diploidní zástupce bříz





## Umístění diploidních a tetraploidních jedinců na území NPR Žofinka



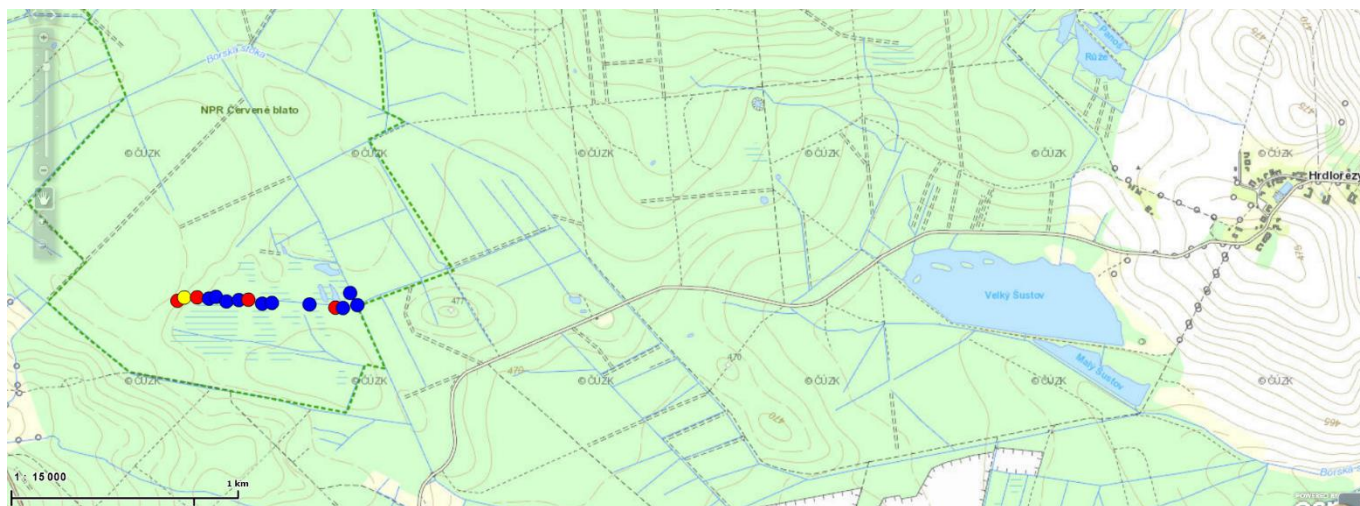
*Mapa 2 – Rozmístění diploidních a tetraploidních jedinců na území NPR Žofinka a zasazení do krajiny.*

### Legenda

- Diploidní zástupce bříz
- Tetraploidní zástupce bříz



## Umístění diploidních, tetraploidních a triploidního jedince na území NPR Červené Blato



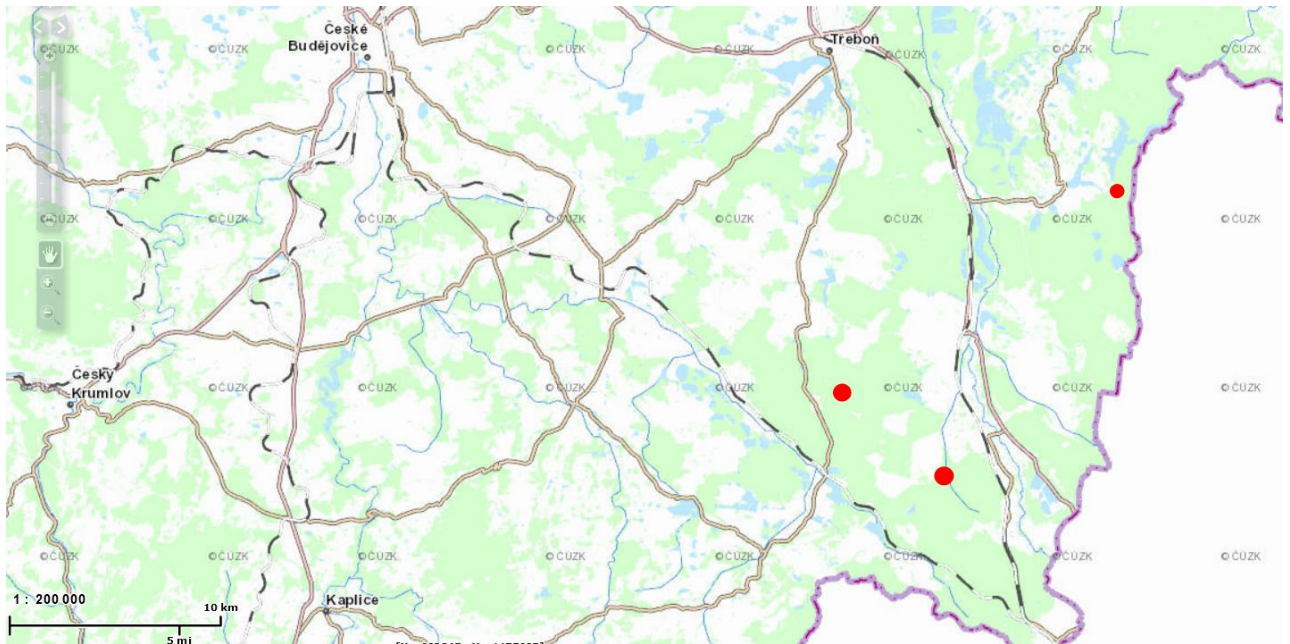
*Mapa 3 – Rozmístění diploidních, tetraploidních a triploidního jedince na území NPR Červené Blato.*

### Legenda

- Diploidní zástupce bříz
- Tetraploidní zástupce bříz
- Triploidní zástupce bříz



## Umístění lokalit v rámci Jihočeského kraje



*Mapa 4 – Umístění lokalit v rámci Jihočeského kraje.*

### Legenda

● Umístění lokalit v rámci Jihočeského kraje

