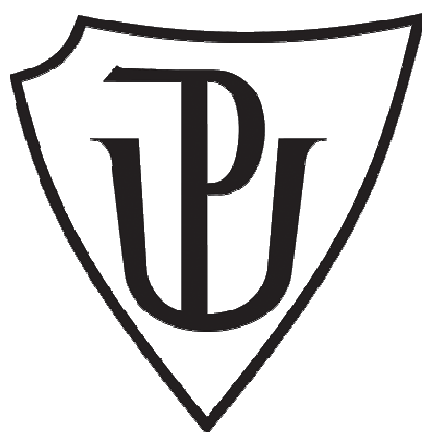


Univerzita Palackého

Přírodovědecké fakulta

Katedra botaniky



**Genetická variabilita původních populací
vrby šedé (*Salix elaeagnos*) v České republice**

Genetic variability of native populations of Rosemary willow (*Salix elaeagnos*)
in the Czech Republic

Diplomová práce

Lucie Klečková

N1501 Biologie, Botanika, Prezenční studium

Vedoucí práce: **RNDr. Radim J. Vašut, Ph.D.**

Květen 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucího práce. Uvedla jsem všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpala.

V Olomouci dne 7. 5. 2013

Podpis:

Poděkování:

Děkuji svému vedoucímu RNDr. Radimovi J. Vašutovi, Ph.D., že na mě dohlížel a pomáhal mi udržet směr. Děkuji Blance Brandové a Michalu Sochorovi, že mě zasvětili do tajů laboratorní analýzy. Velmi také děkuji RNDr. Luboši Majeskému a RNDr. Milanu Kitnerovi, Ph.D., že mě nikdy nenechali v laboratoři na holičkách, že mi vždy ochotně pomohli a poradili a měli svatou trpělivost s mými dotazy. Děkuji Prof. RNDr. Karlu Prachovi, Csc. za poskytnutí dendrochronologických dat a za úžasně rychlou komunikaci. Děkuji svému příteli Rost'ovi, že mě vždy včas vytáhl od psaní do hor a zachránil tak mé duševní zdraví. Děkuji svým skvělým spolubydlícím Verči, Romči a Cibulce, že vždy našly pochopení pro mé nálady. Nakonec a nejvíc děkuji své mamince, která mě vždy ve všem podporovala (a projevila takové nadšení pro vrby).

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Lucie Klečková

Název práce: Genetická variabilita původních populací vrby šedé (*Salix elaeagnos*) v ČR

Typ práce: diplomová práce

Pracoviště: Katedra botaniky PřF UP

Vedoucí práce: RNDr. Radim J. Vašut, Ph.D.

Rok obhajoby: 2013

Abstrakt: Vrba šedá (*Salix elaeagnos*) patří v České republice k silně ohroženým druhům. Svým výskytem se soustřeďuje pouze do oblasti Beskyd a Podbeskydské pahorkatiny a je vázána na vzácný biotop štěrkových náplavů. Tato práce se zabývala charakteristikou populací v Beskydech a stavem ohrožení druhu. Ke studiu genetické diverzity byly použity mikrosatelitní markery, ze sedmi testovaných se pro tři povedlo najít vhodné podmínky. Bylo analyzováno 71 vzorků ze čtyř populací (Morávka, Ostravice, Čeladenka a Lomná). Výsledky ukázaly nízkou klonalitu a vysokou genetickou variabilitu uvnitř populací. Analýza příbuznosti populací neprokázala žádnou výraznou strukturu v populacích, což může znamenat, že mezi populacemi dochází ke genetickému toku. Ovšem počet tří mikrosatelitů se bohužel ukázal jako nízký, pro potvrzení bude nezbytná další analýza s více mikrosatelity. Za největší ohrožení populací v Beskydech považují stav biotopů, které jsou fragmentovány a z velké části zničeny regulací řek. Pionýrské druhy, mezi které *Salix elaeagnos* patří, jsou ohroženy nedostatkem disturbancí a postupující sukcesí.

Klíčová slova: *Salix elaeagnos*, Moravsko-slezské Beskydy, štěrkové náplavy, mikrosatelity, conservation genetics

Počet stran: 57

Počet příloh: 1

Jazyk: čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Lucie Klečková

Title: Genetic variability of native populations of Rosemary willow (*Salix elaeagnos*) in the Czech Republic

Type of thesis: master thesis

Department: Department of Botany, Faculty of Science, Palacky University

Supervisor: RNDr. Radim J. Vašut, Ph.D.

The year of presentation: 2013

Abstract: Rosemary willow (*Salix elaeagnos*) belongs to endangered species of the Czech Republic. Its populations are solely concentrated in the Beskydy Mountains and its foothills and are confined to a rare biotope of gravel riverbeds. The thesis dealt with the characteristics of the natural population in the Beskydy region and the degree of threat that the species faces. Genetic diversity was studied by using microsatellite markers. The PCR conditions were optimized for three of the seven tested markers. In total, seventy-one samples collected from four different populations (i.e., populations of the Morávka, Lomná, Čeladenka, and Ostravice rivers) were analysed. My results have shown low clonality and high degree of genetic variation within individual populations. Unfortunately, I have not detected any significant population structure or relationship among populations. This might be explained either by a genetic flow among the populations, or more likely by insufficient number of used molecular markers giving biased results. Further confirmation of intra- and inter-population relationships requires a larger sample involving more microsatellites to confirm our findings. I consider the current state of biotopes the most serious threat to the Beskydy Mountains population as these biotopes are fragmented and to a great extent destroyed by the rivers having been regulated. The pioneering species, such as *Salix elaeagnos* are threatened by a low degree of disturbances and the ongoing succession.

Keywords: *Salix elaeagnos*, Moravsko-slezské Beskydy Mts., gravel riverbeds, microsatellites, conservation genetics

Number of pages: 57

Number of appendices: 1

Language: Czech

OBSAH

Seznam tabulek	3
Seznam obrázků	4
Seznam příloh	5
1. ÚVOD	6
1.1. Rod <i>Salix</i>	6
1.2. Vrby říčních náplavů	8
1.3. Příčiny ohrožení <i>Salix elaeagnos</i>	10
1.4. Genetický výzkum	11
1.4.1. Mikrosatelity	13
2. CÍLE PRÁCE	14
3. METODIKA	15
3.1. Charakteristika studovaného taxonu	15
3.1.1. Popis druhu	15
3.1.2. Ekologie a cenologie	15
3.1.3. Areál rozšíření <i>Salix elaeagnos</i>	16
3.2. Charakteristika rozšíření <i>Salix elaeagnos</i> v Beskydech	16
3.2.1. Doplnění údajů o rozšíření <i>Salix elaeagnos</i> v Beskydech	16
3.3. Věková struktura populací a poměr pohlaví	17
3.3.1. Věková struktura	17
3.3.2. Poměr pohlaví	17
3.4. Genetická struktura populací	17
3.4.1. Studované lokality	17
3.4.2. Izolace DNA	20
3.4.3. Polymerázová řetězová reakce (PCR)	21
3.4.4. Fragmentová analýza na polyakrylamidovém gelu	22
3.5. Ohrožení <i>Salix elaeagnos</i> a budoucnost populací v Beskydech	22
4. VÝSLEDKY	23
4.1. Rozšíření a stav populací	23
4.1.1. Biotop štěrkových náplavů v Beskydech – současný stav	23
4.1.2. Rozšíření <i>Salix elaeagnos</i> na beskydských řekách	26
4.2. Věková struktura populací a poměr pohlaví	30
4.2.1. Věková struktura	30

4.2.2. Poměr pohlaví	31
4.3. Genotypová variabilita populací	31
4.3.1. Vnitropopulační variabilita	34
4.3.2. Příbuznost populací.....	36
5. DISKUZE.....	37
5.1. Charakteristika rozšíření <i>Salix elaeagnos</i> v ČR	37
5.1.1. Současný stav beskydských populací	38
5.2. Genetická variabilita.....	43
5.3. Ohroženost druhu a možný management biotopů.....	46
6. ZÁVĚR.....	50
7. POUŽITÁ LITERATURA.....	51
Přílohy.....	57

Seznam tabulek

Tabulka 1. Testované mikrosatelity	32
Tabulka 2. Genotypy jedinců na studovaných lokalitách	32
Tabulka 3. Zjištěné alely v jednolitéch populacích	35
Tabulka 4. Klonalita v rámci populací.....	36

Seznam obrázků

Obrázek 1. Mapa populací <i>Salix elaeagnos</i> vybraných pro studium genetické variability.....	18
Obrázek 2. Ostravice - porovnání charakteru toku Ostravice v 19. století a v současnosti.....	24
Obrázek 3. Morávka - porovnání charakteru toku Morávky v 19. století a v současnosti	25
Obrázky 4–5. Biotopy <i>Salix elaeagnos</i> v povodí Olše	29
Obrázek 6. Mapa rozšíření <i>Salix elaeagnos</i> v Beskydech	30
Obrázek 7. Skan mikrosatelitu sx08	34
Obrázek 8. Skan mikrosatelitu sx19	35
Obrázek 9. Skan mikrosatelitu sx10	35
Obrázek 10. UPGMA dendrogram	36

Seznam příloh

Příloha 1: Fotografická dokumentace biotopů a jedinců *Salix elaeagnos*

1. ÚVOD

Vrba šedá (*Salix elaeagnos* Scop.) patří v České republice k ohroženým druhům rostlin. V Červeném seznamu je tento druh řazen do kategorie C2 - silně ohrožený druh (Grulich 2012). V rámci našeho státu se přirozeně vyskytuje pouze v oblasti Moravskoslezských Beskyd a v jejich podhůří, na šterkonosných řekách a potocích. Tímto územím zároveň prochází severní hranice jejího areálu, ohnisko rozšíření druhu leží v Alpách a Pyrenejích. Populace *Salix elaeagnos* jsou u nás na příhodných lokalitách poměrně početné, ovšem tyto lokality jsou pouhými fragmenty jejího dřívějšího rozšíření u nás. Hydrologický režim řek je navíc nevyhovující k dalšímu vývoji a udržení těchto populací. Vhodné podmínky pro růst semenáčků nastávají jenom jednou za mnoho let, a to po větších povodních, kdy dojde k přeskupení a otevření náplavů. V letech mezi takovými povodněmi je reprodukce druhu téměř nulová. Tyto skutečnosti mohou narušit genetickou variabilitu jednotlivých populací, které rostou na poměrně izolovaných lokalitách podél řek a je tedy otázkou, zda mezi nimi probíhá genový tok.

1.1. Rod *Salix*

Rod *Salix* je druhově bohatý a taxonomicky komplikovaný taxon z čeledi vrbovitě (*Salicaceae*). Čeleď *Salicaceae* je široce rozšířená skupina dvouděložných rostlin, do které patří opadavé dvoudomé dřeviny keřového až stromového vzrůstu s měkkým dřevem a jednoduchými, většinou celokrajnými listy ve střídavém (výjimečně vstřícném) postavení. Květenství má jehnědovité, značně redukované. Květy jsou jednopohlavné bez květních obalů. Plodem je jednopouzdrá tobolka. Drobná ochmýřená semena mají většinou krátkou klíčivost (Chmelař & Koblížek 1990). Čeleď *Salicaceae* bývala dříve klasifikována jako jediná čeleď řádu *Salicales* (Smejkal 1981), v současnosti byla prokázána příslušnost k řádu *Malpighiales* Martius spolu se sesterskou (a někdy nerozlišovanou) čeledí *Flacourtiaceae* (APG III 2009). V tomto pojetí má čeleď 55 rodů, z nichž 2 jsou významné pro Evropu – topol (*Populus* L.) a vrba (*Salix* L.). V minulosti se ještě uvažovalo v příbuznosti rodu *Salix* o dalších dvou rodech: *Chosenia* a *Toisusu*, ovšem vyčleňování těchto rodů z rodu *Salix* nebylo molekulárními daty podpořeno (Azuma et al. 2000, Chen et al. 2010).

Rod *Salix* zahrnuje dle různých autorů 300 – 600 druhů (Newsholme 1992) a patří tak k nejpočetnějším rodům čeledi *Salicaceae*. Rod *Salix* zahrnuje dvoudomé dřeviny různého vzrůstu, od plazivých keříků po statné stromy. Listy jsou jednoduché, krátce

řapíkaté a celokrajné. Nasedají na větvičku povětšinou případů střídavě. Palisty bývají přítomny a opadávají pozdě. Květenství je jehnědovité, květy jednopohlavné, samčí mají obvykle 2(-12) tyčinek, samičí parakarpní gyneceum je srostlé ze dvou plodolistů. Plodem je tobolka otevírající se dvěma chlopněmi. Pro vrby je typický mohutný, dobře vyvinutý kořenový systém (Chmelař & Koblížek 1990).

Centrem rozšíření rodu je Čína (cca 270 druhů) a Rusko (cca 120 druhů). Celkem 103 druhů se nachází v Severní Americe a pouze 65 druhů v Evropě (Hörandl et al. 2002). Vrby se vykytují také v Japonsku, Africe, na Středním východě, v Indii, Centrální i Jižní Americe. Na tichomořských ostrovech v Oceánii jsou pouze introdukované druhy, některé zplaněly.

Rod *Salix* je tradičně dělen do tří podrodů: *Salix* subgen. *Salix*, *Salix* subgen. *Vetrix* a *Salix* subgen. *Chamaetia* (Newsholme 1992). Každý podrod je následně rozdělen do sekcí. Tuto klasifikaci určenou morfologickými znaky v poslední době zpochybňují molekulární výzkumy. Například v Americe přistupuje Argus ve své práci k vyčlenění ještě čtvrtého podrodu: *Salix* subgen. *Longifolie* (Argus 1997). Japonská studie (Azuma et al. 2000) pak poukazuje na to, že *Salix* subgen. *Salix* je parafyletická skupina. Toto potvrzuje další studie (Chen et al 2010), podle které do podrodu *Salix* subgen. *Salix* nepatří sekce *Triandrae* a *Urbanianae*. Ovšem celkově byly v této studii v rodě *Salix* podpořeny pouze dva silné klády: *Salix* subgen. *Salix* a druhý klád, který zahrnuje všechny druhy *Salix* subgen. *Vetrix* a *Salix* subgen. *Chamaetia*, plus bývalý rod *Chosenia* a sekce *Triandrae* a *Urbanianae* (Chen et al 2010).

Komplikovanost taxonomie vrb je způsobena hned několika faktory: prvními jsou vysoká genetická variabilita a s tím spojená fenotypová plasticita v rámci jednoho druhu, zároveň ale nijak výrazné morfologické rozdíly mezi příbuznými druhy. Velká část diagnostických znaků u krytosemenných rostlin se obvykle nachází na květech, které jsou u vrb velmi redukované. Navíc vrby často kvetou před olistěním, což komplikuje získání kompletních morfologických znaků z jedné rostliny (Chen et al 2010). Další úskalí souvisí s rozmnožováním vrb, kdy je poměrně časté klonální rozmnožování, ale hlavně u tohoto rodu dochází k velmi časté hybridizaci i následnému introgresivnímu křížení, čímž vznikají hybridní roje (Brunsfield et al. 1991).

1.2. Vrby říčních náplavů

Přestože vrby mají relativně širokou ekologickou amplitudu, značná část druhů roste pouze na říčních náplavech a lze tak vrby rozdělit na dvě velké ekologické skupiny: vrby rostoucí na říčních náplavech a vrby rostoucí v jiném prostředí (Skvortsov 1999). V první skupině vrb jsou většinou stromy nebo větší keře s úzkými dlouhými listy a tenkými pružnými větvemi, které potřebují pro svůj růst dostatečně provzdušněnou půdu s rychlým průtokem vody. Různé druhy si v evoluci rodu našly svou úzkou niku a tak rostou na různých typech naplavenin. Například *Salix alba* preferuje jemné písčité nebo písčito-bahnitě substráty, zatímco například *Salix viminalis* preferuje písek nebo jemný štěrk. *Salix elaeagnos* patří mezi druhy, které preferují náplavy z hrubých oblázků (Moggridge & Gurnell 2009).

Druhou skupinu pak tvoří stromy a keře lesů, skal, mokřin, tundry a alpské druhy. Jsou méně závislé na množství kyslíku v půdě a jsou schopny kolonizovat různé substráty včetně jílovitých, rašelinných a písčitých. Obecně ale vrby vždy preferují vlhká stanoviště.

Vrby štěrkových říčních náplavů, mezi něž se ve střední Evropě řadí *Salix daphnoides*, *S. elaeagnos*, *S. triandra* a *S. purpurea*, patří do skupiny první. V mírném pásu severní polokoule jsou to velmi důležité pionýrské dřeviny, které dominují v aktivních zónách říčních niv (Moggridge & Gurnell 2009).

Štěrkové náplavy se vykytují na podhorských a horských řekách mladých pohoří mírného pásu. Jedná se o dynamické, fyzicko-biologické komplexy, charakterizované rozvětvenou sítí přímých i meandrujících koryt, zátočin, náplavů a ostrůvků (Tockner et al. 2004). Štěrkopískové lavice vznikají na řekách v místech, kde se láme sklon svahu a řeka vtéká do širokého údolí. Její proud se zpomaluje a erozní materiál se usazuje po okrajích řečiště, čímž vznikají štěrkové naplaveniny. Při zvýšeném stavu vody (nejčastěji na jaře při tání sněhu) jsou tyto náplavy přeskupovány a z nového erozního materiálu vytvářeny nové, vzniká tak široké řečiště, kterým se řeka proplétá celou soustavou koryt (Tockner et al. 2004). V tomto dynamickém prostředí vznikají velmi specifické podmínky. Rostlinná společenstva zde mohou být v průběhu roku vystavena široké škále hydrologických podmínek a značně rozkolísané hladině hydrického stresu: od zaplavení při zvýšeném stavu vody po vysychání při poklesu hladiny (Francis et al. 2005). Dochází tak k paradoxu, kdy se rostliny rostoucí jen kousek od vody dostávají do podmínek terestrického prostředí. Důvodem je neschopnost štěrkového substrátu bez obsahu koloidních látek udržet vodu.

Různé druhy vrb (a topolů) jsou v kolonizaci těchto sedimentů obzvláště úspěšné a jsou často dominantami těchto stanovišť v celém severním mírném pásu (Karrenberg et al.

2002a). Vděčí za to svým adaptacím, které jim umožňují růst ve vysoce narušeném prostředí. Mezi tyto adaptace patří hlavně rychlý růst a dobrá schopnost reprodukce, jak sexuální: velké množství lehkých semen, která se dobře šíří větrem i vodou (a dozrávají v době jarních povodní), tak asexuální: většina vrb je schopna regenerovat z fragmentů dřeva a větviček nebo klonálně růst. Nepohlavní rozmnožování je alternativou k pohlavnímu hlavně v méně příznivých podmínkách, jeho výhodou také je, že se nesoustřeďuje jenom na jaro (Moggridge & Gurnell 2009). K dalším adaptacím patří také vysoká odolnost proti mechanickému poškození, ohebnost kmenů a schopnost zakořeňovat z větví, což umožňuje jedinci přežít méně silné povodně (Karrenberg et al. 2002a).

Sukcese na šterkových náplavech má cyklický charakter (Kollmann et al. 1999) a proto jsou pro udržování tohoto ekosystému nezbytné cyklické alogenní vlivy – v tomto případě sezonní povodně, které umožní jak šíření semen, tak otevírají volné plochy pro uchycení semenáčků a přináší dostatek vláhy.

Vrby vytvářejí velké množství semen, které mají obvykle krátkou dobu klíčivosti, pouze v rámci dní, v ideálních podmínkách klíčí semena během 24 hodin (Karrenberg et al. 2002a). Neexistuje u nich prakticky žádná dormance (kterou můžeme sledovat u některých arktických druhů vrb), ale životaschopnost semen přesahuje 90 % (u *Salix elaeagnos* bylo zjištěno dokonce 99 %) (Karrenberg & Suter 2003). Semena potřebují ke klíčení dostatek vláhy, který jim zajistí zvýšená hladina vody. Pro další vývoj semenáčků je ale také velmi podstatné, jak rychle následného poklesu hladiny: nesmí poklesnout příliš rychle, aby kořeny semenáčku stíhaly dorůstat, ale zároveň nesmí zůstat dlouho příliš vysoká, aby nenastaly anaerobní podmínky znemožňující přežití semenáčků (Mahoney & Rood 1998).

Salix elaeagnos je mezi aluviálními druhy vrb silně specializovaná a adaptovaná na podmínky na šterkových náplavech. Druh vytváří více semen v porovnání s ostatními taxony (seed mass: 0,25 mg, oproti např. 0,14 mg u *Salix daphnoides*, 0,09 mg u *Salix purpurea* a 0,02 mg u *Salix triandra*) a tato semena jsou schopna přežít více dní (až 15 dní, oproti např. *Salix daphnoides* 13,8 dne, *Salix purpurea* 6,5 dne, *Salix triandra* 8,6 dne), což ji zvyhodňuje v suchém období, kdy buď semena na půdě nemohou klíčit, anebo uvíznou-li někde nad zemským povrchem, odkud je může následně spláchnout déšť (Karrenberg & Suter 2003). Svou stavbou jehněd je přizpůsobena i k šíření pylu větrem (má málo vajíček na jehnědě, zato má však velké množství jehněd samotných), není proto odkázána pouze na entomogamii, jako třeba *Salix daphnoides* (Karrenberg et al. 2002b).

Vyniká také schopností rychlého růstu kořenů, kdy jsou kořeny schopné za jeden den poporůst za vodou až 3 cm (Francis et al. 2005). Tím je velmi odolná k rychlému klesání hladiny a vysychání substrátu po jarních povodních.

1.3. Příčiny ohrožení *Salix elaeagnos*

Hlavní hrozbou pro tento druh je v celé Evropě vliv člověka na krajinu: přeměna říčních niv v důsledku urbanizace, zemědělství, nebo vodních staveb a regulací vodních toků. Pro ekosystém divočících řek je zcela likvidační změna hydrologického režimu a absence sezonních záplav způsobené stavbami přehrad nebo regulacemi toků (Imbert & Lefèvre 2003). Dojde-li k narušení záplavového režimu, dojde i k přeměně celého ekosystému, jehož existence je založena na cyklické sukcesi. Pro *Salix elaeagnos* je v tomhle ohledu kritický nedostatek vláhy, který nedovolí vyklíčit většinu semen, a pak také ubývání otevřených ploch, které jsou pro růst semenáčků klíčové. Břehy řeky se postupně stabilizují a krátkověké vrby jsou nahrazeny konkurenčně silnějšími druhy tvrdého luhu, jako jsou zástupci rodů *Acer*, *Ulmus* a *Fraxinus* (Karrenberg et al. 2002a).

Všechny tyto změny říčních stanovišť vedou ke zvýšení geografické vzdálenosti mezi vhodnými stanovišti a populacemi, tj. k jejich fragmentaci. Fragmentace je velké téma v evoluční biologii i v ochraně přírody, protože ovlivňuje genový tok mezi populacemi. Nedostatek vhodných stanovišť neumožňuje šíření druhu a vede ke zmenšení životaschopnosti metapopulace. Dalším důsledkem izolace populací je nárůst příbuznosti uvnitř populací a snížení genetické variability, což snižuje schopnost adaptace na změnu prostředí (Imbert & Lefèvre 2003).

Štěrkové náplavy patří k nejohroženějším ekosystémům Evropy, i přestože jsou místy v Alpách stále hojné. V České republice je situace ještě poněkud horší, neboť se tyto ojedinělé a kriticky ohrožené biotopy nacházejí ve větší míře pouze v podhůří Moravskoslezských Beskydech, v jiných regionech ČR jsou takové náplavy ojedinělé. Bohužel stávající výskyt náplavů je pouze zlomek dřívějšího rozsahu (Sochor et al. 2013). Fragmenty původních větvených řek s geomorfologickým režimem divočení zůstávají už jenom na třech tocích (řeka Morávka a potoky Kopytná a Tyra (Šigutová 2009)). *Salix elaeagnos* se ovšem vyskytuje i na dalších tocích, které kdysi měly také divočí charakter (např. řeka Ostravice, Čeladenka, Lomná) (Klečková 2010). Lokality na území ČR v dnešní podobě představují pouze fragmenty původního areálu a leží mezi nimi dlouhé úseky zcela nevhodné pro kolonizaci *Salix elaeagnos*.

1.4. Genetický výzkum

Biodiverzita naší planety se v přímém i nepřímém důsledku lidské činnosti neustále snižuje (Pimm & Raven 2000). Mnoho druhů již nenávratně vymřelo, mnoho dalších se dostalo na kriticky nízkou velikost populace, která vede k zániku. Stále rostoucí počet druhů pak potřebuje ke svému přežití aktivní ochranu.

Hlavními příčinami této situace jsou hlavně úbytek vhodných stanovišť, nadměrné využívání a znečištění krajiny a šíření nepůvodních druhů. Mnohdy pak, i když se podaří odstranit primární příčinu ohrožení, je narušená populační genetika druhu, a to hlavně v důsledku fragmentace areálů a zeslabení toku genů mezi populacemi (Frankham 2003). Fragmentace prostředí, tj. zmenšení a rozdrobení areálu do několika menších, prostorově oddělených lokalit, je velkou hrozbou pro zachování biologické rozmanitosti mnoha ekosystémů. Dříve se výzkum vlivu fragmentace biotopů především soustředil na ekologický dopad, dnes se velký prostor věnuje hlavně dopadu na genetiku populací (Young et al. 1996).

U populací vystavených fragmentaci dochází ke změnám vedoucím k narušení genetické diverzity, jako je zvýšení účinku genetického driftu, efektu zakladatele (*founder effect*), nahromadění škodlivých mutací, navýšení škodlivých účinků *inbreedingu* (snížení počtu heterozygotů), snížení genového toku a zvýšení pravděpodobnosti zániku místní populace. V krátkodobém horizontu může ztráta heterozygotnosti snížit *fitness* a životaschopnost populace, v delším časovém horizontu pak snížení alelické bohatosti omezuje schopnost druhu reagovat na měnící se selekční tlaky (Young et al. 1996, Leimu et al. 2006).

U rostlin je situace komplikovanější než u živočichů a nejde proto použít pouze obecné genetické modely. Dopady fragmentace se liší u jednotlivých druhů podle jejich způsobu života: záleží na dlouhověkosti rostliny, generační době, rozšířenosti druhu před fragmentací prostředí, na různých způsobech pohlavní i nepohlavní reprodukce, přítomnosti nebo nepřítomnosti semenné banky a oproti živočichům pak také na možnosti toku genů skrz semena i pyl nebo případná závislost na opylovačích (Young et al. 1996). Je například jasné, že větší dopad bude mít snížení genetické variability v populaci na druhy cizosprašné než na druhy samosprašné nebo druhy šířící se převážně nepohlavně (Leimu et al. 2006).

Analýza genetické diverzity a její důsledky pro životaschopnost populací druhů se proto stala hlavním cílem výzkumů mnoha biologických oborů. V posledních čtyřech dekádách byly klasické způsoby zjišťování genetické variability (srovnávací anatomie, morfologie, fyziologie) doplněny o molekulární techniky (Weising et al. 2005). Genetika se tak stala nedělitelnou součástí ekologie, kdy genetický výzkum poskytuje data, které ekologie využívá v praxi. Pro výzkum genetické struktury populací se používá různých genetických markerů. Tyto genetické markery jsou zjistitelné znaky, které můžeme rozdělit do pěti skupin: morfologické, cytologické, biochemické, proteinové a DNA. Pouze poslední dva typy markerů jsou široce použitelné pro populační ekologii (Lowe et al. 2004).

Dříve se používaly hlavně proteinové markery (např. izoenzymy), založené na polymorfismu bílkovin, v dnešní době se využívá mnohem častěji DNA markerů (založených na polymorfismu DNA), které jsou oproti proteinovým variabilnější a jsou vždy selekčně neutrální (Beebe & Rowe 2004). Existuje mnoho molekulárních technik, které jsou založeny na různých principech a různé metodice, proto je třeba pečlivě zvážit výběr typu markeru pro konkrétní analýzu (Semagn et al. 2006). Genetické markery se dají dělit na různé skupiny, například dle použité metody na markery založené na hybridizaci DNA (RFLP) a markery založené na polymerázové řetězové reakci – PCR (RADP, AFLP, mikrosatelity) (Beebe & Rowe 2004).

Pro výběr typu markeru pro konkrétní analýzu je pak důležité rozdělní na markery kodominantní a markery dominantní. Kodominantní markery jsou takové, kterými můžeme identifikovat všechny přítomné alely v lokusu, tedy rozpoznat i homozygoty od heterozygotů, zatímco dominantní markery nám dovolují vidět pouze jednu dominantní alelu a proto se ztrácí možnost rozlišit heterozygoty od homozygotů. Kodominantní markery (alozymy, mikrosatelity, RFLP) mohou snadno ukázat četnost alel v populaci, dominantní markery (RAPD, AFLP) na druhou stranu umožňují zhodnotit genotyp (Ouborg et al. 1999, Freeland 2005). Pro zjištění populační variability *Salix elaeagnos* byly v této studii vybrány mikrosatelity.

1.4.1. Mikrosatelity

Genomy vyšších rostlin obsahují tři typy mnohonásobných kopií jednoduchých repetitivních sekvencí DNA: satelitní DNA, minisatelity a mikrosatelity. Mikrosatelity jsou tandemové repetice DNA sekvencí o velikost pouze několika páru bází (1–6 bp). Jsou také známy jako SSRs (*simple semente repeats*) nebo STRs (*short tandem repeats*). Mikrosatelity nalezneme v jaderném, chloroplastovém i mitochondriálním genomu (Gupta et al. 1996, Lowe et al. 2004, Weising et al. 2005, Freeland 2005).

Mikrosatelity jsou mnohdy specifické pro konkrétní taxony (i když pro příbuzné druhy mohou být taktéž použity). To trochu komplikuje jejich využití, jelikož počáteční vývoj mikrosatelitů je časově a finančně náročný, ovšem jsou-li již navrženy primery, můžeme s jejich pomocí získávat data k amplifikaci mikrosatelitních alel PCR reakcí velmi rychle (Freeland 2005). Amplifikované produkty jsou následně separovány elektroforeticky na polyakrylamidovém gelu a poté vizualizovány (v případě této práce obarveny stříbrem) (Weising et al. 2005).

Mikrosatelity dosahují, díky velké mutační rychlosti, vysokého stupně polymorfizmu. Také jsou to, jak již bylo zmíněno výše, kodominantní markery (umožňují rozlišovat mezi homozygoty a heterozygoty, díky čemuž lze snadno spočítat frekvence alel ve směsných vzorcích, jako jsou populace). Toto předurčuje mikrosatelity k hlavnímu využití při zjišťování genetické diverzity a populační struktury. Díky tomu, že zobrazují velký počet alel na lokus, jsou ideální také pro analýzu genového toku (Lowe et al. 2004). Nevýhodou mikrosatelitů je skutečnost, že se na gelu může objevit „stín“ bandu a to komplikuje hodnocení gelu (Ouborg et al. 1999, Lowe et al. 2004).

Mikrosatelity pro různé druhy rodu *Salix* byly testovány a publikoval Barker et al. (2003) a Stamatí et al. (2003).

2. CÍLE PRÁCE

Salix elaeagnos je ohroženým druhem české květeny, který se vyskytuje na tocích v Moravskoslezských Beskydech a Podbeskydské pahorkatině. Během 20. století došlo k velkým změnám říčních niv a na nich vázaných biotopů, což s sebou nese negativní dopad na společenstva a druhy. Z původních rozsáhlých populací *Salix elaeagnos* zbyly pouze fragmenty a jednotlivé populace jsou od sebe izolovány. *Salix elaeagnos* byla věnována má bakalářská práce, zaměřená na historické a současné rozšíření a ekologii druhu (Klečková 2010). Cílem této práce je jak scelení a doplnění údajů o současném rozšíření a stavu populací *Salix elaeagnos* v České republice, tak hlavně zjištění genetické diverzity populací a stavu ohrožení *Salix elaeagnos*.

Práce si klade tyto základní otázky:

1. Jak lze charakterizovat rozšíření druhu na beskydských řekách?
2. Jaké jsou vnitro- i mezipopulační vztahy druhu?
3. Do jaké míry je druh ohrožený?
4. Jaké jsou možnosti aktivní ochrany druhu?

3. METODIKA

3.1. Charakteristika studovaného taxonu

3.1.1. Popis druhu

Studovaný taxon, *Salix elaeagnos* (vrba šedá) je strom (většinou 8–12 m vysoký) nebo mohutný keř s metlovitou korunou. Kmen je přímý, borka šedá a hladká. Letorosty jsou (většinou) tmavočerveného zabarvení s jemným bělavým ochlupením. Na průřezu jsou hranaté. Pupy má *Salix elaeagnos* nerozlišené, zploštělé, 2–3 mm dlouhé. Palisty se vyvíjejí jenom slabě, řapík je zpravidla dlouhý 2–4 mm. Tvar listové čepele je čárkovitě obkopynatý, zúžený na obou koncích, okraj listu téměř celokrajný a podvinutý, ve vrcholové části bývá žláznatě pilovitý. Délka čepele je v průměru 6–10 cm, šířka 0,6–0,8 cm. Na líci je list kožovitý a tmavozelený, řídce ochlupený anebo úplně lysý, na rubu je pak hustě šedobíle plstnatě chlupatý. Jehnědy jsou nící, úzce válcovité, 1,5–3,0 cm dlouhé a 0,3–0,4 cm široké. Na bázi mají několik opadavých listenů. Samčí květy nesou dvě tyčinky, jejichž nitky jsou na bázi srostlé a chlupaté. Samičí květy mají krátce stopkatý semeník, zřetelnou čnělku a dvouzárezové blizny. Květní listeny jsou obvejčité, světlezelené, na okrajích zvlňené a řídce brvitě. Nektárová žláзка je jedna, elipsoidní. Kvete zároveň s rašením listů (Chmelař & Koblížek 1990, Koblížek 2002, Rechinger 1964, Blanco 1993).

3.1.2. Ekologie a cenologie

Typickým stanovištěm *Salix elaeagnos* jsou štěrkové náplavy podhorských řek a horské křoviny. Preferuje bazické podloží, na našem území ovšem roste i na podloží kyselém (Chmelař & Koblížek 1990).

Salix elaeagnos je typickým pionýrským druhem s r-strategií. Je dobře přizpůsobená mechanickým disturbancím, nadbytku i nedostatku vláhy, snadno se šíří (Karrenberg & Suter 2003). Vyskytuje se ve společenstvech štěrkových náplavů ve svazech: *Salicion incanae*, asociace *Myricarietum garmanicae*, svaz *Phalaridion arundinaceae*, asociace *Calamagrostietum pseudophragmitis* a svaz *Salicion eleagnodaphnoidis*, asociace *Salicetum purpurem* (Chytrý et al. 2001).

3.1.3. Areál rozšíření *Salix elaeagnos*

Hlavním areálem rozšíření *Salix elaeagnos* jsou mladá evropská pohoří mírného až mediteránního klimatu, tj. Pyreneje, Alpy a Karpaty. Vyskytuje se i na Apeninském poloostrově, na Balkáně a Korsice. Mimo Evropu roste v Malé Asii a v pohoří Atlas v severozápadní Africe (Podpěra 1906, Rechinger 1964, Chmelař & Koblížek 1990, Blanco 1993). Výskyt v České republice je omezen na karpatskou oblast Beskyd. Česká republika zároveň leží na severním okraji reálu *Salix elaeagnos*.

3.2. Charakteristika rozšíření *Salix elaeagnos* v Beskydech

Jak jsem již bylo uvedeno výše, *S. elaeagnos* se v České republice vyskytuje pouze na Moravě v Moravskoslezských Beskydech a v přilehlé části Podbeskydské pahorkatiny (Chmelař & Koblížek 1990). Tato oblast patří geomorfologicky ke Karpatské soustavě, konkrétně do flyšového pásma Západních Karpat (Weissmannová et al. 2002). Geologické podloží Moravskoslezských Beskyd je tvořeno karpatským flyšem, který je na rozdíl od hornin krystalinika Českého masivu erozně výrazně náchylný, proto jsou mnohé beskydské toky silně šterkonosné a vytvářely typické karpatské toky s dobře vyvinutou nivou. Ovšem původní charakter tzv. divočících řek byl výrazně narušen osidlováním povodí, zejména pak nivy, což s sebou přineslo snahy o stabilizaci toků a následná protipovodňová opatření (Birklen et al. 2008). To znamenalo rozbití původního celistvého ekosystému na izolované fragmenty. Pobřežní ekosystémy závislé na samovolném přetváření řečiště z velké části zanikly, anebo byly druhově pozmeněny. *Salix elaeagnos* má přesto na řekách v Beskydech a podbeskydí více lokalit, některé i poměrně početné.

3.2.1. Doplnění údajů o rozšíření *Salix elaeagnos* v Beskydech

V diplomové práci jsem navazovala na svou bakalářskou práci (Klečková 2010), kde jsem hodnotila údaje o rozšíření převážně z literatury a herbářových dokladů. V průběhu vegetační sezóny let 2010, 2011 a 2012 jsem zjišťovala rozšíření *Salix elaeagnos* na beskydských řekách.

3.3. Věková struktura populací a poměr pohlaví

3.3.1. Věková struktura

Věková struktura populací na jednotlivých biotopech byla určována odhadem věku jedinců dle jejich velikosti a odhadnutého stáří porostu. K odhadům stáří bylo využito porovnání s dendrochronologickými daty z Morávky (Prach 2013, in verb.). Jedinci starší 10 let byli považováni za adultní, stromoví jedinci (nad 30 let) za senescentní.

3.3.2. Poměr pohlaví

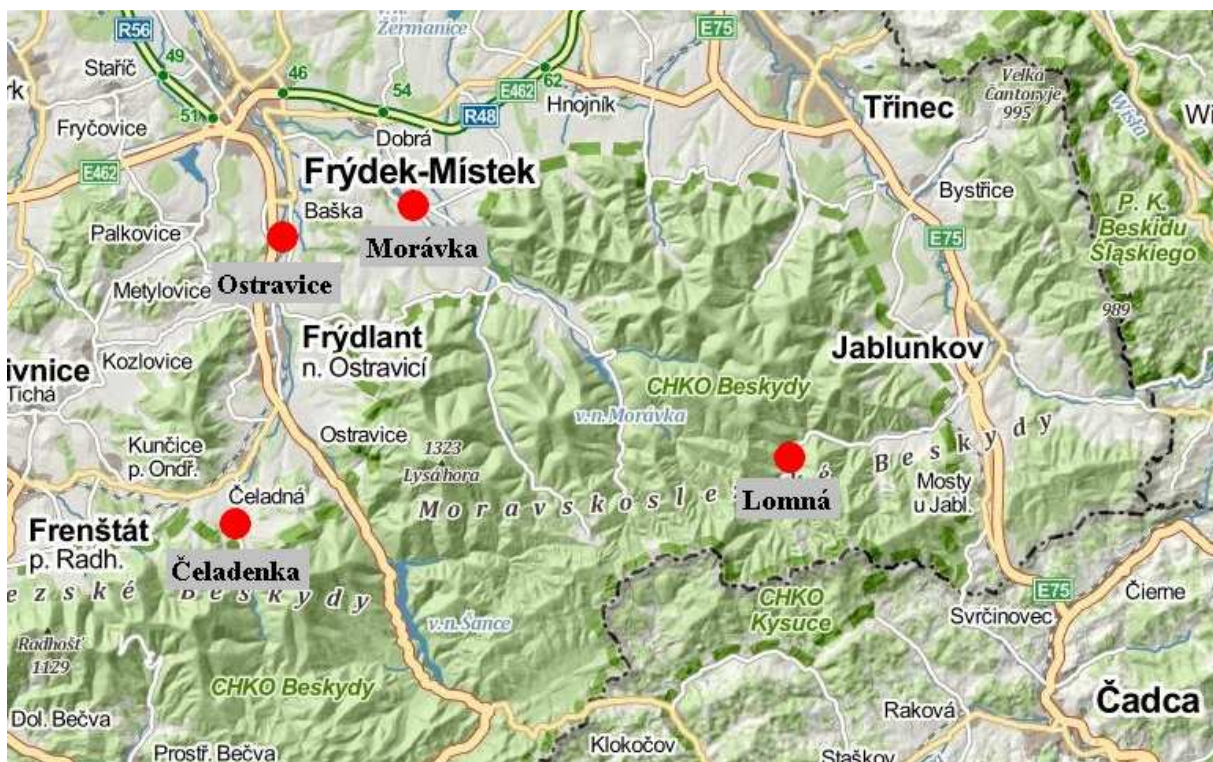
Jak již bylo zmíněno v úvodu, vrby jsou dvoudomé rostliny, vytvářejí teda samostatné samčí a samičí jedince. U populací dvoudomých rostlin bývá často poměr jednotlivých pohlaví vychýlen. U 57 % dvoudomých rostlin je vychýlen k převaze samců (Delph 1999), u vrb je ale běžný poměr opačný, tedy s převahou jedinců samičích (Alliende & Harper 1989). Vysvětlení může být více, např. snaha o co největší množství semen (Ueno et al. 2007), rozdílná herbivorie pohlaví (Agren et al. 1999) nebo lokální partnerská kompetice (Jong & Klinkhamer 2005).

V době květu rostlin (duben 2010, duben 2011) jsem ve čtyřech studovaných populacích (viz níže) sečetla kvetoucí jedince a zjišťovala poměr mezi samčími a samičími rostlinami (množství nekvetoucích jedinců bylo zanedbatelné). U populací na Ostravici a Čeladence jsem sčítala jedince na studovaných náplavech, na Morávce jsem sečetla náhodně vybraných 300 jedinců na náplavu u Nižních Lhot, na řece Lomné pak všechny nalezené jedince podél toku.

3.4. Genetická struktura populací

3.4.1. Studované lokality

Pro studium genetické variability byly vybrány čtyři populace na čtyřech větších řekách: Morávka, Ostravice, Čeladenka a Lomná.



Obrázek 1. Mapa populací *Salix elaeagnos* vybraných pro studium genetické variability.

Morávka

Řeka Morávka pramení v úbočí vrchu Súlov ve výšce 880 m. Celková délka toku je 30,6 km, ve Frýdku-Místku se vlévá do řeky Ostravice. Horní tok řeky má poměrně prudký sklon a leží v oblasti, která patří mezi srážkově nejbohatší v rámci České republiky, což jsou ideální podmínky pro to, aby se níže na toku vytvořilo široké divočí koryto se štěrkovými náplavy. Ovšem i Morávky se dotkly úpravy toku v průběhu 20. století. Nevětšími zásahy byla výstavba vodní nádrže Morávka v letech 1961–67 a segmentového jezu ve Vyšních Lhotách, z něhož je z Morávky oddělena část průtoku do umělého přivaděče Morávka-Žermanice. Tento kanál, který vznikl v 50. a 60. letech minulého století, slouží převážně v sušších obdobích k zvyšování stavu vody na řece Lučině, která napájí vodní nádrž Žermanice (Brosch 2005, Šigutová 2009).

I přes tyto negativní zásahy do hydrologických poměrů řeky, zůstal na toku úsek, kde má řeka stále divočí charakter. V tomto úseku ležícím mezi obcemi Raškovice a Nižní Lhoty dochází stále k přeskupování náplavů a otevírání volných štěrkových ploch. Proto je to také na *Salix elaeagnos* vůbec nejbohatší území. Nalezneme zde různověké porosty na různě starých náplavech.

Ovšem pod tímto úsekem dochází k velmi dynamické hloubkové erozi, což je důsledek technických zásahů a nedostatku štěrkových splavenin. Tato situace ohrožuje cenné štěrkové biotopy (Hradecký 2002).

Téměř celý tok řeky Morávky spadá do některého z typů územní ochrany. Horní část řeky protéká CHKO Beskydy, divočící úsek toku je chráněn jako NPP Skalická Morávka, kaňonovité koryto pak jako PP Profil Morávky. Obě maloplošná chráněná území spadají do EVL Niva Morávky (Šigutová 2009).

Ke genetické analýze byla vybrána populace v Nižních Lhotách.

Ostravice

Řeka Ostravice vzniká soutokem Bílé a Černé Ostravice mezi obcemi Staré Hamry a Bílá. Celková délka jejího toku činí 65,1 km (jako hlavní tok se uznává údolí Bílé Ostravice), povodí má plochu 826,8 km². V Ostravě ústí do řeky Odry.

Řeka je dnes (s výjimkou pramenné oblasti) prakticky v celé délce toku regulována, jelikož její široké a nestabilní koryto se neslučovalo s lidskou aktivitou na březích. V horní části toku nad obcí Ostravice leží vodní nádrž Šance vybudovaná v letech 1965–69. Nádrž slouží, podobně jako nádrž Morávka, převážně k vodárenským a také protipovodňovým účelům (Brosch 2005).

I přesto dochází ve vymezeném prostoru koryta k přeskupování a akumulaci nových sedimentů a k tvorbě typických dnových struktur – štěrkových lavic. To je důsledkem velkým srážkovým úhrnům v Moravskoslezských Beskydech (jedny z nejvyšších v republice), a také erozní síle menších přítoků Ostravice, které do řeky vtékají pod přehradou Šancí (Birklen et al. 2008).

Horní tok řeky protéká CHKO Beskydy. Pod hranicí CHKO až po soutok s Olešnou v Paskově je pak koryto řeky zařazeno mezi Evropsky významné lokality jako EVL Ostravice. V obci Ostravice nalezneme PP Koryto řeky Ostravice.

Pro populační studii byl vybrán porost *Salix elaeagnos* na starém náplavu pravého břehu Ostravice. Náplav ležící u obce Baška, vznikl pravděpodobně o povodni v roce 1997. I z něj byly sebrány listy pro analýzu.

Čeladenka

Čeladenka je říčka pramenící v nadmořské výšce okolo 850 m v svazích Trojačky. Její tok je dlouhý 17,3 km, ústí do řeky Ostravice severně od Frýdlantu nad Ostravicí. Řeka je

bohužel, podobně jako většina řek na území České republiky, na velké části toku regulována, se zpevněnými břehy a mnoha splavy (Brosch 2005).

Horní tok řeky spadá do území CHKO Beskydy. Na dolním toku není řeka nijak chráněna.

Pro analýzy byly sesbírány vzorky z náplavu v obci Čeladná.

Lomná

Říčka Lomná pramení v nadmořské výšce okolo 870 m mezi horami Burkův vrch a Malý Polom. Její tok je dlouhý 17,5 km, v centru Jablunkova se pak vtéká do Olše (Brosch 2005). Před osídlením území se na říčce střídalo několik geomorfologických typů, včetně režimu divočení. Ovšem způsob osídlení nivy a úpravy toku přirozený vývoj koryta prakticky znemožňují (Šigutová 2009).

Téměř celý tok řeky spadá do CHKO Beskydy, pouze krátký úsek pod obcí Bocanovice až po soutok s Olší leží mimo územní ochranu.

Vzorky pro analýzu byly sbírány podél toku v obci Horní Lomná.

3.4.2. Izolace DNA

DNA byla izolována podle modifikovaného CTAB protokolu (Doyle & Doyle 1987, Sochor et al. 2013). Přibližně 50 mg suchých listů (což odpovídalo jednomu průměrně velkému listu) se zbavilo střední žilky a bylo homogenizováno pomocí homogenizátoru (Retsch Mixer Mill MM 301) v 2 ml Eppendorf zkumavkách a poté extrahováno v 700 ml CTAB pufru (2% CTAB; 0,1 M Tris HCl pH = 8,0; 0,02 M EDTA pH = 8,0; 1,4 M NaCl; 1% PVP40) s 2 µl merkptoethanolu na třepačce při 65 °C alespoň 60 min.

V další fázi bylo přidáno 700 µl směsi chloroformu a isoamylalkoholu v poměru 24:1, zkumavky se důkladně protřepaly, dokud se směs nepromíchala, a následně byly centrifugovány (15 min., 13 000 rpm, 10 °C). Oddělená horní fáze byla potom opatrně odebrána do nových zkumavek a s připraveným stejným objemem směsi chloroformu a isoamylalkoholu (24:1), znovu pečlivě protřepána a centrifugována za stejných podmínek. V dalším kroku byla horní fáze přenesena do stejného objemu vychlazeného (-20 °C) isopropanolu a směs dále ponechána při +4 °C alespoň 30 min. k precipitaci nukleových kyselin.

Po centrifugaci (15 min, 13 000 rpm., 4 °C) se supernatant opatrně slil, sediment se nechal lehce osušit a poté byl rozpuštěn v 200 µl 10× TE pufru. Po úplném rozpuštění se

přidaly 2,0 µl RNasy (10 µg/ml) k odstranění nežádoucí RNA a roztok byl inkubován 30 min. při 37 °C na termobloku. Po uplynutí tohoto času bylo k roztoku přidáno 20 µl acetátu sodného (3 M) a dvojnásobek objemu ethanolu (96%, 440 µl, -20 °C), roztok se následně nechal alespoň 30 min. při +4 °C, přičemž došlo k vysrážení deoxyribonukleové kyseliny (DNA).

Po centrifugaci (13 000 rpm., 15 min., 4 °C) byl pelet promyt a pročištěn 80% EtOH, centrifugován (13 000 rpm., max. 10 min., 10 °C) a poté promyt a pročištěn ještě 70% EtOH a opět za stejných podmínek centrifugován. Na závěr byl pelet vysušen (Savant SpeedVac concentrator) a rozpuštěn v 80 až 130 µl 1× TE pufru (10 mM Tris HCl, pH 8,0; 1 mM EDTA, pH 8,0).

Množství a kvalita získané DNA bylo předběžně stanoveno na 1,5% agarózovém gelu, přesně koncentrace poté na spektrofotometru. Takto získané hodnoty byly použity pro naředění izolátu na koncentraci 5 ng/µl v 1× TE pufru. Zásobní roztoky DNA byly dlouhodobě skladovány v mrazicím boxu při -20 °C.

3.4.3. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Pro studium genetické variability populací *Salix elaeagnos* byly použity vybrané mikrosatelitní markery, které již byly publikované pro jiné druhy vrb (Barker et al. 2003). Optimalizace jednotlivých mikrosatelitů byla prováděna pro každý zvlášť. Master mix byl namíchan podle doporučení výrobce, tj. 5,75 µl dd H₂O, 2 µl 10× Go Taq Bufferu, 0,2 µl dNTPs (10 mM), 0,5 µl Forward a 0,5 µl Reverse primeru (20 µM), 0,05 µl Go Taq polymerázy (Promega) a 1 µl templátové DNA o koncentraci 5 ng/µl. Celkový objem reakční směsi činil 10 µl pro každý vzorek. Polymerázová řetězová reakce probíhala na přístroji Peltier Thermal Cycler PTC 200 (MJ Research).

Pro optimalizaci annealingové teploty vybraných primerů byly nutné nejprve provést teplotní gradienty. Ty se lišily v závislosti na použitém mikrosatelitu, většinou byly v rozpětí deseti stupňů. Poté se ještě mohly (pokud byly proužky/bandy špatně čitelné) upravovat i počty cyklů PCR reakce. Jinak zůstaly PCR podmínky stejné jako v protokolu výrobce (počáteční denaturace pro Go Taq polymerázu při 95 °C trvající 2 minuty a poté cyklicky se opakující denaturace 95 °C po dobu 30 sekund, annealing při různých teplotách po dobu 30 sekund, elongace řetězců při 72 °C opět po dobu 30 sekund, konečná elongace při 72 °C trvající 5 minut a na závěr zchlazení na 4 °C).

Přítomnost vzniklých PCR produktů byla ještě vždy ověřována jejich separací na 1,5% agarózovém gelu.

3.4.4. Fragmentová analýza na polyakrylamidovém gelu

Analýza získaných PCR produktů byla prováděna vertikální elektroforetickou separací na polyakrylamidovém gelu za denaturačních podmínek. Byl použit 0,4 mm silný 6% polyakrylamidový gel. Na vlastní přípravu gelu byl použit zásobní roztok akrylamidu (150 ml 40% roztok akrylamid : N,N'-methylenbisakrylamid 19:1, 420 g močoviny, 50 ml 10× TBE a 484 ml ddH₂O), peroxidisíran amonný a N, N, N', N'-tetramethylethylendiamin. K přilnutí gelu na sklo byl použit silan.

K PCR produktům byl před nanesením na gel přidán poloviční objem formamidového denaturačního pufru (formamid a *loading dye* 9:1) a vzorky byly následně denaturovány při 96 °C po dobu 3 min.

Čas elektroforetické separace vzorků na gelu závisel na amplifikované sekvenční. Při použitím napětí 2 000 V a proudu 120 mA to bylo u všech tří použitých mikrosatelitů něco okolo dvou hodin.

Po skončení separace se nechal gel promýt po dobu aspoň 20 minut v 10% kyselině octové (čímž se fixovala DNA a vymyla se močovina), další pět minut se gel promýval v 1% kyselině dusičné a následně byl barven min. 30 minut v 0,1% roztoku dusičnanu stříbrného s 0,15% formaldehydem. Posledním krokem vyvolávání bylo vyredukování navázaného stříbra v 3% roztoku uhličitanu sodného s 0,15% formaldehydu a 2 ppm thiosíranu sodného.

Po usušení byl elektroforetogram vyhodnocen na transiluminátoru.

3.5. Ohrožení *Salix elaeagnos* a budoucnost populací v Beskydech

Kombinací terénních a molekulárních dat jsem se pokusila zhodnotit stav ohrožení *Salix elaeagnos* na řekách v Beskydech a navrhnout možný postup při aktivní ochraně druhu.

4. VÝSLEDKY

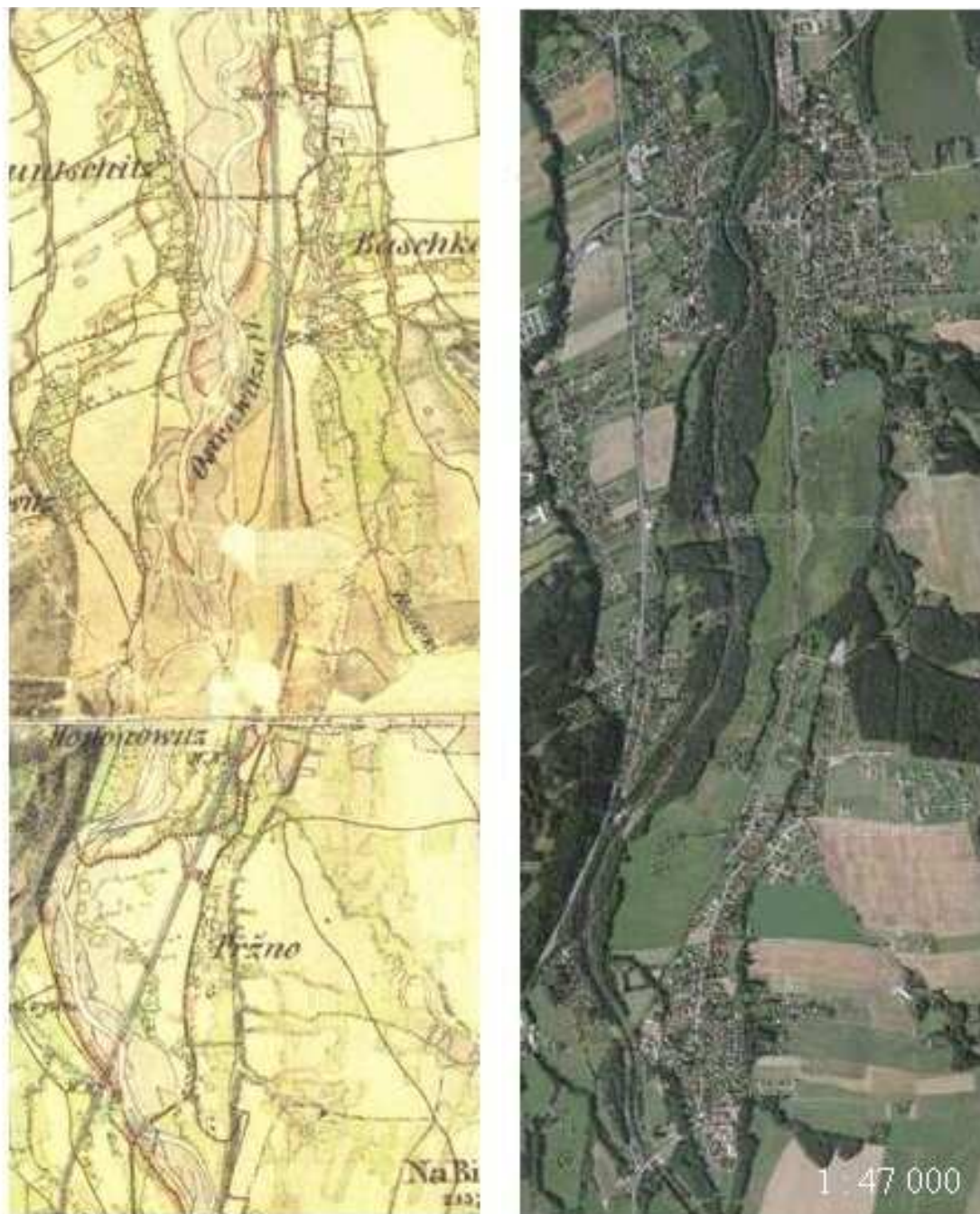
V rámci mé bakalářské práce (Klečková 2010) byla provedena revize herbářových dokladů z veřejných sbírek 15 institucí doplněná o literární údaje. Většina herbářových dokladů *Salix elaeagnos* patřila taxonu *Salix elaeagnos* cv. *Angustifolia* (některými autory rozlišován jako *Salix elaeagnos* subsp. *angustifolia*). Mnoho studovaných položek pocházelo z populací mimo území České republiky, převážně pak ze Slovenska. Z území České republiky bylo doloženo pouze několik desítek lokalit, které jsou převážně z oblasti Moravskoslezských Beskyd a Podbeskydské pahorkatiny (povodí Morávky, Ostravice, Olše). V navazující diplomové práci jsem znalosti o historickém rozšíření doplnila o další charakteristiky přirozených populací, jako je rozšíření a stav populací a genotypovou variabilitu vybraných populací.

4.1. Rozšíření a stav populací

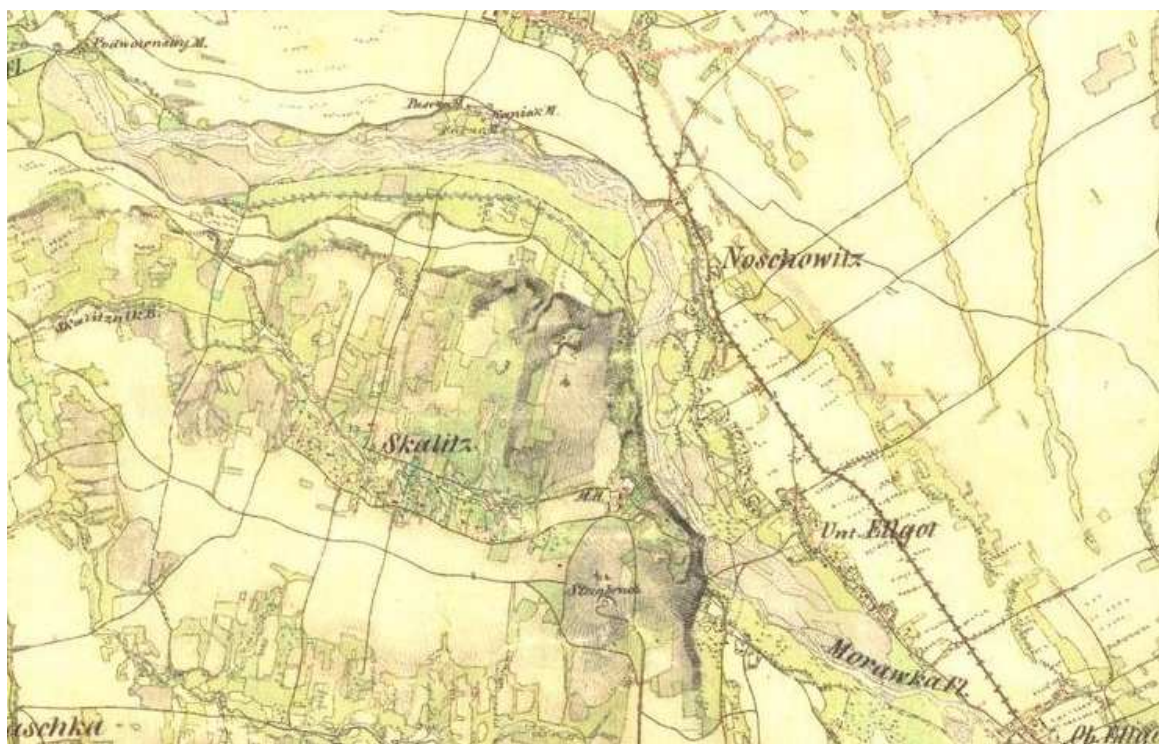
4.1.1. Biotop štěrkových náplavů v Beskydech – současný stav

Výskyt *Salix elaeagnos* se úzce váže k biotopu štěrkových náplavů. Ještě před dvěma sty lety byly v Beskydech divočící řeky s širokými štěrkovými koryty zcela běžné. Ovšem dnešní situace je značně jiná. Jak ukazuje porovnání historických a současných map řeky Ostravice (obr. 2), koryta byla zúžena, narovnána a zpevněna. Poslední větší divočící úsek tak zůstal pouze na řece Morávce u Nižních Lhot a Skalice, dnešní NPP Skalická Morávka (obr. 3). Menší divočící úsek je i na říčce Kopytné.

Kromě intenzivního osídlení nivy, které si vyžádalo nutnost kontroly průtoku, má na biotop štěrkových náplavů velký dopad také nedostatek štěrkových splavenin, které zadržují různé hráze na tocích. V devatenáctém století to byly menší nádrže, sloužící k splavování dřeva (tzv. klauzy), ve dvacátém století přibyly velké přehrady Šance a Morávka (Hradecký 2002).



Obrázek 2. Ostravice – porovnání charakteru toku Ostravice v 19. století a v současnosti



Obrázek 3. Morávka – porovnání charakteru toku Morávky v 19. století a v současnosti

4.1.2. Rozšíření *Salix elaeagnos* na beskydských řekách

Morávka

Na řece Morávce se nachází v úseku u Nižních Lhot a Skalice největší fragmenty divočícího toku v Beskydech, tudíž jsou zde pro *Salix elaeagnos* nejvhodnější biotopy (NPP Skalická Morávka). Výše na toku, nad tímto divočícím úsekem, je situace podobná ostatním beskydským řekám. Na horním toku, ještě před přehradou Morávka, byl nalezen pouze jeden jedinec, vrostlý strom s obvodem přes 80 cm, rostoucí na břehu řeky kousek pod osadou Morávka-Bebek. Morávka v tomto úseku vytváří jenom menší náplavy, přesto by se zde výskyt *Salix elaeagnos* dal očekávat (na podobných lokalitách se běžně vyskytuje v Karpatech na Slovensku i Ukrajině), ovšem v keřovém patře zde dominuje *Salix purpurea*. Níže potom řeka protéká užším údolím, koryto je zahloubenější a stinnější.

Pod přehradou Morávka až po jez u přivaděče Morávka-Žermanice je koryto řeky regulováno a zpevněno. *Salix elaeagnos* zde roste sporadicky v břehovém porostu, jedná se většinou o starší jedince stromového vzrůstu. Juvenilní jedince zde téměř nenajdeme.

Zcela jiná situace je ve výše zmíněném úseku řeky mezi Nižními Lhotami a Skalicí. Tento úsek řeky není regulován a zůstaly zde zachovány fragmenty původních štěrkových náplavů. *Salix elaeagnos* se zde vyskytuje hojně, někdy i v monokulturních porostech, což se odvíjí také podle staří náplavů. Na těch nejstarších se nachází lužní les s dominancí topolů (*Populus nigra*, *Populus ×canadensis*), vrb (*Salix alba*, *S. euxina*), s přechodem do jasanovo-olšového luhu. Do těchto porostů je občas vmísena i *Salix elaeagnos*, jedná se vždy o starší stromové jedince. Na mladších náplavech *Salix elaeagnos* naopak dominuje a další vrby (*Salix daphnoides*, *S. purpurea*, *S. euxina*, *S. alba*) ji pouze doplňují. Většina jedinců je podobného stáří (cca 25 let a 15 let), pouze občas se vyskytují i juvenilní jedinci. Na nových náplavech (otevřených po povodni v roce 2010) jsou stovky juvenilních jedinců *Salix elaeagnos*, kteří místy vytvářejí husté monokulturní porosty.

Níže na toku porosty *Salix elaeagnos* opět řídnu, řeka se zde výrazně zahlubuje (PP Koryto Morávky), přesto je zde výskyt různověkových jedinců poměrně hojný, a to až do Frýdku-Místku.

Ostravice

Na Ostravici se *Salix elaeagnos* vyskytuje překvapivě poměrně hojně po značné délce toku. První jedinci se objevují sporadicky v prvních kilometrech pod přehradou Šance, a to i na přítocích (několik jedinců na menších náplavech Bučacího potoka). Nad přehradou

Šancí *Salix elaeagnos* s největší pravděpodobností neroste. Výskyt zaznamenaný na náplavech Velkého potoka (přítok Ostravice) ve Starých Hamrech (dat. AOPK) se mi nepodařilo potvrdit.

V obci Ostravice je koryto řeky zpevněno a zúženo, břehy jsou lemovány úzkým pruhem stromového porostu (jasany, lípy, javory, habry, olše), pouze někde na menších náplavech jsou i keřové porosty vrb, kde dominuje především *Salix purpurea*, občas se pak objeví i *Salix elaeagnos*, většinou v keřové formě. V břehovém porostu stromů jsou pak i větší stromoví jedinci. Tento model pokračuje i před Frýdlantem nad Ostravicí, hlavně u soutoku s Čeladenkou. V těchto místech jsou porosty kolem řeky širší (ve stovkách metrů), hlavně na pravém břehu jsou početné porosty vrb, včetně vmísené *Salix elaeagnos*. Na levém břehu je druhově pozměněný jasanovo-olšový luh, v kterém se objevují i stromoví jedinci *Salix elaeagnos*. Celkem se v tomto úseku řeky na obou březích nachází několik desítek jedinců.

Mezi Frýdlantem nad Ostravicí a Pržnem je hustota výskytu *Salix elaeagnos* nižší, řeka je zde regulována a břehové porosty z velké části vykáceny, na mnoha místech jsou ponechány pouze liniově. Pověštinou jsou to vrby, topoly a jasany. Občas je vmíšena *Salix elaeagnos*. Výjimečně zde rostou i mladší jedinci.

Situace se mění až pod obcí Pržno a hlavně u obce Baška, kde je kolem řeky širší pruh lužního lesa, na některých místech straší štěrkové náplavy a občasné štěrkové lavice i přímo v řečišti. *Salix elaeagnos* se zde vyskytuje hojněji, na starém náplavu na levém břehu řeky u obce Baška pak vytváří téměř monokulturní porost o více než dvou stech jedincích. Jedná se povětšinou o jedince keřového vzrůstu, odhadovaného věku cca 15 let (tj. pravděpodobně od povodní v roce 1997). V okolí toho náplavu a i výše na toku se v porostu jasanovo-olšového luhu objevují občasné vmísení starší stromoví jedinci. Na pravém břehu řeky cca 20 m nad tímto náplavem roste asi největší nalezený jedinec – strom s obvodem přes 200 cm a výškou přibližně 15 m.

Níže na toku se *Salix elaeagnos* opět roztroušeně vyskytuje, větší jedinec je např. u mostu pro pěší u nádraží v Bašce. Ovšem žádný podobný porost, jako je na náplavu v Bašce, už na Ostravici není. Zajímavostí je výskyt několika jedinců na výsypce v Paskově.

Čeladenka

Horní tok Čeladenky je svým charakterem velmi podobný hornímu toku Morávky (nad přehradou Morávka). Řeka zde protéká poměrně úzkým údolím, na některých úsecích meandruje a vytváří menší štěrkové náplavy. *Salix elaeagnos* zde byla nalezena poměrně vysoko na horním toku, dva mladí jedinci se vyskytují na náplavu v Podolánkách (cca 0,5 km proti proudu od rozcestí Kociánka). Jinak ale v tomto úseku řeky *Salix elaeagnos* s největší pravděpodobností neroste. Další výskyt byl pak zaznamenán až v obci Čeladná. Tady se *Salix elaeagnos* vyskytuje hojněji pouze na jediném místě, a to na starším náplavu (na úrovni památníku Josefa Kaluse). Náplav má cca 150 m na délku a 40 m na šířku, a jeho vznik se dá podle stáří jedinců *Salix elaeagnos* odhadnout na přibližně 15 let, což odkazuje k povodni v roce 1997. Na náplavu roste několik desítek jedinců přibližně stejného stáří a také několik málo juvenilních jedinců. V okolním porostu (jasanovo-olšovém luhu) je navíc několik starších stromových jedinců. *Salix elaeagnos* zde roste společně se *Salix daphnoides*. O cca 250 m dále po proudu řeky se nachází další skupina starších stromových jedinců (odhadem starších 25 let), nikde v jejich okolí nedochází k výraznějšímu zmlazování. Na úseku toku od náplavu po soutok s Ostravicí pak nalezneme roztroušeně jedince *Salix elaeagnos* různého stáří (většinou ale cca 10-15 let). Řeka je zde regulována, ale občas vytváří přímo v toku i po krajích menší štěrkové náplavy, na mnoha místech je podél břehů štěrkové podloží, které se při vyšším průtoku z části obnažuje.

Lomná

Řeka Lomná je menší beskydská říčka vytvářející ovšem poměrně široké údolí. *Salix elaeagnos* se zde vyskytuje roztroušeně podél toku v obcích Horní Lomná a Dolní Lomná. První jedinci byli nalezeni těsně nad točnou autobusů v Horní Lomné, jedná se o mladší keřové jedince. Řeka je částečně regulována, s mnoha splavy, ovšem určitý její charakter je zachován, v některých místech meandruje a vytváří menší náplavy. Podél řeky se *Salix elaeagnos* vyskytuje spíše jednotlivě, pouze na některých náplavech byl zjištěn o něco větší počet jedinců. Ovšem nikde nedosahuje počet desítek jedinců, jako je tomu na větších beskydských řekách. Většinou se jedná o mladší jedince, spíše keřového vzrůstu. Roste zde společně se *Salix daphnoides*. Dále od toku se nachází také několik větších stromových jedinců. Nejvíce jedinců se nachází na území obce Horní Lomná (po soutok s potokem Stoligy), v Dolní Lomné se *Salix elaeagnos* z břehových postupně vytrácí.

Olše

Dle historických údajů se *Salix elaeagnos* vyskytovala na Olši hned za polskými hranicemi – v Bukovci, Písku, v Jablunkově (Wimmer sec. Formánek 1887, J. Gill 1972 CESK, Deyl sec. Skalický 1978, Chmelař & Koblížek 1990). V současnosti tento výskyt nebyl potvrzen. Ovšem velmi početné porosty *Salix elaeagnos* se nacházejí níže na toku, mezi obcemi Bystřice a Vendryně. Na náplavu u obce Bystřice rostou stovky cca 15 let starých jedinců, kteří zde vytvářejí naprostou monokulturu *Salix elaeagnos*. Jedná se o největší souvislý porost, který jsem v Beskydech zaznamenala (obr. 4). V tomto místě jsou i nově otevřené náplavy, na kterých se vyskytují juvenilní jedinci *Salix elaeagnos*, ovšem nevytvářejí husté porosty jako na Morávce nebo (na menším prostoru) na Kopytné.

Mimo tento úsek se *Salix elaeagnos* na Olši také vyskytuje, v místech, kde je koryto regulováno je vmísena do břehového porostu, který svým charakterem odpovídá jasanovo-olšovému luhu. Na místech, kde se vytvářejí náplavy, je pak s největší pravděpodobností hojnější.

Kopytná

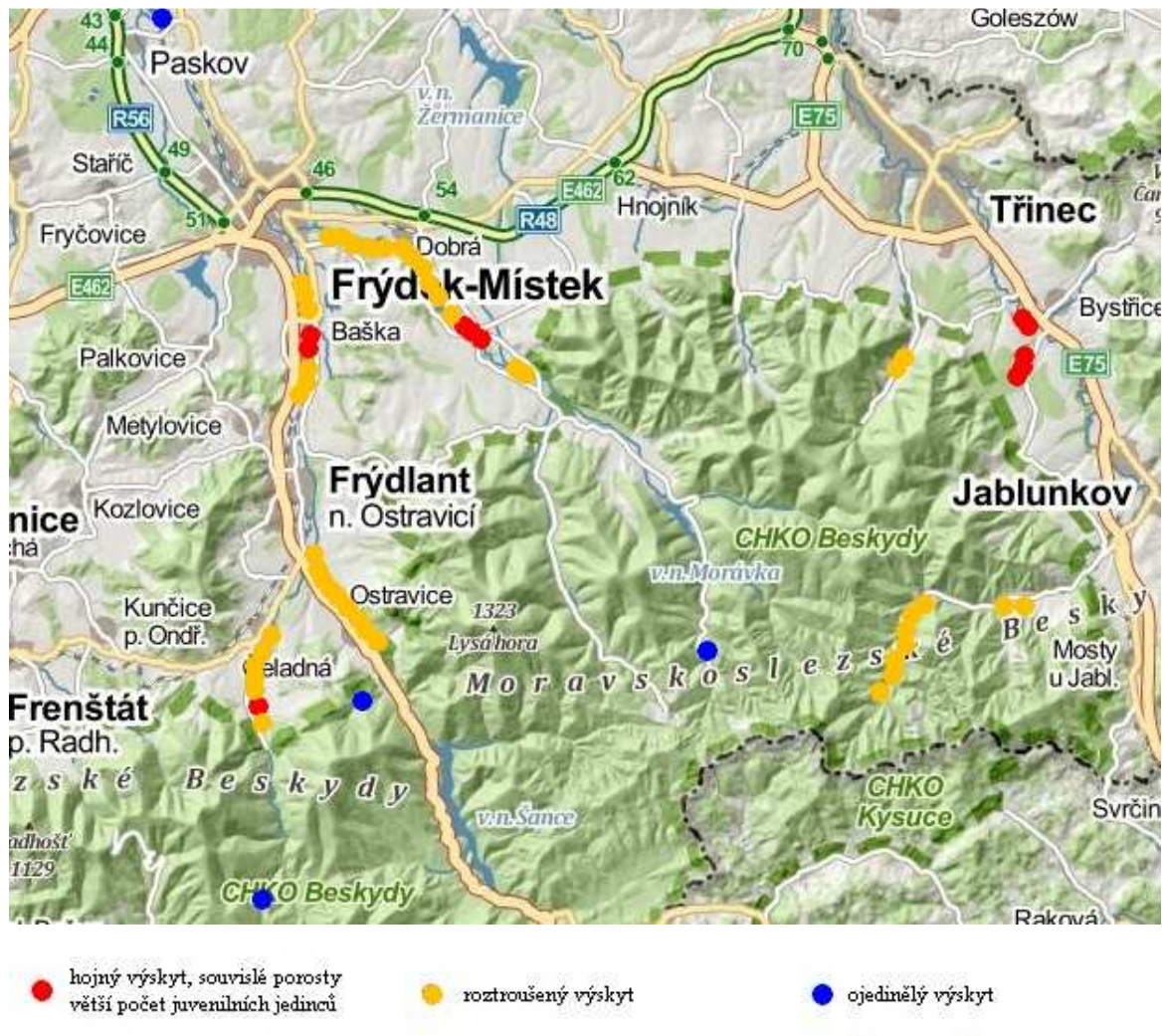
Říčka Kopytná má jako jedna z mála beskydských řek zachován divočící charakter, a to v úseku obce Bystřice – Na Pasekách (obr. 5). *Salix elaeagnos* se zde vyskytuje velmi hojně v různovětých porostech. Na nejmladších náplavech, které vznikly v roce 2010, vytváří husté porosty, srovnatelné svým charakterem s porosty na náplavech Morávky.



Obrázky 4–5. Biotopy *Salix elaeagnos* v povodí Olše. — Obr. 4. monokulturální porosty *Salix elaeagnos* u Bystřice. Obr. 5. divočící úsek Kopytné.

Tyra

Na Tyře se *Salix elaeagnos* vyskytuje podél zpevněných břehů v obci Tyra. Zaznamenala jsem zde tři stromové jedince a do deseti jedinců keřových. Níže je řeka regulována a *Salix elaeagnos* z břehových porostů vymizela.



Obrázek 6. Mapa rozšíření *Salix elaeagnos* v Beskydech.

4.2. Věková struktura populací a poměr pohlaví

4.2.1. Věková struktura

Nejvyšší počet juvenilních jedinců byl zaznamenán na lokalitě Skalická Morávka a Kopytná, na biotopu K2.2 (vrbové křoviny šterkových náplavů), kde juvenilní stádium převládalo. Na starších náplavech Morávky, Ostravice (náplav u obce Baška) a Olše (náplavy u obce Bystřice) převládalo adultní stádium.

Na ostatních lokalitách se *Salix elaeagnos* vyskytovala roztroušeně v porostu, buď ve vrbových křovinách (K2.1 – vrbové křoviny hlinitých a písčitých náplavů) nebo v biotopu L2.2 (údolní jasanovo-olšové luhy). Na prvním uvedeném biotopu převládali jedinci adultní, vzácněji juvenilní. V lužním lese pak jednoznačně jedinci senescentní.

4.2.2. Poměr pohlaví

Na řece Ostravici bylo z celkového počtu 232 kvetoucích jedinců na studovaném náplavu 147 samičích a 85 samčích jedinců (Klečková 2010). Na řece Morávce bylo z vybraných 300 jedinců 193 samičích a 107 samčích, čímž bylo v obou případech dosaženo poměru pohlaví 2:1 pro samice. To odpovídá pro vrby typickému poměru. Na náplavu říčky Čeladenky bylo z celkového počtu 35 jedinců 19 samičích a 16 samčích. Zde je dosaženo poměru 1,2:1. Na Lomné, kde byli sečteni všichni jedinci podél toku v úseku Horní Lomné, bylo z 37 jedinců 25 samičích a 12 samčích, což opět odpovídá poměru 2:1.

4.3. Genotypová variabilita populací

V prvním kroku laboratorní práce se ze 100 vzorků ze čtyř studovaných populací izolovala genomická DNA. Pro další analýzu byly použity pouze vzorky, které měly vyšší koncentraci než 20 µg/µl. Menší koncentraci měl pouze jeden vzorek. Koncentrace ostatních vzorků se pohybovaly ve velmi širokém rozpětí od 22,9 µg/µl po 946,79 µg/µl. Průměrná hodnota byla 289,815 µg/µl.

V další fázi bylo testováno sedm mikrosatelitů (sx08, sx10, sx12, sx14, sx19, sx20, sx22), vybrány byly nakonec tři (sx08, sx19 a sx10), pro které byly nalezeny vhodné podmínky a vyhovovaly tak použití pro zjištění genetické variability (viz tab. 1).

Genetickou diverzitu, zjištěnou elektroforetickou separací PCR produktů na polyakrylamidovém gelu, shrnuje tabulka 2.

V tabulce nejsou zahrnuty veškeré vzorky, které byly v terénu sebrány. Kromě jednoho vzorku, který byl vyřazen pro nedostatečnou koncentraci DNA, se u dalších několika vzorků nepodařilo amplifikovat kvalitní PCR produkt. Celkem bylo vyřazeno 29 vzorků z celkového počtu 100.

Z populace na Morávce bylo použito 18 vzorků, pro populaci na Ostravici 21, pro populaci na Čeladence 10 a pro populaci na Lomné 22 (viz tab. 3).

Tabulka 1. Testované mikrosatelity, podle Barker et al. 2003. U použitých mikrosatelitů je uvedena annealingová teplota (T_a) a počet cyklů PCR (C).

název	sekvence primeru (5' – 3')	opakovaný motiv	původní název	T_a [°C]	C
sx08	F: ACTTCAATCTCTGTATTCT R: CTATTTATGGGTTGGTCGATC	[TG] ₂₁ AG[TG] ₃ AG[TG] ₃ AG[TG] ₃ AGTGAG[TG] ₃	SB24	59,8	30
sx10	F: TAATGGAGTTCACAGTCCTCC R: ATACAGAGCCCATTTTCATCAC	[TC] ₂₁	SB80	54,1	31
sx19	F: CTATTTGTTCTCAATACCTT R: CTTTACCTCAGAAAATCCAGA	[TG] ₁₁ CG[TG] ₆	SB199	49,7	35
sx12	F: TATTGCTTTGATGGCGACTGC R: CAGCAACGGAAATAGCAACAG	[ACCGCC] ₅ ACCGC	SB88		
sx14	F: ATGTCATT CAGGTTTGTTC R: ATGGTTTAACTTGTTACTGTA	[CCG] ₅	SB100		
sx20	F: CCTCTTTTCTATTGTGGTCT R: GGCATGTATTTTACTCCAAC	[CT] ₄ CC[CT] ₃ [CA] ₂₂	SB201		
sx22	F: TATAAAGACAAATACCTGGGG R: CATCAAAGACTGCTAGAAAGG	[CA] ₂ [GA] ₂ GGAA [TA] ₂ [CA] ₁₅ GA	SB210		

Tabulka 2. Genotypy jedinců na studovaných lokalitách. (Pokračování na další straně)

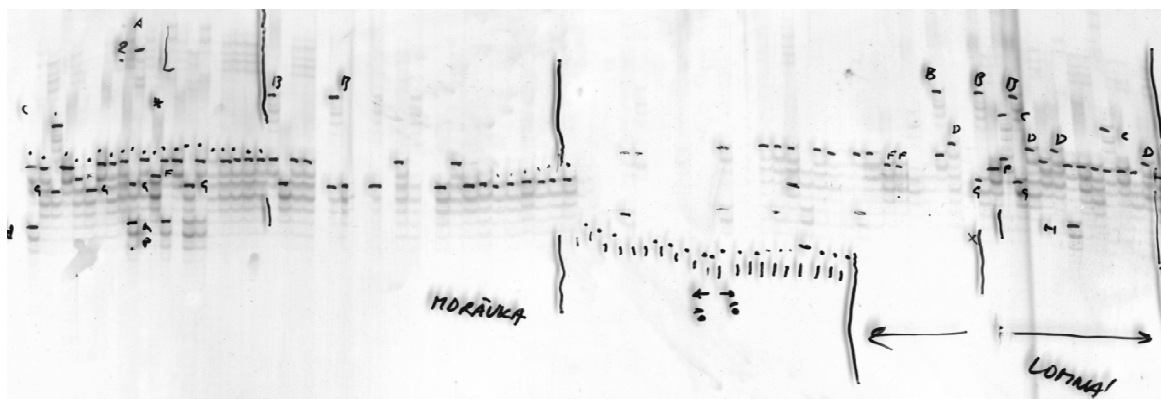
číslo vzorku	lokalita	primer		
		sx08	sx19	sx10
7	Ostravice	EH	F	0
8	Ostravice	E	B	DF
9	Ostravice	CG	B	0
10	Ostravice	E	D	E
11	Ostravice	F	D	E
12	Ostravice	G	D	E
13	Ostravice	E	A	F
14	Ostravice	E	D	EF
15	Ostravice	E	C	E
16	Ostravice	AG	B	DF
17	Ostravice	E	DF	0
18	Ostravice	F	D	0
19	Ostravice	EH	0	E
22	Ostravice	E	AD	0
23	Ostravice	G	DF	0
24	Ostravice	E	D	D
25	Ostravice	E	A	FD
26	Ostravice	E	BE	0
27	Ostravice	E	AD	DF

číslo vzorku	lokalita	primer		
		sx08	sx19	sx10
28	Ostravice	E	D	E
29	Ostravice	E	D	E
52	Morávka	BE	DF	E
54	Morávka	G	D	E
55	Morávka	E	O	D
56	Morávka	E	D	O
59	Morávka	BE	G	D
60	Morávka	G	E	O
63	Morávka	BG	E	E
65	Morávka	E	B	O
67	Morávka	BG	C	D
69	Morávka	G	C	D
70	Morávka	E	CF	F
72	Morávka	G	CF	D
73	Morávka	G	F	F
75	Morávka	G	F	D
77	Morávka	G	C	CF
78	Morávka	G	C	D
79	Morávka	G	C	F
80	Morávka	G	O	DF
100	Čeladenka	G	C	D
106	Čeladenka	E	AC	O
113	Čeladenka	EH	CF	O
116	Čeladenka	E	AE	E
117	Čeladenka	EH	C	O
118	Čeladenka	EG	AC	O
120	Čeladenka	F	F	CF
122	Čeladenka	E	AC	DF
123	Čeladenka	E	E	DF
124	Čeladenka	O	A	D
L1	Lomná	EH	F	DF
L2	Lomná	E	O	D
L3	Lomná	F	A	DE
L4	Lomná	F	A	O
L5	Lomná	G	E	DF
L7	Lomná	BE	C	O
L8	Lomná	D	B	D
L9	Lomná	BG	C	D
L10	Lomná	F	AC	DF
L11	Lomná	CE	AD	D
L12	Lomná	BG	B	DE
L13	Lomná	D	AB	D
L14	Lomná	E	D	AD
L15	Lomná	D	B	D

číslo vzorku	lokalita	primer		
		sx08	sx19	sx10
L16	Lomná	EH	0	AE
L17	Lomná	E	D	DF
L18	Lomná	E	E	BC
L19	Lomná	CE	0	F
L20	Lomná	E	D	DF
L21	Lomná	E	E	D
L22	Lomná	D	0	DF
L23	Lomná	E	AE	DF

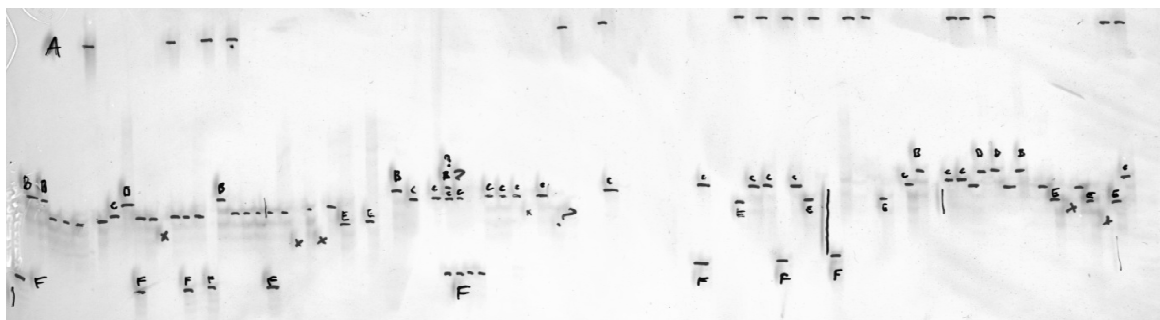
4.3.1. Vnitropopulační variabilita

Pro mikrosatelit sx08 bylo ve studovaných populacích zjištěno osm různých alel (A – H). Alela A se objevila pouze jednou a to u jednoho jedince na Ostravici. Pro populaci na Lomné byla specifická alela D. Alela C byla také méně početná, s pouhými třemi výskyty: dva v populaci na Lomné, jeden na Ostravici. Alela B byla přítomna pouze v populacích na Morávce a Lomné. Ve všech populacích mimo Morávku se vyskytovaly alely F a H. Nejpočetnější alelou, která byla přítomna ve všech studovaných populacích, byla alela E. Další alelou, která byla zaznamenána ve všech populacích, byla alela G.



Obrázek 7. Skan mikrosatelitu sx08.

Pro mikrosatelit sx19 bylo celkem zjištěno šest alel (A – F). Alely A, C a E se vyskytovaly ve všech populacích, stejně tak alela F, která ovšem na Lomné byla přítomna pouze u jediného studovaného jedince. Ve třech populacích velmi početná alela D se neobjevila v populaci na Čeladence. Na Morávce naopak chyběla alela B.



Obrázek 8. Skan mikrosatelitu sx19.

Podobně pro mikrosatelit sx10 bylo zjištěno také šest alel (A – F). Zde se objevily dvě alely pouze u populace na Lomné a to alely B (pouze jeden výskyt) a A (dva výskyty). Alela C se vyskytla pouze třikrát, vždy pouze u jednoho jedince na Morávce, Čeladence a Lomné. Ostatní tři alely (D, E, F) byly přítomny ve všech studovaných populacích.



Obrázek 9. Skan mikrosatelitu sx10.

Vše shrnuje tabulka 3.

Tabulka 3. Zjištěné alely v jednolitých populacích.

lokalita	celkem vzorků	využito pro analýzu	zjištěné alely		
			sx08 (A-H)	sx19 (A-F)	sx10 (A-F)
Ostravice	23	21	A,C,E,F,G,H	A,B,C,D,E,F	D,E,F
Morávka	29	18	B,E,G	B,C,D,E,F	C,D,E,F
Čeladenka	25	10	E,H,G	A,C,E,F	C,D,E,F
Lomná	23	22	B,C,D,E,F,G,H	A,B,C,D,E,F	A,B,C,D,E,F

Kombinace všech tří mikrosatelitů ukázala, že populace jsou geneticky velmi variabilní. Bylo zjištěno 63 odlišných genotypů u 71 vzorků (resp. 50 z 71). Vysoká variabilita je i v rámci populací (Morávka 17 (resp. 16) genotypů u 18 vzorků, Ostravice

19 (resp. 18) genotypů z 21 vzorků, na Čeladence 10 (resp. 9) z 10, na Lomné 20 (resp. 18) z 22. Některé genotypy byly stejné napříč populacemi, ovšem bylo jich velmi málo (G/D/G pro Ostravici a Morávku, genotyp BG/C/D pro Morávku a Lomnou a G/C/D pro Morávku a Čeladenku). U osmi dalších genotypů tuto možnost nelze potvrdit, ani vyvrátit.

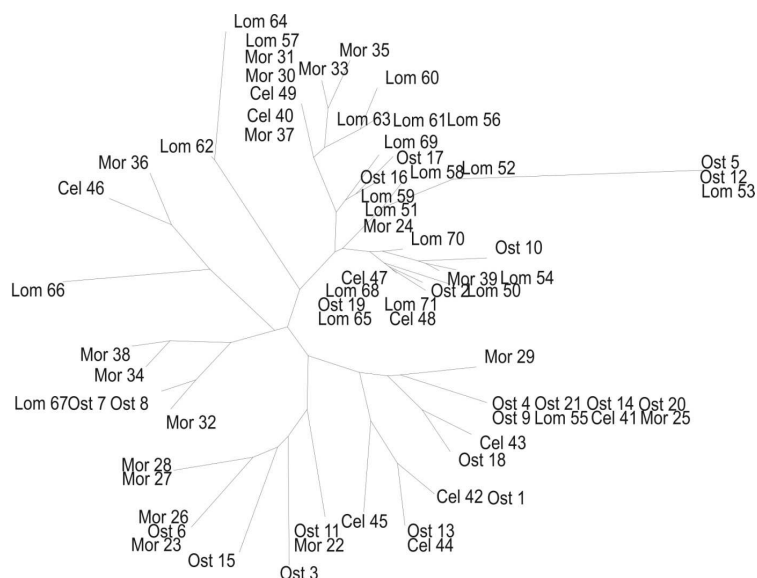
Klonalitu v rámci populací shrnuje tabulka 4.

Tabulka 4. Klonalita v rámci populací.

lokalita	počet vzorků	počet genotypů	procento odlišných genotypů	počet originálních genotypů	počet klonálních genotypů
Ostravice	21	19/16	0,9/0,76	18/12	3/9
Morávka	18	17/15	0,94/0,83	16/11	2/7
Čeladenka	10	10/9	1/0,9	10/8	0/2
Lomná	22	20/18	0,91/0,82	18/14	4/8

4.3.2. Příbuznost populací

Pro získání představy o příbuznosti populací byl vytvořen UPGMA dendrogram za využití dat ze tří mikrosatelitů. Dendrogram založený na získaných genetických datech neprokázal žádnou významnou strukturu v populacích. Tři analyzované mikrosatelity mají genetickou podobnost napříč populacemi a data neukázala žádnou geografickou strukturu.



Obrázek 10. UPGMA dendrogram vytvořený za využití dat ze tří mikrosatelitů.

5. DISKUZE

5.1. Charakteristika rozšíření *Salix elaeagnos* v ČR

Salix elaeagnos se v České republice vyskytuje v současnosti a i dle historických herbářových dokladů pouze v podhůří Moravskoslezských Beskyd. Důvodem je karpatský charakter Beskyd a jejich řek, který umožňuje vznik šterkových náplavů – biotopu typického pro *Salix elaeagnos* (Reichinger 1964, Koblížek 2002). Geologické podloží Beskyd je totiž tvořeno karpatským flyšem, který je erozně náchylný, a proto jsou mnohé beskydské toky šterkonosné, a v minulosti vytvářely široká divočící koryta (Hradecký 2002). Svůj význam má také skutečnost, že pro Beskydy je typický poměrně prudký zlom sklonu svahu, kdy se rychle proudící bystřina vlije do širokého údolí. To způsobí zpomalení proudu a usazení šterkových splavenin. Podstatné jsou i velké srážkové úhrny (jedny z nejvyšších v republice), převážně v letních měsících (Birklen et al. 2008).

V současnosti jsou ovšem beskydské toky výrazně pozměněny, proto také mnoho historických lokalit *Salix elaeagnos* zaniklo, např. povodí Bečvy – lokalita z roku 1928: Rožnov pod Radhoštěm: na poříčí Vermířovského potoka v Dolních Pasekách u Rožnova, s *Myricaria germanica* (J. Shuster 1928 PR) nebo povodí Olše – lokality Bukovec (Wimmer sec. Formánek 1887) a Písek u Jablunkova (Wimmer sec. Formánek 1887, J. Gill 1972 CESK, Deyl sec. Skalický 1978, Chmelař & Koblížek 1990). Ovšem na větší části historických lokalit se *Salix elaeagnos* stále vyskytuje, jenom charakter jejího rozšíření je jiný. Místo souvislých porostů na širokých náplavech, které byly běžné na beskydských řekách ještě na začátku minulého století (Hradecký 2002), je to dnes většinou pouze roztroušený výskyt jedinců v druhově pozměněných břehových porostech. Příkladem může být rozšíření na soutoku Ostravice a Morávky, které bylo v minulosti velmi hojné (viz herbářové literární a herbářové doklady: poříčí Ostravice dosti četně, zvláště pak v křovišti pod Starým Městem (Gogela sec. Formánek 1887), Frýdek-Místek: kousek od soutoku Morávky a Ostravice (G. Weeber 1905 BRNU)) a dnes zde *Salix elaeagnos* roste jen velmi sporadicky (Klečková 2010).

Mimo přirozené populace se *Salix elaeagnos* vyskytuje často v parcích a zahradách ve formě kultivaru *Salix elaeagnos* cv. *Angustifolia*. Tento kultivar také tvoří většinu herbářových dokladů pro druh *Salix elaeagnos* z území ČR. Ve své práci jsem se jím více nezabývala, protože případy zplanění jsou zcela ojedinělé a ani ke křížení s naší původní *Salix elaeagnos* pravděpodobně nedochází (Klečková 2010).

5.1.1. Současný stav beskydských populací

Rozšíření *Salix elaeagnos* v Beskydech se soustřeďuje především na větší řeky – střední tok Morávky, Ostravice, Olše a dolní tok Čeladenky, kde byly původně velké plochy šterkových náplavů (III. vojenské mapování). I v dnešní době zde nalezneme větší šterkové náplavy, ačkoliv v pozměněné podobě. Tato místa jsou pak centry rozšíření *Salix elaeagnos*. Významným tokem pro výskyt *Salix elaeagnos* je také říčka Kopytná, kde na části toku zůstal zachován divočící charakter (Šigutová 2009).

Největší porosty *Salix elaeagnos* v Beskydech nalezneme na řece Morávce, v NPP Skalická Morávka. V těchto místech, kde charakter toku nejvíce odpovídá přirozeným biotopům *Salix elaeagnos*, se nachází stovky jedinců různého stáří a *Salix elaeagnos* zde úspěšně zmlazuje, což bylo možné pozorovat po květnové povodni v roce 2010. Na otevřených plochách se již v létě objevily stovky semenáčků *Salix elaeagnos*, které úspěšně přežívají i v dalších letech. V prvním roce byly na náplavech poměrně hojné i semenáčky *Salix purpurea*, ty ovšem postupně téměř vymizely. Zajímavé bylo sledovat rozdílnou „taktiku“ v růstu, kdy *Salix purpurea* rostla rychle za světlem, vytvářela dlouhé nerozvětvené proutky, naopak *Salix elaeagnos* se držela spíš níže při povrchu a větvila se. Domnívám se, že výhodou pro *Salix elaeagnos* bylo výraznější zastínění konkurenčních bylin a rovněž vlhčí mikroklima při povrchu půdy. Voda také nemusela být vedena pletivy tak vysoko, proto možná semenáčky lépe odolávaly sušším obdobím. Potvrzuje se tedy skutečnost, že *Salix elaeagnos* je na podmínky šterkových náplavů skvěle adaptována (Karrenberg & Suter 2003, Francis et al. 2005).

Ovšem tento úsek toku má pouze cca 5 km, výše je koryto řeky regulováno, níže se pak řeka zahlubuje a vytváří kaňon. I tady *Salix elaeagnos* roste, což je hlavně důsledek velkého přísunu semen z vyšších částí toku a také toho, že v místech, kde je dnes koryto zahloubeno, byly ještě před rokem 1955 široké náplavy (Hradecký 2002), kde se *Salix elaeagnos* hojně vyskytovala.

S charakterem rozšíření na Morávce lze v rámci Beskyd srovnávat pouze porosty *Salix elaeagnos* na říčce Kopytné. V divočícím úseku toku se *Salix elaeagnos* vyskytuje velmi hojně, vytváří souvislejší různověké porosty, a na náplavech otevřených po povodni v roce 2010 také intenzivně zmlazuje. Výhodou Kopytné je skutečnost, že nad divočícím úsekem není na toku žádná větší překážka pro splavování šterkového materiálu. Proto bych Kopytnou považovala za nejnadějnější lokalitu pro budoucnost *Salix elaeagnos* v Beskydech.

Úplně jiná je situace na dalších řekách, které jsou na většině toku regulovány. Na řece Ostravici se jediné fragmenty náplavů nacházejí u obce Baška a vznikly pravděpodobně hlavně v roce 1997, kdy Severní Moravu zasáhly silné povodně. Tato pětisetletá voda „renaturalizovala“ velký počet toků na Moravě, poničila zpevněné břehy a z části navrátila řeky do jejich přirozených koryt (Loučková 2012). Na Ostravici se u obce Baška vytvořily až sto metrů široké náplavy bez vegetace, vznikly jak zcela nové náplavy, tak došlo k převrstvení náplavů historických (Kálníková 2012). Množství splavenin bylo extrémně vysoké a to i přesto, že velkou část štěrkového materiálu zadržela přehrada Šance (Hrádek 2000). Situace podobná této nenastala na Ostravici minimálně dvě desítky let (Kálníková 2012).

Dnes se v této lokalitě nachází porost *Salix elaeagnos* čítající desítky jedinců přibližně stejného stáří. *Salix elaeagnos* zde i zmlazuje, ovšem juvenilních jedinců je v porostu menšina. Příčinou je sukcese náplavů v následujících letech po povodni, kdy se náplavy zazemňují a zarůstají i jinými dřevinami než vrbami – topoly, olšemi, jasaný, ale i nepůvodními druhy jako *Robinia pseudoacacia* a *Acer negundo*, a také křídlatkou (*Reynoutria* sp.). Semenáčkům *Salix elaeagnos* se proto nedostává klíčového množství světla.

Po povodni v roce 2010 se na Ostravici opět vytvořily otevřené štěrkové plochy, ovšem v mnohem menším rozsahu než v roce 1997 (Kálníková 2012). Výraznější zmlazení *Salix elaeagnos* nebylo zaznamenáno.

Na ostatních úsecích pod přehradou je řeka uzavřena ve zpevněném korytě bez souvislejších vrbových porostů na břehu. Břehovým porostům dominují druhově pozměněné jasanovo-olšové luhy, v kterých občasně přežívají i jedinci *Salix elaeagnos*. Náplavy v těchto místech vznikají pouze uvnitř zpevněného koryta, jsou malé a pro výskyt vrb ne zcela vyhovující, protože jsou až příliš často přeplovovány vodou, výše na toku také mnohdy zastíněny okolními stromy.

Podobná situace je i na dolním toku řeky Čeladenky. I zde byly v minulosti široké náplavy (III. vojenské mapování). Dnes je řeka regulována, štěrkové podloží ale v břehových terasách zůstalo, proto je i zde při extrémním průtoku potenciál na vytvoření větších náplavů. Náplav v obci Čeladná s porostem desítek jedinců *Salix elaeagnos* odkazuje na takovouto situaci v roce 1997.

S rozšířením na Ostravici lze ale nejlépe srovnat rozšíření *Salix elaeagnos* na Olši. I Olše je z velké části regulovaná, ale nalezneme zde úseky, kde se stále vytváří a vytvářely náplavy. U obce Bystřice se pak nachází vůbec největší jednolitý porost *Salix elaeagnos*,

který jsem v Beskydech zaznamenala. Věk jedinců (cca 15 let) opět odkazuje na povodeň v roce 1997. Na stejném místě se otevřel nový náplav i po povodni v roce 2010, ovšem k výraznějšímu zmlazování *Salix elaeagnos* nedochází. To může být v tomto případě dáno přeskupováním a udusáním šterkových naplavenin v rámci povodňových úprav toku.

Populace na menších tocích, z nichž jsem se v této studii zaměřila na Čeladenku, Lomnou, Tyru, Kopytnou a horní toky Ostravice a Morávky, jsou svými podmínkami (s výjimkou Kopytné, viz výše) jiné – v první řadě zejména tím, že jsou to řeky s menším průtokem, v užších údolích, které by vytvářely výrazně menší náplavy, i kdyby nebyly vůbec regulovány. Ovšem výskyt *Salix elaeagnos* i na takovýchto tocích je v Karpatech běžný – příkladem můžou být porosty na potoku Revúca na Velké Fatře nebo podél Černé Tisy v ukrajinských Karpatech. *Salix elaeagnos* zde roste roztroušeněji podél toku, nevytváří souvislé porosty jako na širokých náplavech.

Výskyt *Salix elaeagnos* na horních tocích Čeladenky, Morávky i Ostravice je v Beskydech velmi vzácný, na Čeladence jsou to dva doložení jedinci z malého náplavu nad Podolánkami, na Morávce pak jeden velký jedinec pod osadou Bebek. Výskyt na Ostravici nad přehradou Šance nebyl prokázán. Jako důvod bych viděla především to, že jsou tyto lokality odděleny od větších populací *Salix elaeagnos* poměrně dlouhými úseky, kde se vhodné lokality nevyskytují. Údolí Morávky i Čeladenky je v délce několika kilometrů poměrně úzké a stinné, koryto řeky se zahlubuje a vytváří peřeje. Proto tyto úseky mohou být téměř nepřekonatelnou překážkou pro šíření semen a pylu z populací ležících po proudu řeky, navíc i na první pohled vhodné lokality na vyšších místech na toku mohou být klimaticky pro *Salix elaeagnos* náročné (krátká vegetační sezóna, mráz i v pozdějších jarních měsících, nedostatek slunečního svitu).

Ovšem vysvětlení může být i jiné, *Salix elaeagnos* zde mohla mít v minulosti hojnější výskyt než dnes, ale po přeměně toků a zmenšování populací se také snížil přísun diaspor a populace z těchto lokalit vymizely. Svoji roli také mohla hrát přeměna lesních porostů na smrkové monokultury, které zvyšují kyselost prostředí, což *Salix elaeagnos* příliš nevyhovuje (Skvortsov 1999). Ovšem vzhledem k chybějícím údajům o historickém rozšíření na horních tocích Morávky a Čeladenky se jedná pouze o spekulace.

Podobná zdůvodnění je možno hledat i pro nepřítomnost *Salix elaeagnos* nad přehradou Šance, kde by například na náplavech Velkého potoka, ale i na Ostravici měla vhodné lokality. O výskytu na Velkém Potoce se zmiňují data AOPK z mapování NATURA 2000. Ovšem v terénu se mi výskyt nepodařilo prokázat, mohlo zde jít o

záměnu s křížencem *Salix ×rubra* (*Salix purpurea* × *Salix viminalis*), který podél Velkého Potoka roste.

Svou roli zde může hrát přehrada Šance, která oddělila horní tok a jeho přítoky od populací *Salix elaeagnos* pod přehradou. S dalšími přeměnami koryta a úbytkem *Salix elaeagnos* na beskydských tocích obecně, se pak mohlo svést úplné vymizení druhu z oblasti nad přehradou. Ovšem příčina může být, stejně jako v předchozím případě, i v mikroklimatických podmínkách. Ani u těchto lokalit totiž nejsou žádné údaje o historickém rozšíření.

Řeka Lomná, i když je to menší říčka srovnatelná s horními toky předchozích řek, protéká poměrně širokým a prosvětlenějším údolím. *Salix elaeagnos* roste na menších náplavech podél koryta, ve vrbových křovinách v blízkosti řeky, ale i v podobě větších jedinců od řeky dále vzdálenějších. Jeden stromový jedinec roste přímo v zahradě restaurace Buldoček. Tito starší jedinci mohou být reliktem původně hojnější rozšíření před regulací Lomné, strom v zahradě pak může ukazovat na občasné výsadby *Salix elaeagnos* jako dekorativní dřeviny. Historicky bylo dle herbářových a literárních dokladů (Písek u Jablunkova (Wimmer sec. Formánek 1887, J. Gill 1972 CESK, Deyl sec. Skalický 1978, Chmelař & Koblížek 1990), Bukovec, Jablunkov, Nýdek, Bystřice (Wimmer sec. Formánek 1887)) rozšíření *Salix elaeagnos* v povodí Olše významné a souvislé, i to je nespíš důvodem, proč je dnes na Lomné *Salix elaeagnos* tak početná, i přesto, že podmínky na řece nejsou ideální.

Podobná situace je i na říčce Tyře. *Salix elaeagnos* se zde sice v obci Tyra vyskytuje, ovšem koryto řeky je zpevněno a náplavy se téměř nevytvářejí.

Že jsou však údolí říček v této části Beskyd svým charakterem pro výskyt *Salix elaeagnos* vhodné, dokazuje velmi hojný výskyt na Kopytné, která svou velikostí odpovídá Lomné i Tyře.

Jak vyplývá i z výše popsané situace přeměnných toků, na většině lokalit *Salix elaeagnos* v Beskydech převažují v porostech adultní a senescentní jedinci nad juvenilními. Výjimkou jsou pouze populace na lokalitě v NPP Skalické Morávka a na Kopytné, kde jsou populace vyrovnané až dynamické (s převahou juvenilních jedinců). Na starších náplavech Morávky, Ostravice a Olše s porosty *Salix elaeagnos* převládalo adultní stádium, stejně tak i většina jedinců rostoucích roztroušeně ve vrbových křovinách (K2.1 – vrbové křoviny hlinitých a písčitých náplavů) odpovídala věkem adultům. V biotopu L2.2

(údolní jasanovo-olšové luhy), který je podél studovaných toků nejčastější, pak jednoznačně převládali jedinci senescentní.

Charakteristika populací dle věkové struktury byla v Beskydech hodnocena u druhu *Salix daphnoides* (Stanovská 2011). Tento druh vrby je svou biologií blízký *Salix elaeagnos*, jsou diagnostickými druhy společenstva *Salicion elaeagno-daphnoidis* a v Beskydech společně rostou na všech čtyřech studovaných populacích.

Stanovská popisuje čtyři typy populací (dynamické, normální, regresivní a jejich kombinace) dle metodiky použité při studiu demografie populací *Gentiana pneumonanthe* (Oostermeijer et al. 1994) a *Salvia pratensis* (Hegland 2001). Dynamické populace popisuje na biotopech K2.2 (vrbové křoviny šterkových náplavů), konkrétně na řece Morávce, Ostravici, Olši a na říčkách Lomné a Kopytné. *Salix elaeagnos* se na těchto lokalitách vyskytuje hojněji než *Salix daphnoides*, ovšem s charakteristikou jejích populací jako dynamických bych byla opatrnější. Pouze na Morávce a Kopytné se vyskytuje velký počet juvenilních jedinců, který převyšuje počet jedinců adultních. Populace na Ostravici, Olši a Lomné jsou trochu jiného charakteru, na Ostravici i Olši jsou sice zmiňované náplavy se zapojeným porostem mladších jedinců (ovšem vzhledem ke krátkověkosti vrb jsem je hodnotila jako adultní, jejich odhadované stáří je přibližně 15 let), přesto zde téměř chybí jedinci juvenilní. Na Lomné je pak věková struktura populace poměrně vyrovnaná, na náplavech rostou i juvenilní jedinci, v okolí řeky pak jedinci senescentní.

Převahu adultních jedinců (populace normální) pak nalezneme také na starších náplavech řeky Morávky, které odpovídají přechodnému biotopu mezi K2.2 a L2.2 (údolní jasanovo-olšové luhy). V samotné biotopu L2.2 pak převažují jedinci senescentní (populace regresivní). Ke stejným výsledkům došla i kolegyně Eva Stanovská (2011).

Pro *Salix elaeagnos* je vzhledem k její ekologii a r-strategii nejpřirozenější populace dynamická na mladších náplavech a populace normální na náplavech staršího data.

Současný stav beskydských populací se těžko porovnává s populacemi v Alpách, kde je *Salix elaeagnos* běžným druhem. Většina studií, které se *Salix elaeagnos* zabývají, pochází z alpských zemí, nejčastěji z Itálie z řeky Tagliamento (např. Kollmann 1999, Karrenberg & Suter 2003), která je považována za poslední evropskou řeku, která má divočí charakter po celé části toku. Studie z Alp jsou zaměřené hlavně na ekofyziologické charakteristiky (např. Francis et al. 2005) a sukcesi na náplavech (např.

Karrenberg et al. 2002a). Podmínky v Alpách jsou pro populace *Salix elaeagnos* příznivé a velmi blízké přirozeným, proto zde nebyla nutnost zabývat se strukturou rozšíření *Salix elaeagnos* podél toku a hledání příčin, proč se na některých příhodných lokalitách nevyskytuje. V těchto studiích také nelze najít přímou odpověď na otázku vlivu regulace toků a přeměny biotopů na populace *Salix elaeagnos*. Ovšem tato problematika lze porovnávat s jinými studiemi, které se zabývají vlivem regulace toků na pionýrské dřeviny. Ve dvou vybraných studiích (González et al. 2010 a Katz et al. 2005) je popisována situace porostů pionýrských dřevin, které se po regulaci dostaly mimo aktivní zónu toku na vyvýšené terasy podél břehů. To s sebou neslo snížení disturbance a zapojení porostů, což bylo kritické pro přežívání semenáčků citlivých na nedostatek světla. Tím došlo k stárnutí porostů pionýrských dřevin a postupné přeměně společenstva na lužní les. Velmi podobnou situaci pozorujeme na beskydských lokalitách *Salix elaeagnos*, ve velké míře například na Ostravici.

Takovou zajímavostí, která ale o situaci *Salix elaeagnos* také něco prozrazuje, je její výskyt na haldě v Paskově. Halda leží pouze několik desítek metrů od břehu Ostravice. A i když v těchto místech řeka už náplavy v podstatě nevytváří a výskyt *Salix elaeagnos* zde je velmi sporadický, roste na okraji haldy hned několik mladých jedinců. Substrát výsypky je svým charakterem podobný štěrku, je snadno propustný a v suchých obdobích vysychá, což jsou podmínky, na které je *Salix elaeagnos* adaptována. Na co ale tento výskyt poukazuje hlavně je, že má *Salix elaeagnos* stále potenciál šířit se a obsazovat nové lokality, a že za jejím úbytkem v České republice stojí hlavně zánik a přeměna biotopů.

5.2. Genetická variabilita

Ve studii byly využity kodominantní genetické markery, mikrosatelity, které umožňují rozlišovat homo- a heterozygoty a tím spočítat frekvence alel v populacích. Díky této vlastnosti jsou mikrosatelity hojně využívány ke zjištění genetické diverzity a populační struktury. Jejich výhodou je i to, že obsahují více alel na lokus (odpovídající ploidní úrovni taxonu), tudíž se hodí i pro analýzu genového toku (Lowe et al. 2004).

Mikrosatelity jsou specifické pro konkrétní taxony, ale dají se mnohdy využít i pro příbuzné druhy. To byl případ i této studie, kdy byly využity mikrosatelity testované pro různé druhy rodu *Salix* (Barker et al. 2003, Stamati et al. 2003). Přímo pro *Salix elaeagnos* mikrosatelity dosud v literatuře testovány nebyly, proto bylo nutné pro tuto studii

optimalizovat podmínky (počet cyklů PCR reakce, annealingová teplota), což bylo časově náročné. Ideální podmínky se povedlo nalézt u tří mikrosatelitů ze sedmi testovaných. U dalších tří se ani po několika pokusech se změnami teplot a cyklů nepodařilo nalézt podmínky, které by umožnily čitelné zobrazení *bandů* (proužků) na polyakrylamidovém gelu. Mikrosatelit sx14 nevykazoval žádnou variabilitu, proto jej nebylo možné použít.

Pro genetickou analýzu bylo celkem v terénu sebráno 100 vzorků listů. Z toho počtu muselo být 29 vzorků vyřazeno. Důvodem bylo především to, že se z listu, nejspíše chybou při izolaci, nepodařilo získat dostatečně kvalitní DNA. Takže i když naměřená koncentrace DNA vyhovovala potřebnému minimu, znečištění (RNA nebo proteiny) neumožnilo správné proběhnutí PCR reakce, a proto se na výsledném gelu vzorek nezobrazil. Bohužel toto vyřazování zasáhlo více vzorky z populace na Čeladence, ze které bylo vyřazeno 15 vzorků, u kterých se nepodařilo získat výsledky ani po opětovné izolaci DNA.

Pro jednotlivé mikrosatelity byl zjištěn poměrně vysoký počet alel (sx08 osm alel, sx19 šest alel, sx10 šest alel). V genotypech zkoumaných jedinců bylo v rámci populací nejvíce alel na říčce Lomné, kde se u mikrosatelitů sx19 a sx10 vyskytovaly všechny přítomné alely, u mikrosatelitu sx08 chyběla pouze alela A, která se byla nalezena pouze jedenkrát v populaci na Ostravici. Menší alelovou diverzitu pak naopak vykazovala populace na Morávce a také na Čeladence. To se dá vysvětlit rozdílnými podmínkami, které na řekách panují. Zatímco na Morávce jsou pro šíření *Salix elaeagnos* vhodné podmínky, kdy přežije větší procento semenáčků, na Lomné je na malých náplavech mnohem silnější konkurenční boj a i celkově nižší pravděpodobnost na uchycení semenáčků vůbec. Podobná situace byla sledována u ekologicky příbuzného druhu *Salix daphnoides* (Sochor 2011). Na Morávce navíc k příhodným podmínkám nedochází každý rok, ale pouze v letech, kdy přijde větší voda, a vzniknou tak otevřené náplavy. Semenáčky, které se na volné ploše uchytí a přežijí, poté patří do stejné „věkové“ kategorie, která odpovídá genetické diverzitě vniklé v daném roce. Na Lomné jsou si podmínky jednotlivých let podobnější (až na roky s extrémním průtokem), proto zde nenajdeme stejnověké porosty jako na Morávce, ale různověké jedince roztroušeně podél toku. Vzorky z Morávky byly sbírány právě převážně v porostu jedinců stejného věku (cca 15 let) na ploše okolo 0,5 km², zatímco vzorky z Lomné pochází z přibližně tří kilometrů toku, a mezi jedinci jsou i několikasetmetrové vzdálenosti.

Závislost prudkého zvýšení abundance druhu po povodních dokazuje na Morávce aktuální situace, kdy jsou zde stovky juvenilních jedinců, kteří se uchýlili na otevřených náplavech po povodni v roce 2010. Že k tomu docházelo i v minulosti, lze odhadovat i z věkové skladby *Salix elaeagnos* na starších náplavech. Že byly věkové odhady správné, dokazuje porovnání s daty získané pro Morávku dendrochronologickými rozbory (Prach 2013 – in verb.). U dvou jedinců, kteří rostou na náplavu, u kterého se odhadoval vznik v roce 1997, bylo prokázáno stáří 14 let. U dalších dvou jedinců na ještě starším náplavu byl zjištěn věk 25 let, což odkazuje k povodním, které zasáhly Moravu v roce 1985.

Hypotetický vliv na vyšší genetickou diverzitu populací na Lomné, může rovněž mít fakt, že zdejší populace je blíže populacím slovenských Karpat, s kterými je může propojovat vzdálený genový tok.

Kromě mikrosatelitu *sx10*, vykazuje vysokou alelovou diverzitu i populace na Ostravici. Důvod může být podobný jako na říčce Lomné, i když charakter toku je jiný. Na Ostravici vznikají větší náplavy, blízké těm na Morávce, výjimečně, jednou za mnoho let a mimo tyto roky s extrémním průtokem je šíření *Salix elaeagnos* závislé na pár přeživších semenáčcích, které se dostaly na vzácnou vhodnou plošku.

Bohužel malý počet analyzovaných vzorků z populace na Čeladence neumožňuje jednoznačnou interpretaci a závěry. Nicméně, menší počet alel může souviset s faktem, že *Salix elaeagnos* zde roste hlavně na jednom náplavu, kde jsou jedinci přibližně stejného stáří, a v okolí a výše na toku se nachází pouze pár jedinců *Salix elaeagnos*. Vzorky pro analýzu pocházely právě z tohoto náplavu.

Klonalita byla u všech studovaných populací velmi nízká, což naznačuje, že populace jsou variabilní, nebyly uměle dosazovány a ani u nich nedochází k vegetativnímu rozmnožování, které je jinak typické pro čeled' *Salicaceae* (Karrenberg et al. 2002a). Podobných výsledků bylo dosaženo i u přirozených beskydských populací druhu *Salix daphnoides* (Sochor et al. 2013) nebo také v japonské studii na *Salix huakoana* (Kikuchi et al. 2011).

Počet klonálních jedinců nebylo možné určit přesně, jelikož u některých vzorků došlo k tomu, že daly hodnotitelný výsledek pouze u dvou ze tří použitých mikrosatelitů. Proto je ve výsledcích operováno jak s prokazatelnými klony, tak s těmi potenciálními. Ovšem množství potenciálních klonů není nijak vysoké, proto se ani v situaci, kdy by se opravdu jednalo ve všech případech o klony, nic nemění na skutečnosti, že klonalita populací je obecně velmi nízká.

To, že jsou populace geneticky variabilní, podporuje i zjištěný poměr pohlaví, který na populacích Ostravice, Morávky a Lomné odpovídá poměru 2:1 ve prospěch samic, což je pro vrby typický stav (Alliende & Harper 1989). U populace se sníženou genetickou variabilitou by byl tento poměr s největší pravděpodobností vychýlený, u populací klonálních by pak jednoznačně převažovalo jedno pohlaví. Mírně vychýlený poměr (1,2:1) byl zaznamenán v porostu na náplavu v Čeladence. To ovšem mohlo být dáno kromě snížení variability i menším počtem sčítaných jedinců (35).

Analýza vztahů mezi populacemi pomocí UPGMA dendrogramu nepřinesla jednoznačné výsledky. Populace se zdají být geneticky propojeny navzájem a data nevykazují žádnou strukturu, ať geografickou, populační nebo ekologickou. Jedna z hlavních příčin tohoto jevu je, že počet použitých tří mikrosatelitů je nedostatečný pro zjištění mezipopulační variability. Variabilita vybraných mikrosatelitů v rámci populací je vyšší než mezi populacemi, díky čemuž se rozdíly mezi populacemi vytrácejí. Nicméně, data mohou indikovat, že dochází mezi populacemi ke genetickému toku, a to i na větší geografické vzdálenosti. Zdali tomu skutečně tak je, je nutné potvrdit rozšířením analýz o další mikrosatelity. U vrb by tato situace nebyla až tak překvapivá, vzhledem k jejich malým semenům, která se mohou teoreticky šířit na velké vzdálenosti (Hörandl et al. 2002).

5.3. Ohroženost druhu a možný management biotopů

Genetická data naznačila, že u populací *Salix elaeagnos* na beskydských řekách nehrozí aktuální přímé ohrožení genetickou erozí. Ovšem problémem je stav biotopů, tj. šterkových náplavů na beskydských řekách. Šterkové náplavy jsou v celé Evropě velmi ohroženým biotopem (Sochor et al. 2013) a Česká republika rozhodně není výjimkou, spíše naopak. Přírozený charakter řek v podstatě vymizel, udržel se v pouhých několika málo fragmentech (Morávka, Kopytná) (Šigutová 2009).

Pro udržování populací *Salix elaeagnos* a dalších druhů šterkových náplavů je nezbytný hlavně zvýšený průtok vody, který přeskupuje šterkový materiál a vytváří nové náplavy. Tím otevírá volné plochy pro šíření semenáčků, které jsou náročné na světlo a nejsou konkurenčně zdatné (Moggridge & Gurnell 2009). Na specifické podmínky šterkových náplavů (přehřívání, vysychání) jsou naopak semenáčky velmi dobře

adaptovány (Karrenberg & Suter 2003, Francis et al. 2005). Důkazem toho může být porost mladých jedinců *Salix elaeagnos* na Morávce nebo na Kopytné.

Na štěrkových náplavech probíhá sukcese cyklicky (Kollmann et al. 1999), ovšem dojde-li k přerušení pravidelné disturbance, pokračuje sukcese společenstev štěrkových náplavů k dalším stádiím – v Beskydech se to děje na většině lokalit (s výjimkou NPP Skalická Morávka a Kopytné), vrbové křoviny přecházejí do společenstva jasanovo-olšového luhu, jak bylo popsáno v diskuzi výše.

Jak již také bylo zmíněno výše, ohrožením pro populace *Salix elaeagnos* mohou být také invazní neofyty. Systematická likvidace invazních druhů proběhla pouze na řece Morávce (Projekt „Záchrana lužních stanovišť v povodí Morávky“, ČSOP Salamandr). Invazní neofyty jsou velkým problémem (nejen) říčních biotopů. Jedná se o druhy, které jsou povětšinou ve svých původních areálech dobře adaptovány na narušené prostředí, tudíž jsou schopny se výborně šířit, rychle obsazovat volné plochy a také vytvářet velké množství biomasy v krátkém čase (Pyšek 1996). To je případ i křídlatky, která je ve své asijské domovině druhem lávových polí (Mandák et al. 2004). Křídlatka má navíc schopnost alelopatie, čímž mění chemické podmínky v půdě a neumožňuje růst téměř žádným jiným rostlinám (s výjimkou jarních geofytů) (Mandák et al. 2004). Z těchto důvodů je křídlatka (ale i další invazní neofyty, hojně *Impatiens glandulifera* a *Solidago canadensis*) velkým rizikem pro štěrkové náplavy, na kterých se velmi dobře šíří. Na Morávce se nyní křídlatka vyskytuje pouze v malé míře, na rozdíl od jiných beskydských řek v čele s Ostravicí.

Ovšem na Morávce existuje ještě jiný problém pro budoucnost štěrkových náplavů. Řeka se totiž velmi rychle zahlubuje do podkladu, rychlostí až v decimetrech za rok, což je celosvětový fenomén. Tento efekt nazývaný „hladová voda“, je dán jak tím, že beskydský flyš je velmi měkká hornina, tak hlavně nedostatkem štěrkového materiálu neseného řekou z horních částí toku (Galia et al. 2012). Jeho úbytek nastal už v devatenáctém století, kdy se na horních tocích beskydských potoků začaly stavět tzv. klauzy, malé nádrže sloužící při splavování dřeva. Ovšem mnohem větší dopad na řeku Morávku pak měly stavby přivaděče Žermanice v letech 1953–1964 a přehrady Morávka v letech 1961–1967 (Hradecký 2002, Rumlová 2011, Škarpich et al. 2012). Větší množství štěrku dnes do koryta Morávky přináší pouze boční přítok Mohelnice (Škarpich et al. 2012).

Jak se může situace náplavů v NPP Skalická Morávka v budoucnu proměnit, ukazuje zahluobené kaňonovité koryto v PP Profil Morávky, které se nachází u obce Dobrá níže po proudu. Ještě v roce 1955, před výstavbou přehrady, bylo i zde široké divočící

koryto (Hradecký 2002). Dnes má řeka v těchto místech úplně jiný charakter, koryto je zahloubeno až čtyři metry pod úroveň okolního terénu. Bude-li situace s ubýváním štěrkového materiálu pokračovat, bude se zahloubené koryto pomalu posouvat výše i do NPP Skalické Morávky (Hradecký 2002, Rumlová 2011, Škarpich et al. 2012).

Omezit hloubkovou erozi by mohlo alespoň částečné dodání štěrků do divočícího úseku. Určitou snahou o to byla v roce 2007 výstavba přírodního spádového stupně pod jezem ve Vyšních Lhotách. Tento spádový stupeň měl zajišťovat pohyb štěrků do prostoru větvení koryta (Hradecký 2007). Ovšem situace po pěti letech od jeho výstavby ukazuje, že nejenže z různých příčin nemá kýžený efekt, tak navíc něčím i přispívá k dalšímu zahlubování řeky (vytěžení štěrku při stavbě, obnažení měkkého podloží, tvorba drátokamenných zídek, které usměrňují proud a zužují koryto). Problémem je také to, že i když je podle podmínek managementu objektu správce toku povinen ukládat do tohoto úseku sedimenty, které odstraní z oblasti jezu ve Vyšních Lhotách, došlo k tomu za celou dobu existence objektu pouze jednou, a to po povodni v roce 2010. Převezeny byly pouhé dva nákladní vozy (Hradecký et al. 2012).

Pro vznik štěrkových náplavů je pochopitelně přísun štěrkových sedimentů kritický.

V tomto aspektu je na tom lépe populace *Salix elaeagnos* na Kopytné, žádné velké omezení pro splavování štěrku není. Také výskyt invazních druhů zde není v takové míře jako na jiných tocích (Šigutová 2009).

Mimo tento divočící úsek Morávky a Kopytné je situace ještě komplikovanější faktem, že jsou koryta řek regulována a v přímé blízkosti toků se nachází lidská sídla. Proto i v případě, že štěrkové lavice v omezeném prostoru řeky vzniknou, jejich zarůstání a zpeňování se stává komplikací při vyšším stavu vody. Možností je údržba lavic (vysekávání náletových dřevin) a na řekách s přehradami pravidelná simulace povodní (Birklen et al. 2008), což je management vhodný např. pro další vzácný druh štěrkových náplavů, *Calamagrostis pseudophragmites*. Větší náplavy po krajích koryta, vhodné biotopy pro *Salix elaeagnos*, se otevírají velmi vzácně za extrémních průtoků, ve větší míře naposledy v roce 1997 (Kálníková 2012).

Přesto jsou určitě i na těchto řekách úseky, kde by bylo možné při správném managementu biotop štěrkových náplavů alespoň z části obnovit (např. Ostravice mezi Pržnem a Frýdkem-Místkem nebo Olše u Bystřice).

V západní Evropě se objevuje trend navracení řek do jejich původních koryt. Rozšiřování koryt (*widening river*) s sebou přináší možnost obnovit alespoň některé prvky

říčních štěrkových ekosystémů. Podporuje stanovištní heterogenitu biotopů závislých na proudící vodě a vznik štěrkových náplavů různých typů – od náplavů zcela bez vegetace až po náplavy s pionýrskými dřevinami. To s sebou přináší zvětšení populací druhů, které jsou na těchto podmínkách závislé. Ovšem tyto krátké úseky řek, které prošly revitalizací, nemohou nahradit celé ekosystémy štěrkových lavic, proto nemohou fungovat bez dalšího managementu, který brání šíření nežádoucích druhů. Významnou roli v úspěchu a neúspěchu obnovy pak hraje vzdálenost lokalit přirozených lokalit a přísun diaspor (Rohde et al. 2005).

Zmiňované úseky Ostravice a Olše by mohly být pro takovouto obnovu vhodné, jelikož se zde stále mnoho druhů štěrkových náplavů vyskytuje a jejich populace by se po změně podmínek zcela jistě početně rozrostly. Ovšem i zde by byl nezbytný následný management, který by zahrnoval jak likvidaci invazních a expanzivních druhů, tak pravidelnou simulaci povodní.

6. ZÁVĚR

Předložená diplomová práce navazuje na předchozí bakalářskou práci, která se zabývala revizí historických údajů o rozšíření *Salix elaeagnos* a zhodnocení jejího současného rozšíření v Beskydech na modelu řeky Ostravice. Hlavním cílem této práce bylo doplnění dat o rozšíření přirozených *Salix elaeagnos* v rámci České republiky, zjištění genetické diverzity vybraných populací a zhodnocení životaschopnosti a ohroženosti druhu.

Byla navštívena většina potenciálních lokalit v rámci Moravskoslezských Beskyd a Podbeskydské pahorkatiny a byla vytvořena mapa rozšíření dle početnosti a charakteru populací. Z vybraných čtyř populací (Morávka, Ostravice, Čeladenka a Lomná) byly odebrány vzorky listů pro genetický výzkum. K zjištění variability bylo použito mikrosatelitních markerů, v rámci laboratorní práce bylo otestováno sedm primerů, z toho pro tři byly nalezeny vhodné podmínky.

Provedenou analýzou na celkem 71 vzorcích byl zjištěn poměrně vysoký počet alel (sx08 osm alel, sx19 šest alel, sx10 šest alel) a nízká klonalita u všech populací. To ukazuje na vysokou vnitropopulační diverzitu. Analýza příbuznosti populací neprokázala žádnou výraznou strukturu v populacích, populace se zdály být geneticky navzájem propojeny, což by mohlo indikovat, že mezi populacemi dochází ke genetickému toku, a to i na větší geografické vzdálenosti. Ovšem s větší pravděpodobností je tento výsledek způsoben malým počtem použitých mikrosatelitů. Pro jednoznačnější závěry bude nutné rozšíření dat o další mikrosatelity.

Jako největším ohrožením populací *Salix elaeagnos* v Beskydech se ukazuje stav biotopů – zničení štěrkových náplavů regulací řek, úbytek štěrkových naplavenin kvůli přehrazení toků, nedostatečná disturbance, malý počet juvenilních jedinců na většině lokalit a sukcese k lužnímu lesu.

Pro zachování populací druhu v Beskydech doporučuji na dosud divočících úsecích hlavně zásahy proti invazním druhům, na Morávce je pak nezbytné vyřešení přísunu štěrkového materiálu a minimálně jednou za dva až tři roky simulace povodňového průtoku. Potenciální možností pro zlepšení stavu populací *Salix elaeagnos* na Ostravici a Olši by bylo v konkrétních úsecích rozšíření koryta a obnovení původních štěrkových ekosystémů.

7. POUŽITÁ LITERATURA

- AGREN J., DANELL L., ELMQUIST T., ERICSON L. & HJALTEN J. (1999): Sexual dimorphism and biotic interactions. - In: Geber M. A., Dawson T. E. et Delph L. F.[eds.]: Gender and sexual dimorphism in flowering plants. Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 217– 246.
- ALLIENDE C. M. & HARPER L. J. (1989): Demographic Studies of a Dioecious Tree. I. Colonization, Sex and Age Structure of a Population of *Salix cinerea*. – *Journal of Ecology* 77: 1029–1047
- ARGUS G. W. (1997): Infrageneric classification of *Salix* (*Salicaceae*) in the New World. – *Systematic Botany Monographs* 52: 1–121
- AZUMA T., KAJITA T., YOKOYAMA J. & OHASHI H. (2000): Phylogenetic relationships of *Salix* (*Salicaceae*) based on *rbcL* sequence data. – *American Journal of Botany* 87(1): 67–75
- BARKER J. H. A., PAHLICH A., TRYBUSH S., EDWARDS J. & KARP A. (2003): Microsatellite markers for diverse *Salix* species. – *Molecular Ecology Notes* 3: 4–6
- BEEBEE T. J. C. & ROWE G. (2004): An Introduction to Molecular Ecology. Oxford University Press, Oxford New York
- BIRKLEN P., FILIPOVÁ K., KLEČKA J., FILIPOVÁ L. & LEPIK M. (2008): Údržba štěrkových lavic na řece Ostravici. – *Ochrana přírody* 63(6): 6
- BLANCO P. (1993): *Salix*. – In: Castroviejo S. et al. [eds.], Flora iberica, Vol. III. – Real Jardín Botánico, CSIC. Madrid, pp.: 477–517
- BROSH O. (2005): Povodí Odry. Anagram, Ostrava.
- BRUNSFELD S. J., SOLTIS D. E. & SOLTIS P. S. (1991): Patterns of genetic variation in *Salix* section *Longifoliae* (*Salicaceae*). – *American Journal of Botany* 78(6): 855–869
- DELPH L. F. (1999): Sexual dimorphism in life history. – In Geber M. A., Dawson T. E. et Delph L. F. [eds.] (1999): Gender and sexual dimorphism in flowering plants. Springer-Verlag, Berlin, pp. 149–174.
- DOYLE J. J. & DOYLE J. L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. – *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.
- FORMÁNEK E. (1887): Květena Moravy a rakouského Slezska. Díl první. Moravské akciové knihtiskárny, Brno.
- FRANCIS R. A., GURNELL A. M., PETTS G. E. & EDWARDS P. J. (2005): Survival and growth responses of *Populus nigra*, *Salix elaeagnos* and *Alnus incana* cuttings to varying levels of hydric stress. – *Forest Ecology and Management* 210: 291–301

- FRANKHAM R. (2003): Genetics and conservation biology. – *C. R. Biologies* 326: 22–29
- FREELAND J. R. (2005): Molecular Ecology. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester
- GALIA T., ŠKARPICH V. & HRADECKÝ J. (2012): Dnový transport sedimentů v souvislosti s transformací geomorfologického režimu štěrkonosných toků Moravskoslezských Beskyd. – *Geografie* 117(1): 95–109
- GONZÁLEZ E., GONZÁLEZ-SANCHIS M., CABEZAS A., COMÍN F. A. & MULLER E. (2010): Recent Changes in the Riparian Forest of a Large Regulated Mediterranean River: Implications for Management. – *Environmental Management* 45: 669–681
- GRULICH V. (2012): Red List of vascular plants of the Czech Republic: 3rd edition (Červený seznam cévnatých rostlin České republiky: vydání třetí). – *Preslia* 4: 631–645
- GUPTA P. K., BALYAN H. S., SHARMA P. C. & RAMESH B. (1996): Microsatellites in plants: A new class of molecular. – *Current Science* 70(1): 45–54
- HEGLAND S. J., LEEUWEN VAN M, OOSTERMEIJER J. G. B. (2001): Population structure of *Salvia pratensis* in relation to vegetation and management of Dutch dry floodplaingrasslands. – *Journal of Applied Ecology* 38: 1277–1289
- HÖRANDL E., FLORINETH F. & HADACEK F. (2002): Weiden in Österreich und angrenzenden Gebieten. Eigenverl. d. Arbeitsbereiches Ingenieurbiologie u. Landschaftsbau, Inst. für Landschaftsplanung u. Ingenieurbiologie, Univ. für Bodenkultur, Wien.
- HRADECKÝ J. (2002): Contribution to the morphodynamic chronology of Beskydian rivers (Morávka River 1780–1997). In Kirchner K. & Roštínský P.: Geomorfologický Sborník. Brno: PřF MU, ČAG, pp. 50–56
- HRADECKÝ J. (2007): Morávka – divočící kráska našich řek. – *Geografické listy* 17/2 24–25
- HRADECKÝ J., ŠKARPICH V., GALIA T. & DUŠEK R. (2012): Skutečně spádový stupeň na Morávce funguje? Poznámky k příspěvku L. Roušara a kol.: Zhodnocení funkce přírodního spádového stupně na řece Morávce pod rozdělovacím objektem Vyšní Lhoty (VH, 11/2012, s. 352–355). – *Vodní hospodářství* 62(12): 398–400
- HRÁDEK M. (2000): Geomorfologické účinky povodně v červenci 1997 na území Severní Moravy a Slezska. – *Geografický časopis* 52: 303–321
- CHEN J-H., SUN H., WEN J & YANG Y-P. (2010): Molecular phylogeny of *Salix* L. (Salicaceae) inferred from free chloroplast datasets and its systematic implications. – *Taxon* 59 (1): 29–37
- CHMELAR J. & KOBLÍZEK J. (1990): 65. *Salicaceae* Mirbel – vrbovité. – In: Hejný S. & Slavík B. [eds], Květena České republiky 2, Academia, Praha, pp. 458–495

- CHYTRÝ M., KUČERA T. & KOČÍ M. [EDS.] (2001): Katalog biotopů České republiky. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha
- IMBERT E. & LEFÉVRE F. (2003): Dispersal and gene flow of *Populus nigra* (Salicaceae) along a dynamic river system. – *Journal of Ecology* 91: 447–456
- JONG T. J. & KLINKHAMER P. G. L. (2005): Evolutionary ecology of plant reproductive strategies. – Cambridge University Press, New York.
- KÁLNÍKOVÁ V. (2012): Rozšíření invazních neofytů a sukcese na štěrkových náplavech na tocích Moravskoslezských Beskyd a jejich podhůří. – Diplomová práce. [depon. in Ústav botaniky a zoologie, PŘF Asarykovy univerzity, Brno].
- KARRENBERG S. & SUTER M. (2003): Phenotypic trade-offs in the sexual reproduction of Salicaceae from flood plains. – *American Journal of Botany* 90 (5): 749–754
- KARRENBERG S., EDWARDS P. J., & KOLLMANN J. (2002a): The life history of Salicaceae living in the active zone of floodplains. – *Freshwater Biology* 47: 733–748
- KARRENBERG S., KOLLMANN J. & EDWARDS P. J. (2002b): Pollen vectors and inflorescence morphology in four species of *Salix*. – *Plant Systematics and Evolution* 235: 181–188
- KATZ L., FRIEDMAN J. M. & BEATTY S. W. (2005): Delayed Effects of Flood Control on a Flood-Dependent Riparian. – *Ecological Applications* 15(3): 1019–1035
- KIKUCHI S., SUZUKI W. & SASHIMURA N. (2011): Gene flow in an endangered willow *Salix hukaoana* (Salicaceae) in natural and fragmented riparian landscapes. – *Conservation Genetics* 12: 79–89
- KLEČKOVÁ L. (2010): Vrba šedá (*Salix elaeagnos*) v Moravskoslezských Beskydech: zhodnocení současného stavu druhu. – Bakalářská práce [depon. in Katedra zoologie, PŘF UP, Olomouc].
- KOBLÍŽEK J. (2002): 60. Salicaceae Mirbel – vrbovité. – In: Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. [eds], Klíč ke květeně České republiky, Academia, Praha, pp. 218–231
- KOLLMANN J., VIELI M., EDWARDS P. J., TOCKNER K. & WARD J. V. (1999): Interactions between vegetation development and island formation in the Alpine river Tagliamento. – *Applied Vegetation Science* 2: 25–36
- LEIMU R., MUTIKAINEN P., KORICHEVA J. & FISCHER M. (2006): How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? – *Journal of Ecology* 94: 942–952
- LOUČKOVÁ B. (2012): Vegetation-landform assemblages along selected rivers in the Czech republic, a decade after a 500-year flood event. – *River research and applications* 28: 1275–1288

- LOWE A., HARRIS S. & ASHTON P. (2004): Ecological genetics: Design, Analysis, and Application. Blackwell Publishing, Oxford
- MAHONEY J. M. & ROOD S. B. (1998): Streamflow requirements for cottonwood seedling recruitment-anintegrative model. – *Wetlands* 18 (4): 634–645
- MANDÁK B., PYŠEK P. & BÍMOVÁ K. (2004): History of the invasion and distribution of *Reynoutria* taxa in the Czech Republic: a hybrid spreading faster than its parents. – *Preslia* 76: 15–64
- MOGGRIDGE H. L. & GURNELL A. M. (2009): Controls on the sexual and asexual regeneration of Salicaceae along a highly dynamic, braided river system. – *Aquatic Sciences* 71: 305–317
- NEWSHOLME C. (1992): Willows. The genus *Salix*. Timber Press, Portland, Oregon.
- OOSTERMEIJER J. G. B, VEER VAN'T R, NIJS DEN J. C. M. (1994): Population Structure of the Rare, Long-Lived Perennial *Gentiana pneumonanthe* in Relation to Vegetation and Management in the Netherlands. – *Journal of Applied Ecology* 31: 428–438
- OUBORG N. J., PIQUOT Y. & VAN GROENENDAEL J. M. (1999): Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. – *Journal of Ecology* 87: 551–568
- PIMM S. L., RAVEN P. (2000) Biodiversity - Extinction by numbers. – *Nature* 403:843–845
- PYŠEK P. (1996): Biologické invaze I. Historické a geografické souvislosti. – *Živa* 44(1): 4–7.
- RECHINGER K. H. (1964): Genus *Salix* L. – In: Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Valentine D. H., Walters S. M. & Webb D. A. [eds], *Flora Europea*, Volume 1 *Lycopodiaceae* to *Platanaceae*, Cambridge University Press, Cambridge – New York – Port Chester – Melbourne – Sydney, pp. 43–54
- ROHDE S., SCHUTZ M., KIENAST F. & ENGLMAIER P. (2005): River widening: an approach to restoring riparian habitats and plant species. – *River research and applications* 21: 1075–1094
- RUMLOVÁ S. (2011): Podélná variabilita říčního stylu Morávky. – Bakalářská práce. [depon. in Geografický ústav, PřF Masarykovy univerzity, Brno].
- SEMAGN K., BJØRNSTAD Å. & NDJIONDJOP M. N. (2006): An overview of molecular marker methods for plants. – *African Journal of Biotechnology* 5(25): 2540–2568.
- SKALICKÝ V, HÁJKOVÁ A., NEUSCHLOVÁ Š., SEDLÁČKOVÁ M. & ŠVENDOVÁ K. (1978): Materiály ke květeně Moravskoslezských Beskyd, Podbeskydské pahorkatiny a okrajové části Ostravské pánve. Okresní vlastivědné muzeum, Frýdek-Místek.

- SKVORTSOV A. K. (1999): Willows of Russia and Adjacent Countries: Taxonomical and Geographical Revision. (přeloženo z: Skvortsov A.K. (1968) Willows of the USSR. Taxonomic and Geographic Revision. Nauka, Moscow). Joensuu University, Joensuu.)
- SMEJKAL M. (1981): Komentovaný katalog moravské flóry. Univerzita J. E. Purkyně, PŘF., Brno.
- SOCHOR M. (2011): Genetická struktura populací ohrožených horských druhů vrb (*Salix* spp.). – Diplomová práce [depon. in Katedra botaniky, PŘF UP, Olomouc]
- SOCHOR M., VAŠUT R. J., STANOVSKÁ E., MAJESKÝ L. & MRÁČEK J. (2013): Can gene flow among populations counteract the habitat loss of extremely fragile biotopes? An example from the population genetic structure in *Salix daphnoides*. – *Tree Genetics and Genomes*, in press. DOI: 10.1007/s11295-013-0628-6.
- STAMATI K., BLACKIE S., BROWN J. W. S. & RUSSELL J. (2003): A set of polymorphic SSR loci for subarctic willow (*Salix lanata*, *S. lapponum* and *S. herbacea*). – *Molecular Ecology Notes* 3: 280–282
- STANOVSKÁ E. (2011): Vrba lýkovcová (*Salix daphnoides*) v Moravskoslezských Beskydech: vztahy mezi rozšířením, ekologií, populační strukturou a ohrožením druhu. – Diplomová práce [depon. in Katedra botaniky, PŘF UP, Olomouc]
- ŠIGUTOVÁ L. (2009): Vegetace říčních náplavů Moravskoslezských Beskyd. – Diplomová práce [depon. in Katedra botaniky, PŘF UP, Olomouc].
- ŠKARPICH V., GALIA T. & HRADECKÝ J. (2012): Podmínky transportu a akumulace sedimentů v člověkem ovlivněných korytech beskydských toků: příkladová studie soutoku řeky Morávky a Mohelnice. – *Geologické výzkumy na Moravě a ve Slezsku* 19: 53–58
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. (2009): An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
- TOCKNER K., PAETZOLD A., KARAS U., CLARET C. & ZETTEL J. (2004): Ecology of braided rivers. – IAS Special Publication.
- UENO N., SUYAMA Y. & SEIWA K. (2007): What makes the sex ratio female-biased in the dioecious tree *Salix sachalinensis*?. – *Journal of Ecology* 95: 951–959.
- WEISING K., NYBOM H., WOLFF K. & KAHL G. (2005): DNA Fingerprinting in Plants: Principles, Methods, and Applications. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton

WEISSMANNOVÁ H. A KOL. (2004): Ostravsko. – In: Mackovčín P. & Sedláček M. [eds]:
Chráněná území ČR, svazek X. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a
EkoCentrum Brno, Praha.

YOUNG A., BOYLE T. & BROWN T. (1996): The population genetic consequences of habitat
fragmentation for plants. – *Tree* 11(10): 413–418

MAPOVÉ ZDROJE

www.mapy.cz

<http://oldmaps.geolab.cz> (III. vojenské mapování, sekce číslo No. 4161_1, Austrian State
Archive/Military Archive, Vienna, © Laboratoř geoinformatiky Univerzita J.E. Purkyně,
© Ministerstvo životního prostředí ČR)

PŘÍLOHY

Seznam příloh:

Příloha 1: Fotografická dokumentace biotopů a jedinců *Salix elaeagnos*



Obrázky 11-14. Morávka. — Obr. 11. jedinec u osady Bebek. **Obr. 12.** Morávka nad přehradou. **Obr. 13.** zahlubování koryta (Nižní Lhoty). **Obr. 14.** šterkové náplavy v NPP Skalická Morávka.



Obrázky 15-16. Morávka. — Obr. 15. semenáčky v roce 2010 (15a), 2011 (15b) a v roce 2012 (15c). **Obr. 16.** 14 let starý jedinec na štěrkovém náplavu v NPP Skalická Morávka.



17



18



19



20



21

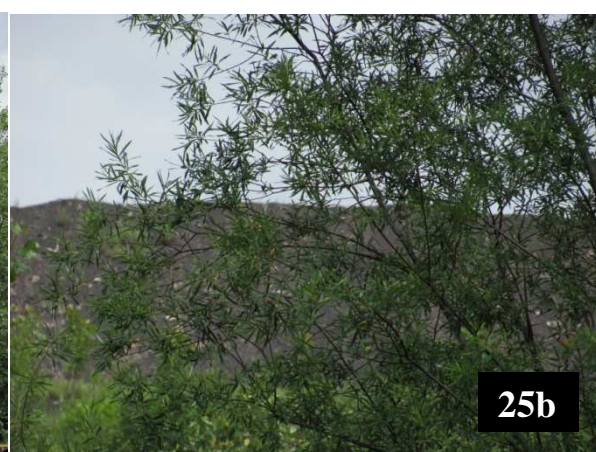


22



23

Obrázky 17-23. Ostravice. — **Obr. 17.** náplavy Černé Ostravice. **Obr. 18.** náplavy Velkého potoka. **Obr. 19.** koryto řeky v obci Ostravice. **Obr. 20.** velký jedinec na pravém břehu u obce Baška. **Obr. 21.** velký jedinec u mostu pro pěší u vlakového nádraží (Bašce). **Obr. 22.** náplav se *Salix elaeagnos* v obci Ostravice. **Obr. 23.** koryto řeky s porosty křídlatky na břehu (Baška).



Obrázky 24-25. Ostravice. — Obr. 24. náplav s desítkami jedinců u obce Baška. **Obr. 25.** *Salix elaeagnos* na haldě v Paskově.



26



27



28a



28b

Obrázky 26-28. Čeladenka. — Obr. 26. mladí jedinci na horním toku Čeladenky (Podolánky). **Obr. 27.** koryto Čeladenky. **Obr. 28.** náplav se *Salix elaeagnos* v obci Čeladná.



Obrázky 29-31. Lomná. — Obr. 29. koryto Lomné. Obr. 30. velký jedinec v zahradě. Obr. 31. náplav se *Salix elaeagnos*.



Obrázky 32-34. Kopytná. — Obr. 32. náplavy s porosty *Salix elaeagnos*. Obr. 33. divočící koryto Kopytné. Obr. 34. různověté porosty *Salix elaeagnos*.



Obrázky 35-40. Olše. — Obr. 35. Olše v Bukovci. **Obr. 36.** porost *Salix elaeagnos* u Bystřice. **Obr. 37.** náplav u Bystřice se *Salix elaeagnos*. **Obr. 38.** nový náplav u Bystřice. **Obr. 39.** monokulturní porost *Salix elaeagnos* u Bystřice. **Obr. 40.** zpevněné koryto Olše.



Obrázky 31-33. Tyra. — Obr. 41. břehové porosty vrb se *Salix elaeagnos* v obci Tyra. **Obr. 42.** pozůstatky náplavů. **Obr. 43.** úpravy koryta v Třinci-Oldřichovicích.