

Univerzita Palackého v Olomouci  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra botaniky  
Oddělení biosystematiky a ekologie rostlin



**Variabilita komplexu vrby laponské (*Salix lapponum* L.)  
v horách střední Evropy**



Diplomová práce

Autor: **Michal Hroneš**

Vedoucí práce: **Mgr. Martin Dančák, Ph.D.**  
Konzultant práce: **RNDr. Radim J. Vašut, Ph.D.**

N1051 Botanika  
prezenční studium

Olomouc  
červenec 2011



Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením Mgr. Martina Dančáka, Ph.D. a uvedl jsem všechny literární prameny, ze kterých jsem čerpal.

V Olomouci 17. 8. 2011

Podpis:

## Bibliografická identifikace

**Jméno a příjmení autora:** Michal Hroneš

**Název práce:** Variabilita komplexu vrby laponské (*Salix lapponum*) v horách střední Evropy.

**Typ práce:** diplomová práce

**Pracoviště:** Katedra botaniky PřF UP, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc

**Vedoucí práce:** Mgr. Martin Dančák, Ph.D.

**Rok obhajoby práce:** 2011

**Abstrakt:** Komplex vrby laponské je ve střední Evropě zastoupen druhy *Salix lapponum*, *Salix helvetica* a taxonomicky sporným taxonem *S. daphneola*. Primární areál *Salix lapponum* se nachází v severní Evropě, ve střední Evropě se vyskytuje v Krkonoších a Hrubém Jeseníku. *Salix helvetica* je endemitem Alp, Nízkých a Vysokých Tater. *S. daphneola* je považována za endemickou dřevinu západních Krkonoš. Morfologická variabilita byla studována měřením vybraných znaků na herbářových dokladech. Celkem bylo zaznamenáváno 12 morfologických znaků na 295 jedincích. Genetická variabilita byla zjišťována pomocí 5 mikrosatelitů na 75 jedincích. Morfologická data byla analyzována v programech NCSS a Canoco for Windows. Molekulární data byla analyzována v programech GenAlEx, Arlequin a Structure. Morfologická variabilita studovaného souboru byla vysoká. Nejvíce morfologicky variabilní jsou rostliny z Krkonoš, ostatní populace vykazují výrazně nižší variabilitu. *S. daphneola* se od *S. lapponum* liší zejména absencí odění, kratšími a užšími listy. *S. helvetica* se od *S. lapponum* liší širšími listy, vyšším počtem párů žilek a kratším řapíkem. Genetická variabilita je způsobena zejména variabilitou mezi jedinci, jednotlivé taxony od sebe nejsou příliš izolovány. Provedené molekulární analýzy neukázaly žádnou genetickou odlišnost *S. daphneola* od *S. lapponum*. Z většiny molekulárních analýz vyplývá poměrně značná genetická vzdálenost populací *S. helvetica* z Tater a Alp, ukazující na možný vícenásobný vznik tohoto taxonu.

**Klíčová slova:** *Salix* sect. *Villosae*, *Salix helvetica*, *Salix daphneola*, Krkonoše, Vysoké Tatry, SSR-loci, morfologie.

**Počet stran:** 68

**Počet příloh:** 6

**Jazyk:** český

## **Bibliographical identification**

**Autor's first name and surname:** Michal Hroneš

**Title:** Variability of downy willow complex (*Salix lapponum*) in the mountains of Central Europe.

**Type of thesis:** Master's thesis

**Department:** Department of Botany, Faculty of Science, Palacký University, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc

**Supervisor:** Mgr. Martin Dančák, Ph.D.

**The year of presentation:** 2011

**Abstract:** The downy willow complex consists of *Salix lapponum*, *S. helvetica* and taxonomically dubious taxon *S. daphneola* in Central Europe. *Salix lapponum* is distributed in the Northern Europe, and it occurs only in the Krkonoše Mts and in the Hrubý Jeseník Mts in Central Europe. *Salix helvetica* is considered to be endemic species of the Alps, Nízké and Vysoké Tatry Mts. *S. daphneola* is considered to be endemic taxon of western Krkonoše Mts. Morphological variability was studied by measurement of selected morphological characters on herbarium specimens. In total 12 morphological characters were recorded on 295 individuals. Genetic variability was studied using 5 microsatellites on 75 individuals. Morphological data sets were analyzed in NCSS and Canoco for Windows. Molecular data sets were analyzed in GenAlEx, Arlequin and Structure programs. Generally, high interval of morphological variability was discovered. The most morphologically variable population is from Krkonoše Mts, the other populations show much lower variability. *S. daphneola* differs from *S. lapponum* mainly by lack of hairs and by shorter and narrower leaves. *S. helvetica* differs from *S. lapponum* by wider leaves, greater number of leaf-blade veins and shorter petioles. Genetic variability is mainly caused by variability between individuals. Performed molecular analysis showed no difference between *S. lapponum* and *S. daphneola*. A relatively large genetic distance between populations of *S. helvetica* from the Alps and the Tatry Mts was revealed by most molecular analyses, suggesting possible polytopic origin of *S. helvetica*.

**Keywords:** *Salix* sect. *Villosae*, *Salix helvetica*, *Salix daphneola*, Krkonoše Mts, Vysoké Tatry Mts, SSR-loci, morphology.

**Number of pages:** 68

**Number of appendices:** 6

**Language:** Czech

# Obsah

Obsah .....	vi
Seznam tabulek .....	viii
Seznam obrázků .....	ix
Přehled použitých zkratk .....	x
Poznámka k použité nomenklatuře .....	xi
Poděkování .....	xii
1. Úvod .....	1
2. Obecná část .....	2
2.1 Čeleď Salicaceae a rod <i>Salix</i> .....	2
2.1.1 Morfologie a rozšíření .....	2
2.1.2 Fylogeneze a taxonomické vztahy .....	3
2.1.3 Hybridizace a introgrese .....	5
2.1.4 Populační struktura .....	7
2.1.5 Cytotaxonomie a cytogenetika .....	8
2.1.6 Segregace a vychýlený poměr pohlaví .....	9
2.2 Charakteristika hlavních zástupců komplexu <i>Salix lapponum</i> .....	10
2.2.1 <i>Salix lapponum</i> L. – vrba laponská .....	11
2.2.2 <i>Salix helvetica</i> Vill. – vrba švýcarská .....	14
2.3 Problematické taxony z komplexu <i>Salix lapponum</i> .....	16
2.3.1 <i>Salix daphneola</i> Tausch .....	16
2.3.2 Problematika jména <i>Salix marrubifolia</i> Tausch ex Andersson .....	17
3. Cíle práce .....	18
4. Materiál a metody .....	19
4.1 Sběr, původ a uchování rostlinného materiálu .....	19
4.2 Morfometrická analýza .....	19
4.3 Izolace genomické DNA .....	20
4.4 Polymerázová řetězová reakce (PCR) .....	21
4.5 Analýza mikrosatelitů (SSR loci) .....	23
5. Výsledky .....	24
5.1 Morfometrická analýza .....	24
5.1.1 ANOVA, vegetativní znaky .....	24
5.1.2 PCA, vegetativní znaky .....	27

5.1.3 Diskriminační analýza, vegetativní znaky .....	29
5.1.4 ANOVA, generativní znaky .....	32
5.1.4 PCA, generativní znaky .....	34
5.1.4 Diskriminační analýza, generativní znaky.....	35
5.2 Analýza mikrosatelitů (SSR loci).....	37
5.2.1 Analýza hlavních koordinát (PCoA).....	37
5.2.2 Genetická diferenciacce populací .....	38
5.2.3 Analýza molekulární variance (AMOVA) .....	39
5.2.4 Bayesiánská analýza genetické podobnosti populací (STRUCTURE) .....	40
6. Diskuze.....	42
6.1 Variabilita jednotlivých populací .....	42
6.2 Možné příčiny zvýšené variability krkonošské populace <i>S. lapponum</i> .....	44
6.3 <i>Salix daphneola</i> : samostatný taxon, hybrid nebo mutace?.....	45
6.4 Vztah <i>Salix helvetica</i> k <i>S. lapponum</i> .....	47
7. Závěr .....	48
8. Literatura .....	50
9. Přílohy .....	57
Příloha 1: Historické rozšíření <i>Salix lapponum</i> v České republice .....	57
Příloha 2: Historické rozšíření <i>Salix lapponum</i> var. <i>daphneola</i> v České republice ....	59
Příloha 3: Historické rozšíření <i>Salix helvetica</i> na Slovensku.....	60
Příloha 4: Typová položka jména <i>S. arenaria</i> † <i>marrubifolia</i> Tausch.....	61
Příloha 5: Typová položka jména <i>Salix daphneola</i> Tausch .....	62
Příloha 6: Přehled vzorků použitých pro SSRloci.....	63

## Seznam tabulek

Tabulka č. 1: Rozlišovací znaky pro <i>S. lapponum</i> a <i>S. helvetica</i> . .....	15
Tabulka č. 2: Kategorie charakterizující míru odění rostlinných částí. ....	20
Tabulka č. 3: Přehled použitých primerových kombinací. ....	22
Tabulka č. 4: Složení PCR mixu pro jeden vzorek. ....	22
Tabulka č. 5: PCR podmínky pro jednotlivé primerové kombinace. ....	22
Tabulka č. 6: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro délku listu. ....	25
Tabulka č. 7: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro šířku listu. ....	25
Tabulka č. 8: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro délku řapíku. ....	26
Tabulka č. 9: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro počet párů žilek. ....	27
Tabulka č. 10: Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin. ...	30
Tabulka č. 11: Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny. ....	30
Tabulka č. 12: Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny. ....	30
Tabulka č. 13: Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. ....	30
Tabulka č. 14: Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin. ...	31
Tabulka č. 15: Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny. ....	31
Tabulka č. 16: Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny. ....	31
Tabulka č. 17: Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. ....	31
Tabulka č. 18: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro délku semeníku. ....	32
Tabulka č. 19: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro délku stopky semeníku. ....	33
Tabulka č. 20: Hodnoty tzv. Dunnova testu pro délku samičí jehnědy. ....	34
Tabulka č. 21: Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin. ...	35
Tabulka č. 22: Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny. ....	35
Tabulka č. 23: Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny. ....	36
Tabulka č. 24: Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. ....	36
Tabulka č. 25: Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin. ...	36
Tabulka č. 26: Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. ....	36
Tabulka č. 27: Hodnoty párových $F_{ST}$ pro všechny populace. ....	38
Tabulka č. 27: Pokračování. ....	39
Tabulka č. 28: Souhrnný výstup analýzy molekulární variance. ....	39



## Seznam obrázků

Obrázek č. 1: Schematická mapa rozšíření <i>Salix lapponum</i> v Evropě.....	11
Obrázek č. 2: <i>Salix lapponum</i> L.....	13
Obrázek č. 3: <i>Salix helvetica</i> Vill.....	15
Obrázek č. 4: <i>Salix daphneola</i> Tausch.....	17
Obrázek č. 5: Variabilita délky listové čepele v jednotlivých populacích.....	24
Obrázek č. 6: Variabilita šířky listové čepele v jednotlivých populacích.....	25
Obrázek č. 7: Variabilita délky řapíku v jednotlivých populacích.....	26
Obrázek č. 8: Variabilita počtu párů žilek na listové čepeli v jednotlivých populacích.....	27
Obrázek č. 9: PCA ordinační diagram pro vegetativní znaky.....	28
Obrázek č. 10: PCA ordinační diagram pro vegetativní znaky po odstranění vzorků z Krkonoš.....	28
Obrázek č. 11: Geografické rozmístění studovaných populací.....	29
Obrázek č. 12: Kanonická diskriminační analýza vegetativních znaků.....	31
Obrázek č. 13: Variabilita délky semeníku v jednotlivých populacích.....	32
Obrázek č. 14: Variabilita délky stopky semeníku v jednotlivých populacích.....	33
Obrázek č. 15: Variabilita délky jehnědy v jednotlivých populacích.....	34
Obrázek č. 16: PCA ordinační diagram pro generativní znaky.....	35
Obrázek č. 17: Kanonická diskriminační analýza generativních znaků.....	37
Obrázek č. 18: PCoA ordinační diagram s vynesemím všech jedinců.....	38
Obrázek č. 19: Procentuální rozložení jednotlivých komponent variability souboru.....	39
Obrázek č. 20: Koefficienty podobnosti jednotlivých běhů pro jednotlivá K.....	40
Obrázek č. 21: Grafický výstup z programu Structure-sum ukazující průměrné hodnoty funkce L.....	40
Obrázek č. 22: Hodnoty $\Delta K$ .....	41
Obrázek č. 23: Bayesiánská analýza genetické podobnosti populací z programu STRUCTURE pro K=4.....	41

## **Přehled použitých zkratk**

AMOVA – analýza molekulární variance

ANOVA – analýza variance

CTAB – hexadecyl-trimethyl-ammonium bromid

dd H<sub>2</sub>O – didestilovaná voda

dNTPs – deoxyribonukleotidy

EtOH – ethanol

F<sub>ST</sub> – fixační index

CHF – chloroform

IAA – isoamylalkohol

NaAc – octan sodný

PCA – analýza hlavních komponent

PCoA – analýza hlavních koordinát

PCR – polymerázová řetězová reakce

PVP – polyvinylpyrrolidon

TE – ethylendiaminotetraoctová kyselina + 2-amino-2-hydroxymethyl-propan-1,3-diol

β-ME – β-merkptoethanol

### **Testované morfologické znaky:**

hrdw – odění rubu listu

hrup – odění líce listu

lflg – délka listu

lfgw – šířka listu

ptlg – délka řapíku

nows – počet párů žilek

caplg – délka semeníku

stklg – délka stopky semeníku

catlg – délka samičí jehnědy

catno – počet jehněd

hrcap – odění semeníku

hrbr – odění listenu

## **Poznámka k použité nomenklatuře**

Nomenklatura eurasijských zástupců rodu *Salix* je sjednocena podle monografie Skvortsov (1999), nomenklatura severoamerických druhů podle díla Argus (2010). Jedinou výjimku z tohoto pravidla tvoří taxon *Salix daphneola*, který je pro přehlednost uváděn na druhové úrovni (cf. Tausch 1837).

## **Poděkování**

V první řadě bych chtěl poděkovat svému vedoucímu Martinovi Dančákovi za cenné rady a připomínky. Dále bych chtěl poděkovat Radimovi Vašutovi za rady ohledně interpretace výsledků. Celému personálu oddělení Biosystematiky a ekologie rostlin bych chtěl poděkovat za vytvoření příjemného a přátelského pracovního prostředí. Můj dík patří i mým přátelům, kolegům a spolužákům Soně a Michalovi, bez jejichž pomoci v terénu i v laboratoři by tato práce nevznikla. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat Luce za podporu, trpělivost a ochotu pomáhat mi při práci v často dosti nehostinných podmínkách subalpínského prostředí.

# 1. Úvod

Vrby (*Salix* L.) jsou jedním z nejrozšířenějších a nejbohatších rodů listnatých dřevin na severní polokouli (Skvortsov 1999). I přes svou notoricky známou taxonomickou obtížnost se jedná o ekonomicky významné dřeviny, které jsou pěstovány pro biomasu (Pei & al. 2004), obsahové látky (např. kyselinu salicylovou) nebo jsou využívány k rekultivacím zamořených půd (Weih & Nordh 2002). Uplatnění nacházejí také v lesnictví či včelařství.

Jde také o důležitou složku rostlinných společenstev. Jakožto pionýrské dřeviny se účastní raných fází sukcesních pochodů a nad horní hranicí lesa se navíc často jedná o dominantní dřeviny. Subalpínské vrbové křoviny tvoří ve střední Evropě vzácná společenstva (Chytrý 2007), ve kterých se jako dominanta uplatňuje také několik druhů silně či kriticky ohrožených druhů horských vrb (Procházka 2001). Pro pracovníky ochrany přírody je rozlišování těchto taxonů obvykle spojeno s určitými obtížemi, pramenícími z morfologické podobnosti, nejasného vymezení taxonů či časté hybridizace. Tato situace nezdědka výrazně ztěžuje praktickou ochranu jednotlivých taxonů.

Tato diplomová práce se zabývá třemi zástupci vrb ze sekce *Villosae* (*Salix lapponum*, *S. helvetica* a *S. daphneola*). Navazuje na předchozí bakalářskou práci (Hroneš 2009), která měla za úkol zmapovat rozšíření vrby laponské na území ČR a zjistit rozsah morfologické variability tohoto druhu ve Vysokých Sudetech. Diplomová práce je zaměřena na větší geografický celek, k oblasti Vysokých Sudet byla připojena oblast Západních Karpat (Tatry). Okrajově se dotýká také dalších částí zkoumaných taxonů – Alp a Skandinávie. Měla by za pomoci morfometrických a molekulárních metod objasnit delimitaci jednotlivých taxonů a usnadnit tak mimo jiné jejich praktickou ochranu.

## 2. Obecná část

### 2.1 Čeleď Salicaceae a rod *Salix*

#### 2.1.1 Morfologie a rozšíření

Vrby jsou dvoudomé, opadavé dřeviny různých růstových forem, od velkých vzpřímených stromů po drobné trpasličí keře s větvemi ponořenými v substrátu (Skvortsov 1999). K hlavním determinačním znakům rodu patří pupeny kryté obvykle jednou šupinou srostlou ze dvou částí, celokrajné listy s dobře vyvinutými (někdy však časně opadavými) palisty, jednopohlavná vzpřímená květenství, květy podepřené listeny, samičí květy s 1–2 nektarii, samčí květy s 1–12 tyčinkami, trikolpátní pylová zrna, tobolek otevírající se 2 chlopněmi a lysá drobná semena (Argus 1986, Chmelař & Koblížek 1990, Skvortsov 1999). Ke zcela speciálním morfologickým znakům vrb patří především tzv. lišty, nektariové žlázky a katafyly. Lišty jsou podélné valy nebo žebra na dřevě, dobře vyvinuté především u víceletých větví. Nektariové žlázky jsou žláznaté výrůstky v květenstvích vrb. Obvykle je vyvinuta pouze vnitřní (adaxiální) žlázka, vyrůstající mezi větvením jehnědy a květem. Vzácněji je vyvinuta i abaxiální žlázka, která vyrůstá mezi tyčinkou či pestíkem a listenem. Katafyly neboli tzv. primární listy jsou šupinovité a záhy opadávající, listům podobné útvary na bázi jednoletých větví (Chmelař & Koblížek 1990, Koblížek 2006).

Počet udávaných druhů se různí: a pohybuje se od 300 (Skvortsov 1999), přes 450 (Argus 2010), až po 300–600 (Chmelař & Koblížek 1990). Z hlediska rozšíření se jedná o převážně arkticko-temperátní rod s centry diverzity v horách Číny, v Rusku, v severních oblastech Severní Ameriky a v Evropě (Argus 1986, Skvortsov 1999, Chen & al. 2010). Rod je velmi vzácný v tropických oblastech, např. ve střední a Jižní Americe se autochtonně vyskytují pouze 3 druhy (Argus 1986). Zcela chybí v západní Brazílii, ve východní části indonésko-malajské oblasti a v tropických oblastech západní Afriky (Skvortsov 1999). Zavlečen byl do Austrálie, na Nový Zéland a na některé ostrovy Oceánie (Argus 1986, Skvortsov 1999).

V rámci svého areálu obývají vrby mnoho různých biotopů, k nejtypičtějším patří aluvia a břehy vodních toků. Jedná se také o jedny z mála dřevin, které jsou schopny růst i v tvrdých podmínkách tundry či alpínského bezlesí (Skvortsov 1999).

## 2.1.2 Fylogeneze a taxonomické vztahy

Vrby patří do čeledi vrbovité (Salicaceae Mirbel) a ta do řádu Malpighiales Martius (Tokuoka & Tobe 2006, APG III 2009). V rámci řádu tvoří čeleď monofyletickou skupinu s čeleděmi: Achariaceae, Lacistemaceae, Passifloraceae, Putranjivaceae a Violaceae (Tokuoka & Tobe 2006).

Podle tradičního dělení jsou v čeledi rozeznávány 2–4 rody (Skvortsov 1999, Azuma & al. 2000). Molekulární analýzy založené na sekvenaci *rbcL* úseku chloroplastové DNA však naznačují, že do čeledi Salicaceae patří také značná část zástupců čeledi Flacourtiaceae. V takovémto širším pojetí je pak do čeledi Salicaceae řazeno 50 rodů, které jsou členěny do 9 tribů, z nichž tribus *Saliceae* Rchb. (= Salicaceae s. str.) je pravděpodobně evolučně nejodvozenější skupinou (Chase & al. 2002).

V rámci Salicaceae s. str. jsou rozeznávány následující rody: *Salix* L., *Populus* L., *Chosenia* Nakai a *Toisusu* Kimura. Poslední dva jmenované rody se vyskytují pouze ve východní Asii a jsou vyčleňovány z rodu *Salix* především kvůli některým primitivním morfologickým znakům. Rod *Chosenia* je na rozdíl od většiny vrb primárně větrosnubný, má převislé samičí jehnědy, květy bez nektarií a krycí šupiny pupenů volné na svrchní straně (Skvortsov 1999, Azuma & al. 2000, Chen & al. 2010). Rod *Toisusu* se od vrb liší nesrostlými krycími šupinami pupenů, převislými jehnědami a opadavými, od báze rozeklanými čnělkami (Azuma & al. 2000, Chen & al. 2010). Podle molekulárních analýz patří oba tyto rody do variability rodu *Salix* a zdánlivě primitivní znaky jsou sekundárně vzniklé (Azuma & al. 2000, Chen & al. 2010).

Rod *Salix* je podle Skvortsova (1999) tradičně členěn do tří podrodů: subgen. *Salix*, subgen. *Vetrix* (Dumort.) Dumort. a subgen. *Chamaetia* (Dumort.) Nasarov. Podrod *Salix* je heterogenní skupinou druhů, které jsou stromového vzrůstu, mají na bázi řapíků žlázky a v květech větší počet čnělek, 2 nektaria a světlé, obvykle nepigmentované listeny. Typickým zástupcem podrodu je vrba bílá (*Salix alba*). Většina druhů kvete současně s vývinem listů. Jedná se o ± primitivní skupinu s morfologickými znaky blízkými topolům (Argus 1986, Myklesad & Birks 1993, Skvortsov 1999, Azuma & al. 2000). Podrod *Vetrix* zahrnuje keře nebo nízké stromy s řapíky bez žlázek, květy se dvěma čnělkami, 1 nektariem a listeny tmavě pigmentovanými. Typickým zástupcem je vrba popelavá (*Salix cinerea*). Druhy kvetou ještě před vývinem listů. Jedná se o evolučně odvozenou skupinu (Argus 1986,

Skvortsov 1999, Azuma & al. 2000). Do podrodu *Chamaetia* jsou řazeny nízké, často plazivé keřky s větvemi ponořenými do substrátu, řapíky bez žlázek, květy s jedním či více nektarii a pigmentovanými listeny. Do podrodu je řazena např. vrba bylinná (*Salix herbacea*). Druhy kvetou po plném rozvinutí listů. Jde o evolučně značně odvozenou skupinu (Myklestad & Birks 1993, Skvortsov 1999, Azuma & al. 2000).

Skvortsovovo subgenerické členění je uznáváno především v Evropě a Rusku (cf. Rechinger 1992). V Číně nejsou podrody uznávány vůbec (cf. Fang & al. 1999). V Severní Americe se podrodové členění během posledních 30 let několikrát změnilo. Původně byly rozeznávány 3 podrody: *Salix*, *Vetrix* (incl. *Chamaetia*) a subgen. *Helix* vyčleněný z předešlého na základě odlišné anatomie listů a jiného tvaru nektaria (Argus 1986). Tentýž autor později poněkud přehodnotil svůj pohled na subgenerické členění a začal rozlišovat 4 podrody: *Salix*, *Vetrix*, *Chamaetia* a *Longifoliae* (Argus 1997). Poslední změnou v subgenerickém členění bylo vytvoření pátého podrodu subgen. *Protitea* (Argus 2010). Podrody *Protitea* a *Longifoliae* byly vyčleněny z nominátního podrodu. Subgen. *Longifoliae* zahrnuje keře nebo stromy s klonálním rozmnožováním, jejichž jehnědy jsou často větvené, listeny samičích jehněd jsou po odkvětu opadavé a v samčích květech jsou 2 tyčinky. Do subgen. *Protitea* jsou řazeny druhy obvykle stromového vzrůstu, které se nerozmnožují klonálně (případně jen pomocí fragmentace větví), listeny samičích jehněd po odkvětu opadávají a v samčích květech je 3–7 (vzácně až 9) tyčinek (Argus 2010).

Neustálenost subgenerického členění je způsobena především polyfylií nominátního podrodu, na kterou ukazují kromě morfologie jednotlivých zástupců i molekulární data (cf. Azuma & al. 2000, Chen & al. 2010). Hardig & al. (2010), kteří studovali fylogenezi rodu *Salix* založenou na chloroplastovém genu *matK* a rDNA ITS mezerníku, víceméně potvrdili Argusovo poslední podrodové členění (cf. Argus 2010).

Kromě podrodů jsou vrby dále členěny do sekcí a podsekcí. Toto členění opět není příliš jednotné a prakticky je zastoupeno dvěma hlavními proudy: euroasijským (Skvortsov 1999) a severoamerickým (Argus 2007, Argus 2010). Skvortsov (1999) rozeznává 26 sekcí, Fang & al. (1999) 37 sekcí a Argus (2007) rozeznává 35 sekcí. Vzhledem k tomu, že se některé sekce překrývají, bude skutečný počet sekcí pravděpodobně 50 či 60.



### 2.1.3 Hybridizace a introgrese

Mezidruhov hybridizace je považována za jednu z hlavních prchn taxonomick obtznosti rodu (cf. Rechinger 1992, Skvortsov 1999, Tennant 2004). Pohled na hybridizaci se od zaatku 20. století znan zmnil. Např. ˇvedsk botanik Floderus považoval výskyt hybridních jedinců za ˇastji než výskyt „istch“ druh a prchny polymorfismu vrb pripisoval prav hybridizaci (cf. Skvortsov 1999). Tento nzorov směr vedl k popisu značného množství (asto invalidních a zcela nereálných) hybridních kombinci. Později došlo ke kritickému a experimentálnímu zhodnocení jednotlivých hybridních kombinci (Buser 1940), avšak míra hybridizace byla naopak poněkud podcenovna. Např. Skvortsov (1999) považuje za hybridy pouze jedince s intermediárními znaky mezi rodiči. V současné době naopak prevld názor, že hybridi často nemusejí být intermediární a mohou nést rzn kombinace znaků obou rodičů (Elven & Karlsson 2000).

Pokud pomineme rozdln názory na podobu hybridů, shodne se vtina recentních studií na tom, že hybridizace je u vrb poměrně ˇastm jevem (Skvortsov 1999, Elven & Karlsson 2000). Jsou znmi hybridi mezi zástupci fylogeneticky znan vzdálených skupin, vtinou se však mezi sebou nekrz druhy z podrodu *Salix* a zbylých dvou podrodů (Skvortsov 1999). Míra hybridizace a ˇivotnost hybridů je často znan variabilní (Elven & Karlsson 2000). U druh, kter v prrod vůbec nehybridizují, je mon získat krzence experimentln (Skvortsov 1999). Hybridizaci v prrod brn celá řada bariér: např. ekologick diferenciaci, rozdíly v době květu, prostorov a geografick bariéry, rozdíly v ploidii ˇi pravdpodobn inkompatibilita (pravdpodobn predvim u diploidních druh, viz např. *Salix lapponum* a *S. lanata* rostou ve Skandinávii často spolen, ale nikdy netvor hybridy; Elven & Karlsson 2000). Pokud jsou tyto bariéry porušeny, např. na sukcesn mladých půdách na okraji ledovce, na disturbovaných půdách v okolí vodnch toků ˇi na člověkem narušených stanovištích, dochází k poměrně ˇast tvorbě hybridů a hybridních rojů (Rechinger 1992, Thibault 1998, Skvortsov 1999).

Hybridy F1 generace mohou pred dosaenm dospělosti uhynout nebo mohou být steriln (Mosseler & Zsuffa 1989), asten steriln (Salick & Pfeffer 1999), nebo zcela fertilní (Rechinger 1992, Skvortsov 1999). V pripad, že jsou hybridní jedinci asten steriln (např. kvůli špatnému provn chromozomů v gametách ˇi nzk viabilitě semen) mohou do genofondu populace prspvat pomocí klonálního rozmnožování

(Salick & Pfeffer 1999). V případě plně fertálních hybridů může docházet ke zpětnému křížení (introgresi) hybrida s jedním či oběma rodičovskými druhy. Rozsáhlá introgrese může mít za následek vytlačení jednoho či obou rodičů (např. hybrid *Salix lapponum* × *S. aurita* je v Pyrenejích mnohem běžnější než čistá *S. lapponum*; Rechinger 1992) a navíc silně komplikuje možnost determinace jednotlivých druhů. Hardig & al. (2000) studiem severoamerických druhů *Salix sericea* a *S. eriocephala* prokázali, že v případě hybridních rojů se značnou mírou introgrese, se není možné při determinaci spoléhat pouze na morfologické znaky. Rechinger (1992) uvádí jako příklady hybridizace a introgrese probíhající na velkém geografickém měřítku křížení mezi druhy *Salix alba* a *S. euxina* nebo *Salix repens* a *S. rosmarinifolia*.

Hybridy lze dělit podle různých kritérií do několika skupin. Chmelař & Koblížek (1990) dělí hybridy podle frekvence jejich výskytu v přírodě do 2 kategorií:

- 1) Běžní a často se opakující kříženci, kteří jsou nacházeni v obou pohlavích stejně často, a to i v případě, že se v okolí nevyskytují rodičovské druhy. Kříží se s rodiči, což způsobuje velkou znakovou proměnlivost a ztíženou determinaci. Z tohoto typu kříženců mohou další hybridizací vznikat trojití hybridy.
- 2) Vzácní hybridy, kteří se vyskytují v místě styku rodičů. Nedochozí k introgresi, znaky kříženců jsou intermediární a nevznikají žádné přechodné typy.

Meusel & Chmelař (1976) rozlišují 3 kategorie hybridů především podle rozšíření a frekvence jejich výskytu:

- 1) Hybridy velmi častí, kteří se vyskytují v obou pohlavích, obvykle společně se svými rodiči. Vznikají hybridní roje, ve kterých probíhá značná introgrese, takže je možné pozorovat plynulé přechody od jednoho rodiče ke druhému. Hybridy se po vyhynutí rodičovských druhů mohou chovat jako samostatné druhy. Do této kategorie patří také několik vícenásobných hybridů, kteří jsou ale poměrně vzácní.
- 2) Obvykle málo početní hybridy, jen jednoho nebo druhého pohlaví, kteří jsou v rámci areálu rodičovských druhů nacházeni sporadicky. Poměrně častí jsou jen v místě výskytu obou rodičů. Hybridy jsou ve znacích obvykle intermediární. Až na několik výjimek se jedná o hybridy malého geografického prostoru (často mezi endemickými druhy).

3) Hybridi velmi vzácní, vyskytující se pouze v jednom pohlaví, kteří se obvykle nikdy neopakují. Většinou se jedná o hybridy jedné či několika málo lokalit. Hybrid tohoto typu je obvykle formován na stanovištích s extrémními a velmi unikátními podmínkami, a proto se nikde neopakuje. Patří sem např. někteří kříženci mezi podrody (*Salix triandra* × *S. viminalis*) či kříženci některý kulturních vrb.

Elven & Karlsson (2000) rozdělují hybridy podle viability a biologického významu do 4 kategorií:

- 1) Sterilní nebo téměř sterilní primární hybridy, vyskytující se v přirozených podmínkách obvykle pouze jednotlivě, jde o většinu hybridů mezi diploidy a polyploidy a mezi diploidy navzájem.
- 2) Hybridy mezi diploidy a polyploidy s prokazatelnou introgresí k rodiči vyššího ploidního stupně. Jedná se o jednosměrný genový tok, který může být příčinou vyšší polymorfie polyploidů. Takoví hybridy se vyskytují obvykle v přirozených podmínkách, na ekologicky intermediárních biotopech rodičovských druhů.
- 3) Hybridy mezi rodiči se stejnou ploidní úrovní, kteří jsou vysoce fertlní a dochází zde k obousměrné introgresi znaků. Vzniká kontinuální variabilita znaků mezi oběma rodiči. Hybridy se vyskytují na přirozených styčných plochách či na narušených biotopech.
- 4) Hybridní zóny mezi blízce příbuznými taxony, které dokládají nedokončený proces speciace rodičovských druhů.

#### **2.1.4 Populační struktura**

Populační struktura vrb je ovlivňována především dvojím typem rozmnožovacích strategií: sexuálním a klonálním. Zejména druhý typ rozmnožování je u vrb velmi významně zastoupen. Vysoký podíl klonálního rozmnožování např. snižuje genetickou diverzitu populace (Rottenberg & al. 1999). Navíc značně komplikuje definici jedinců, protože jejich zdánlivý počet nemusí odpovídat reálnému počtu genet (Stamati & al. 2007, Linn & al. 2009). Na druhou stranu klonální rozmnožování umožňuje dobře lokálně adaptovaným genotypům lepší uchycení a rozšiřování na lokalitě (Duhovnikoff & al. 2005).

V malých izolovaných populacích (např. u subalpínských druhů vrb v karových společenstvech, často navíc na okraji svého areálu) ovlivňují populační strukturu také další jevy jako např. inbreeding či genetický drift (Rottenberg & al. 1999). Výsledkem může být snížená genetická diverzita či fitness populací a jejich větší náchylnost k výkyvům prostředí, konkurenci či nedostatku opylovačů (Keller & Waller 2002).

### 2.1.5 Cytotaxonomie a cytogenetika

Vrby jsou polyploidním komplexem druhů (Suda & Argus 1968). Jako základní chromozomové číslo je všeobecně uznáváno  $x=19$  (Suda & Argus 1968, Chmelař 1979). Příležitostně je pro vrbu trojmužnou (*Salix triandra*) uváděno také základní chromozomové číslo  $x=11$  nebo  $x=22$  (cf. Elven & Karlsson 2000). Obecně však převládá názor, že existence paralelní řady s takovýmto základním chromozomovým číslem je málo pravděpodobná či pochybná (Meusel & Chmelař 1976, Argus 1986).

Takto vysoké základní chromozomové číslo je pravděpodobně paleopolyploidního původu. U vrb však prozatím neproběhla žádná studie, která by toto tvrzení ověřila. Paleopolyploidie však byla potvrzena u blízce příbuzných topolů, které mají stejné základní chromozomové číslo (Sterck & al. 2005).

Kromě diploidů jsou známy také polyploidní druhy, jejichž ploidní stupeň kolísá od tetraploidů po dodekaploidy (Suda & Argus 1968, Chmelař 1979, Argus 1986, Elven & Karlsson 2000). Vzhledem k tomu, že přibližně 40 % druhů je polyploidních, lze předpokládat, že evoluce rodu probíhala cestou hybridizace, následovanou polyploidizací a speciací (Suda & Argus 1968). Chmelař (1979) na základě rozsáhlého studia chromozomových počtů zjistil, že blízce příbuzné druhy mají obvykle stejný počet chromozomů a morfologicky polymorfní druhy mají naopak více ploidí.

Chromozomy jsou u vrb obecně velmi malé a dosahují velikostí okolo 1  $\mu\text{m}$  (Argus 1986). Na rozdíl od jiných dvoudomých rostlin, jako je např. chmel či některé silenky, nebyly u vrb zjištěny pohlavní chromozomy (Alström-Rapaport & al. 1997). Podle posledních výzkumů se zdá, že pohlaví je určováno více lokusy, které leží na autozomech (Alström-Rapaport & al. 1998, Gunter & al. 2003).

### 2.1.6 Segregace a vychýlený poměr pohlaví

Velmi zajímavou součástí ekobiologie vrb jsou jevy související s dvoudomostí, jako je prostorová segregace pohlaví či vychýlený poměr pohlaví.

Přestože jsou vrby striktně dvoudomé, lze se občas setkat i s jedinci jednodomými. Jedná se především o hybridy či o některé pěstované kultivary, zatímco u „čistých“ druhů jsou v přírodě takoví jedinci velmi vzácní (Elven & Karlsson 2000). Výjimkou v tomto tvrzení je populace *Salix acmophylla* nalezená v Izraeli, která je celá složena z jednodomých jedinců, kde se na jedné rostlině vyskytují odděleně samčí a samičí jehnědy) či dokonce jsou v jedné jehnědě oba typy květů (Rottenberg 2007).

U většiny zkoumaných druhů vrb byl pozorován vychýlený poměr pohlaví. Obvykle se jedná o vychýlení ve prospěch jedinců samičího pohlaví (např. u *Salix arctica*; Dawson & Bliss 1989). Samice většinou převažují nad samci v poměru 2:1 (jako to bylo zjištěno u *Salix udensis*; Ueno & al. 2007, či u *S. lapponum*; Hrachová 2009) či 3:2 (zjištěno např. u *S. arctica* a *S. herbacea*; Crawford & Balfour 1983). Zajímavé je, že podobná dominance samičího pohlaví vzniká i u hybridů (Alström-Rapaport & al. 1997, Hughes & al. 2010). Vzácně je v literatuře udáván také mírně vychýlený poměr pohlaví ve prospěch samců (např. u *Salix lapponum* ve Švédsku; Hughes & al. 2010). Fenomén vychýleného poměru pohlaví může být způsoben několika jevy: 1) vysokou mortalitou samců v raných obdobích vývoje, především ve stádiu semenáčku (Crawford & Balfour 1983, Ueno & al. 2007), 2) rozdílnou schopností jednotlivých pohlaví kolonizovat vhodné biotopy (Alliende & Harper 1989), 3) rozdílným tlakem herbivorů na jednotlivá pohlaví (Ueno & al. 2007).

S fenoménem vychýleného poměru pohlaví úzce souvisí prostorová segregace pohlaví. Tento jev byl ověřen např. u druhu *Salix glauca*, u kterého samice rostly na půdách vlhkostně mezických, zatímco samci rostli převážně na půdách sušších (Dudley 2006). Podobný pattern byl nalezen i u druhu *S. arctica*, u kterého kromě vlhkosti zřejmě hraje svou roli také teplota a úživnost půdy (Dawson & Bliss 1989). Ve studiích zaměřených na vrby rostoucí na březích vodních toků naopak žádná prostorová segregace pohlaví zjištěna nebyla (Ueno & al. 2007, Hughes & al. 2010). Rozdílné mikrobiotopové preference mezi pohlavími u některých druhů vrb pravděpodobně souvisí s rozdílnou cenou za tvorbu rozmnožovacích orgánů a za reprodukci (Dawson & Bliss 1989, Dudley 2006).

## 2.2 Charakteristika hlavních zástupců komplexu *Salix lapponum*

Druhy z okruhu vrby laponské jsou řazeny do podrodu *Vetrix* a sekce *Villosae* (Andersson) Rouy. Jedná se o poměrně homogenní skupinu druhů, která je charakterizována následujícími znaky: keře nebo příležitostně nízkokmenné stromky, květní a listové pupeny jsou navzájem značně odlišné, listy eliptické nebo (ob)kopinaté, celokrajné nebo na bázi zubaté, méně či více chlupaté, letorosty chlupaté, katafyly a spodní listy ze spodní strany méně či více nastříbrnělé, jehnědy časně, hustě chlupaté, poměrně široké, nektarium 1, tobolek přisedlé nebo krátce stopkaté, hustě bíle pýřité, čnělky většinou prodloužené (Skvortsov 1999). Sekce je rozšířena zejména v boreálním a arktickém pásmu Eurasie a Severní Ameriky. V původním pojetí bylo do sekce řazeno 5 druhů (4 euroasijské: *Salix lapponum*, *S. helvetica*, *S. krylovii*, *S. alaxensis* a 1 severoamerický: *S. candida*; cf. Andersson 1868, Skvortsov 1999). Argus (2010) do sekce navíc řadí další 2 severoamerické druhy (*S. barratiana* a *S. silicicola*) a *S. candida* naopak vyčleňuje do vlastní sekce *Candidae*.

V rámci sekce jsou známy pouze diploidní druhy. Evolučně je sekce spjata zejména s druhy ze sekce *Vimen* (zastoupené u nás druhem *Salix viminalis*), blízké příbuzné jsou pravděpodobně také sekce *Canae* a *Lanatae* (Skvortsov 1999).



**Obrázek č. 1:** Schematická mapa rozšíření *Salix lapponum* (červená linka a kolečko) a *S. helvetica* (modrá linka a kosočtverec) v Evropě (upraveno podle Hultén & Fries 1986, Skvortsov 1999).

### 2.2.1 *Salix lapponum* L. – vrba laponská

**Synonyma:** *Salix arenaria* auct. plur. vetust. (non L.), *Salix limosa* Wahlenb. (Fl. Lapp. 265), *Salix sudetica* Host (Sal. 28. 1828).

**Popis:** Keř 0,5 – 1,5 m, v zástínu vzácně až 2 m vysoký s pokroucenými až přímými kmínky. Letorosty jsou v mládí hustě chlupaté, později olysávají. Pupeny jsou zašpičatělé. Listy jsou kopinaté až podlouhlé, celokrajné, na rubu v mládí s dlouhými rovnými chlupy, později kadeřavě vlnaté. Jehnědy jsou válcovité, přisedlé. Samčí květy mají 2 tyčinky s lysými nitkami. Samičí květy mají plstnatý, krátce stopkatý semeník

a dvouklané blizny. Podpůrné listeny jsou tmavohnědé, dlouze chlupaté (Chmelař & Koblížek 1990, Elven & Karlsson 2000, Koblížek 2002, Pogorzelec & Nowosielski 2006).

**Variabilita:** Značně proměnlivý druh především v míře odění, tvaru a velikosti listů (cf. Hroneš 2009). V polské literatuře jsou rozeznávány 2 variety: var. *marrubifolia* (Tausch) Wimmer a var. *angustifolia* (Fijałkowski 1957, cf. Šourek 1969). Varieta *marrubifolia* se vyznačuje řídké olistěnými větvemi a vejčitými listy, var. *angustifolia* se vyznačuje nízkým vzrůstem a listy úzce kopinatými. Rostliny z Pyrenejí jsou především na základě charakteru habitu některými autory vyčleňovány do poddruhu subsp. *ceretana* Montserrat či do samostatného druh *Salix ceretana* (Montserrat) Chmelař (Montserrat 1950, Blanco 1993). V ČR je rozeznáván lysý taxon nejasné taxonomické hodnoty, označovaný jako *S. daphneola* (viz dále).

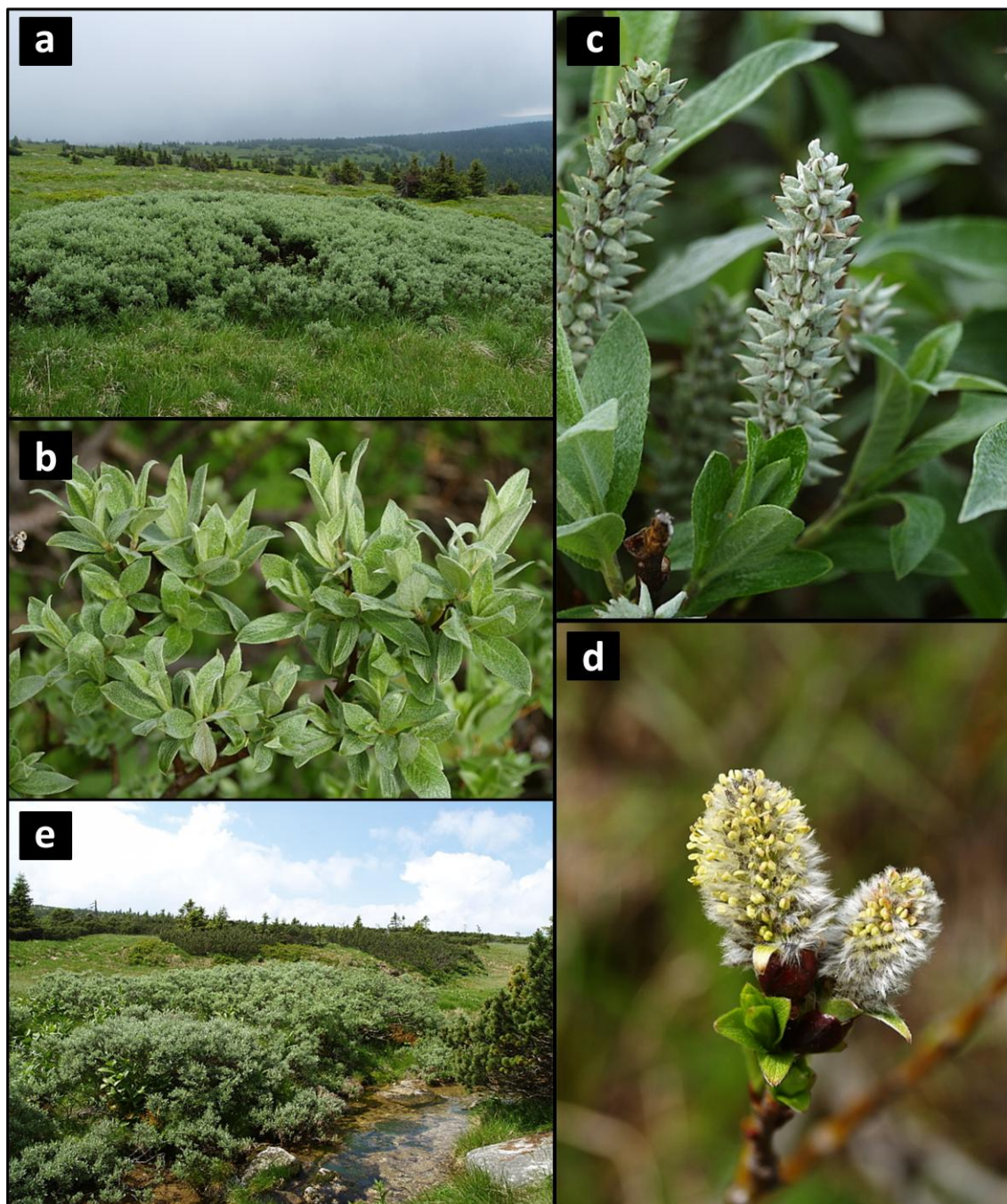
**Počet chromozomů:**  $2n=2\times=38$  (Chmelař 1979).

**Ekologie a cenologie:** Vrba laponská roste na hranách karů, okrajích rašelinišť, na březích horských toků či na sněhových výležiscích v karech. Druhu vyhovují mělké, často zrašelinělé půdy s vysokou hladinou podzemní vody (Chmelař & Koblížek 1990, Pogorzelec 2003). Vyskytuje se zejména ve společenstvech vysokobylinných niv svazu *Adenostyilion* a subalpínských křovin svazu *Salicion silesiacae*, vzácněji také ve společenstvech svazu *Calamagrostion villosae* (Hrachová 2009). Je dominantním a diagnostickým druhem asociace *Salicetum lapponum* (Chytrý 2007).

**Rozšíření:** Druh s boreálně-subarktickým areálem výskytu (Pogorzelec 2003). Souvislé rozšíření zahrnuje Skandinávii, Pobaltí, východní Polsko, severní Ukrajinu, Bělorusko, sever evropské části Ruska a západní Sibiř (Hultén & Fries 1986, Skvortsov 1999). Část souvislého areálu leží také ve Skotsku (Stamati & al. 2007). Ve střední a jihozápadní Evropě se vyskytuje pouze v izolovaných populacích v horách Vysokých Sudet, v horách západního Bulharska, v Makedonii, ve Francouzském středohoří a na jediné lokalitě v Ukrajinských Karpatech (Skvortsov 1999, Koblížek 2006, viz obr. 1). Šourek (1969) uvádí výskyt vrby laponské v Krkonoších na 19 lokalitách. Recentně je v ČR udávána z 12 lokalit: 1 v Hrubém Jeseníku a 11 v Krkonoších (Chmelař & Koblížek 1990, Hroneš & al. 2011). Z polské strany Krkonoš jsou v současné literatuře uváděny 4 lokality (Kwiatkowski 2006). Historické rozšíření vrby laponské na území ČR je shrnuto v příloze 1.



**Hybridizace:** V rámci svého areálu vrba laponská hybridizuje s celou řadou druhů. Tennant (2004) uvádí ze Skotska 7 dvojitých a 1 trojitého hybridu, Elven & Karlsson (2000) uvádějí ze Skandinávie 11 dvojitých a 5 trojitých hybridních kombinací a Fijałkowski (1957) uvádí z východního Polska 2 hybridní kombinace s vrbou laponskou. Z území ČR je v recentní literatuře uváděn pouze hybrid se *Salix silesiaca* (Chmelař & Koblížek 1990). Ve starší literatuře jsou dále z Krkonoš uváděni hybridi se *Salix caprea*, *Salix aurita* a také se *Salix bicolor* (Šourek 1969).



**Obrázek č. 2:** *Salix lapponum* L.: a) celkový habitus, Tabulové skály, Hrubý Jeseník, b) listy, Labský důl, západní Krkonoše, c) samičí jehněda, Výrovka, východní Krkonoše, d) samčí jehněda, Labský důl, západní Krkonoše, e) *Salicetum lapponum*, Pančavská louka, západní Krkonoše.

### 2.2.2 *Salix helvetica* Vill. – vrba švýcarská

**Synonyma:** *Salix lapponum* var. *helvetica* (Vill.) Andersson (DC. Prodr. 16(2): 277, 1868), *Salix lapponum* subsp. *helvetica* (Vill.) Nyman (Consp. Fl. Eur. 670, 1881), *Salix nivea* Seringe (Ess. Monogr. Saules Suisse 51, 1815).

**Popis:** Keř vysoký 0,5 – 2 m, s křivolakými a tlustými větvemi. Letorosty jsou zpočátku vlnatě chlupaté, později olysávají. Pupeny jsou na vrcholu tupé. Listy jsou eliptické až obvejčité, na líci tmavozelené, často lesklé, na rubu plstnatě chlupaté, bez přitisklých rovných chlupů. Palisty jsou drobné, brzy opadavé. Podpůrné listeny jsou černohnědé, hustě dlouze chlupaté. Semeníky jsou hustě chlupaté až plstnaté. Tobolky jsou chlupaté (Koblížek 2006).

**Variabilita:** V Západních Karpatech morfologicky nepříliš proměnlivý druh. Variabilita se projevuje především v míře odění svrchní strany listů (Koblížek 2006). V Alpách je druh pravděpodobně vlivem introgrese jiných taxonů nápadně variabilnější. Na základě různých tvarů listu a rozdílného stupně odění bylo z tohoto území popsáno více taxonů, zejména na úrovni variety (Rechinger 1957).

**Počet chromozomů:**  $2n=2\times=38$  (Dobeš & al. 1997).

**Ekologie a cenologie:** Druh vlhkých půd obvykle na kyselém podloží, který roste na březích potoků a ples, v ledovcových karech, na prameništích, ve sněhových výležiscích či na okrajích suťových polí. Kvete v červnu a červenci, současně s rozvojem listů (Koblížek 2006). V Tatrách druh tvoří dominantní složku společenstev asociací *Deschampsio caespitosae-Salicetum helveticae* a *Calamagrostio villosae-Salicetum helveticae* (Šeffler & al. 1989). V Alpách je pak vegetace se *S. helvetica* klasifikována jako asociace *Salicetum helveticae* (Wallnöfer & al. 2007).

**Rozšíření:** Druh se vyskytuje poměrně hojně v Alpách (od Přímořských po Tyrolské). Izolovaná arela se nachází v Západních Karpatech (Západní, Vysoké a Nízké Tatry), kde byl druh dlouhou dobu považován za *S. lapponum* (Skvortsov 1999, Koblížek 2006). Podrobnější rozšíření vrby švýcarské na Slovensku je uvedeno v příloze 3.

**Hybridizace:** Na Slovensku druh hybridizuje pouze velmi vzácně (Chmelař 1972, Koblížek 2006). Naopak v Alpách vrba švýcarská hybridizuje s celou řadou taxonů a z tohoto území jsou udávány dokonce i trojití a čtyřnásobní kříženci (Rechinger 1957).



**Obrázek č. 3:** *Salix helvetica* Vill.: a) celkový habitus, b) list, c) biotop, d) větvička se samičí jehnědou. Vše Mlynická dolina, Vysoké Tatry.

znak	<i>Salix lapponum</i>	<i>Salix helvetica</i>
vzrůst	statný	nízký
větve	rovné	křivolaké
pupeny	zašpičatělé	tupé
tvar listu	vejčité	eliptické či obvejčité
samičí jehnědy	štíhlé	zavalité

**Tabulka č. 1:** Rozlišovací znaky uváděné v literatuře pro *S. lapponum* a *S. helvetica* (podle Chmelař 1972, Koblížek 2006).

## 2.3 Problematické taxony z komplexu *Salix lapponum*

### 2.3.1 *Salix daphneola* Tausch

**Synonyma:** *Salix lapponum* var. *daphneola* (Tausch) Wimmer (Sal. Eur. 41, 1866), *Salix lapponum* subsp. *daphneola* (Tausch) Dostál (Nov. Květ. ČSSR 1: 124. 1989).

**Popis:** Nízký keřík s poléhavými, vystoupavými až vzácně vzpřímenými, žlutohnědými, lysými větvemi. Listy jsou poměrně drobné, celokrajné, kožovité, lysé a lesklé, na rubu často ojíněné, samičí kopinaté, na konci zašpičatělé, samčí téměř vejčité. Jehnědy jsou krátce stopkaté. Samičí květy mají lysé semeníky a dvojklané blizny. Listeny jsou tmavě hnědé, v mládí dlouze chlupaté, později často olysalé. Tobolky jsou lysé (Tausch 1837, Wimmer 1866, Chmelař & Koblížek 1990, Koblížek 2002).

**Počet chromozomů:**  $2n=2\times=38$  (Büchler 1986).

**Ekologie a cenologie:** Druh horských rašelinišť (Tausch 1837). Podrobnější údaje k ekologii a cenologii tohoto taxonu chybějí.

**Rozšíření:** Endemit Krkonoš, historicky uváděný pouze z Pančavské louky z blízkosti Pančavského vodopádu v Krkonoších (Tausch 1837, Chmelař 1972, Chmelař & Koblížek 1990). Při nedávné terénní revizi byl taxon nalezen ještě na 3 dalších mikrolokalitách (Hroneš & al. 2011).

**Hybridizace:** Chmelař (1972) uvádí, že se *S. daphneola* kříží s vrbou slezskou (*Salix silesiaca*). V pozdější literatuře již tento hybrid uveden není (Chmelař & Koblížek 1990).

**Obecně:** Problematický taxon, v současné době hodnocený jako varieta vrby laponské (Chmelař & Koblížek 1990, Koblížek 2002). Předběžná morfometrická analýza však separovala *S. daphneola* jako samostatnou, poměrně dobře vyhraněnou skupinu (cf. Hroneš 2009).



**Obrázek č. 4:** *Salix daphneola* Tausch: a) celkový habitus, b) listy, c) větvíčka se samičími jehnědami. Vše Labský důl, Krkonoše.

### 2.3.2 Problematika jména *Salix marrubifolia* Tausch ex Andersson

Taxon *Salix marrubifolia* se objevuje v několika významných pracích 20. století (cf. Floderus 1943, Rechinger 1957, 1964). Taxon byl popsán Tauschem z Krkonoš jako *S. arenaria* var. *marrubifolia* (Tausch 1837) a zahrnuje rostliny s širokými zvlněnými a svraskalými listy (viz příloha 4). Jméno posléze nakombinoval Wimmer do ranku variety *S. lapponum* (Wimmer 1866). Floderus (1943) později neoprávněně použil epitetum *marrubifolia* pro rostliny ze Západních Karpat, tedy pro *S. helvetica*. Z tohoto díla pravděpodobně čerpal K. Rechinger, v jehož pojetí je *S. marrubifolia* endemitem střední Evropy a vyskytuje se ve Vysokých Sudetech a v Západních Karpatech (Rechinger 1957, 1964). Z výše uvedeného je tedy zjevné, že jméno v pojetí různých autorů směřuje 2 taxony (*S. lapponum* z Krkonoš a H. Jeseníku a *S. helvetica* z Tater). Na tuto skutečnost poprvé upozornil pravděpodobně Skvortsov (1999).

Rostliny z Tauschových sběrů jsou pravděpodobně hybridního původu (*S. caprea* × *lapponum*?). Při recentních terénních pracích v Krkonoších (cf. Hrachová 2009, Hroneš 2009, Hroneš & al. 2011) žádné podobné rostliny nalezeny nebyly.

### 3. Cíle práce

Diplomová práce je zaměřena především na taxonomii *Salix lapponum* agg. ve střední Evropě. Cílem práce by měla být odpověď na následující otázky:

- 1) Jaká je morfologická variabilita studovaných taxonů ve střední Evropě?
- 2) Liší se středoevropské populace považované za *S. lapponum* s. str. morfologicky od populací v jiných částech areálu?
- 3) Jaká je mezipopulační genetická variabilita studovaných taxonů?
- 4) Lze na základě vybraných znaků od sebe odlišit druhy *S. lapponum* a *S. helvetica*?
- 5) Lze na základě morfologických a molekulárních znaků jednoznačně odlišit taxon *S. daphneola* od typické *S. lapponum*?

## 4. Materiál a metody

### 4.1 Sběr, původ a uchování rostlinného materiálu

Základní datový soubor pro morfometrickou analýzu (viz dále) byl zpracován na základě měření herbářových položek z vybraných veřejných herbářových sbírek v České republice (BRNU, CB, CESK, GM, HR, LIT, MJ, MP, NJM, OL, OSM, PL, PRC, ROZ; akronymy herbárií sensu Hradílek & al. 1992).

Vlastní sběr vzorků pro jednotlivé dílčí analýzy probíhal v rozpětí let 2008 až 2011. Pro potřeby morfometrické analýzy byly obvykle sbírány větvičky s květy a alespoň 10 listy. Tyto větvičky byly vylisovány a posléze uloženy v herbáři OL. Pro potřeby molekulární analýzy bylo z vybraných jedinců (ve velkých populacích 8-10 vzorků, v populacích s menším počtem jedinců 1-5 vzorků) odebráno asi 5 g listového pletiva (tj. asi 5 vzrostlých listů). Vzorky byly po odebrání co nejrychleji vysušeny. Posléze byly uchovávány v papírových sáčkích či obálcích za pokojové teploty. Seznam vzorků použitých pro molekulární analýzu je uveden v příloze 6.

### 4.2 Morfometrická analýza

Pro morfometrickou analýzu byl jako základ použit soubor dat z bakalářské práce (Hroneš 2009). Tento datový soubor byl doplněn měřením herbářových dokladů *Salix helvetica* ze Slovenska a vlastních sběrů *Salix lapponum* ze Skandinávie a Krkonoš. Celkem bylo změřeno 309 jedinců ze 14 veřejných herbářových sbírek v ČR a vlastních sběrů ze 7 zemí.

Morfologické parametry byly získány měřením vybraných vegetativních a generativních znaků. Měření bylo prováděno digitálním posuvným měřítkem pod binokulární lupou s variabilním zvětšením (0,62× – 5×). Měřeny či zaznamenávány byly následující znaky: délka a šířka listové čepele, počet párů žilek na listu, odění listu na rubu i líci, délka řapíku, délka samičí jehnědy, odění podpurných listenů v květenstvích, délka semeníku, délka stopky semeníku a odění semeníku. Na každé položce bylo provedeno vždy 10 měření daného znaku. Zaznamenáváno bylo také pohlaví a počet jehněd na větvičce. Míra odění listů, listenců a semeníků byla

rozčleněna do 5 kategorií podle procentuálního pokrytí pokožky chlupy. Členění je uvedeno v tabulce č. 2.

<b>procentuální pokrytí listů, listenců a semeníků chlupy</b>	<b>kategorie</b>
0 %	1
1 – 25 %	2
26 – 50 %	3
51 – 75 %	4
76 – 100 %	5

**Tabulka č. 2:** Kategorie charakterizující míru odění rostlinných částí.

Vzhledem k tomu, že některé zkoumané rostliny neměly současně vyvinuty všechny měřené vegetativní a generativní orgány, byl datový soubor pro následující analýzy rozdělen do dvou samostatných matic (na znaky vegetativní a samičí generativní). Rozpětí variability znaků jednotlivých taxonů a populací (Krkonoše, Jeseníky, Skandinávie, *S. daphneola* a *S. helvetica*) bylo znázorněno pomocí box-plotů a rozdíly mezi těmito skupinami byly testovány pomocí jednocestné neparametrické analýzy variance (Kruskal-Wallis One-Way ANOVA) a tzv. Dunnova testu v programu NCSS 2007 (Hintze 2008). Posléze byl u každé rostliny pro daný znak v programu MS Excel vypočítán medián, maximum a minimum. Takto získané datové matice byly analyzovány v programu Canoco for Windows verze 4.5 (ter Braak & Šmilauer 2002) metodou centrované a standardizované PCA. K testování hypotézy, zda lze jednotlivé taxony mezi sebou rozlišit pomocí souboru sledovaných morfologických znaků byla použita kanonická diskriminační analýza (CDA) v programu NCSS (Hintze 2008).

### **4.3 Izolace genomické DNA**

Izolace DNA byla prováděna z rychle vysušených listů. Pro izolaci byl použit protokol, který byl již dříve na pracovišti odzkoušen a optimalizován pro rod *Salix* (cf. Sochor 2009, Brandová 2010).

- 1) 50 mg rostlinného materiálu bez řapíku a střední žilky bylo homogenizováno 2 minuty v homogenizátoru RETSCH.
- 2) K homogenizovanému pletivu bylo přeneseno 700  $\mu$ l 2 % CTAB pufru s 1 % PVP a 2  $\mu$ l  $\beta$ -ME a celá směs byla inkubována při 65°C minimálně 60 minut.



- 3) Následně bylo přidáno 700  $\mu$ l směsného roztoku CHF:IAA (24:1), celá směs byla důsledně promíchána a centrifugována (13 000 RPM, 15 min., 10°C).
- 4) Horní fáze byla přenesena do 500  $\mu$ l CHF:IAA, opět důsledně promíchána a centrifugována (13 000 RPM, 15 min., 10°C).
- 5) Horní fáze byla přenesena do 400  $\mu$ l isopropanolu a precipitována při 4°C alespoň 30 minut. Poté byla směs centrifugována (13 000 RPM, 15 min., 4°C).
- 6) Vzniklý sediment byl rozpuštěn v 200  $\mu$ l 10x TE pufru a uskladněn při 4°C obvykle přes noc.
- 7) Poté byl přidán 1  $\mu$ l RNAsy a směs byla inkubována při 37°C po dobu 30 minut.
- 8) Posléze bylo přidáno 20  $\mu$ l NaAc a 440  $\mu$ l ledového EtOH a směs byla precipitována při 4°C alespoň 30 min.
- 9) Po ukončení precipitace byla směs centrifugována (13 000 RPM, 15 min., 4°C), promyta v 700  $\mu$ l 80% EtOH, opět centrifugována (13 000 RPM, 10 min., 10°C), promyta v 700  $\mu$ l 70 % EtOH a znovu centrifugována (13 000 RPM. 10 min., 10°C).
- 10) Sediment byl vysušen při 35°C a rozpuštěn ve 130  $\mu$ l TE pufru.

Po ukončení izolace byly izoláty separovány elektroforézou na 1,5 % agarózovém gelu obarveném UltraPower™ Nucleic Stain a koncentrace DNA byla stanovena spektrofotometricky na Nanodropu 1000. Pro další analýzy byly všechny vzorky naředěny na koncentraci 5  $\mu$ g/ $\mu$ l.

#### **4.4 Polymerázová řetězová reakce (PCR)**

Pro analýzu mikrosatelitů (SSR loci) byly použity primery ze studie Barker & al. (2003). Použité primerové kombinace jsou uvedeny v tabulce 3. Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla prováděna v přístroji Peltier Thermal Cycler PTC 200 (MJ Research). PCR pro jeden vzorek probíhala v celkovém objemu 10  $\mu$ l. Složení PCR mixu je uvedeno v tabulce 4.

Pracovní název	Nukleotidová sekvence (5' – 3')	Opakované motivy	Velikost produktu (bp)	Počet alel
Sx 08	F: ACTTCAATCTCTCTGTATTCT R: CTATTTATGGGTTGGTTCGATC	[TG] <sub>21</sub> AG[TG] <sub>3</sub> AG[TG] <sub>3</sub> AG[TG] <sub>3</sub> AGTGAG[TG] <sub>3</sub>	167	22
Sx 10	F: TAATGGAGTTCACAGTCCTCC R: ATACAGAGCCCATTTCATCAC	[TC] <sub>21</sub>	140	13
Sx 14	F: ATGTCATTTCAGGTTTGTTC R: ATGGTTTAACTTGTACTGTA	[CCG] <sub>5</sub>	104	3
Sx 20	F: CCTCTTTTCTATTGTGGTCT R: GGCATGTATTTTACTCCAAC	[CT] <sub>4</sub> CC[CT] <sub>3</sub> [CA] <sub>22</sub>	212	14
Sx 23	F: AAATTACCGTCCAACTAAAGA R: CATTAGCCATGAACAAGTAAA	[TA] <sub>2</sub> [TGTGCG] <sub>4</sub> [TG] <sub>9</sub>	215	14

Tabulka č. 3: Přehled použitých primerových kombinací (podle Barker & al. 2003).

mix	objem (μl)
dd H <sub>2</sub> O	5,75
10x NovaTaq Buffer with MgCl <sub>2</sub>	2
dNTPs (10 mM)	0,5
Forward primer (μM)	0,5
Reverse primer (μM)	0,5
NovaTaq DNA Polymerase	0,05
DNA	1

Tabulka č. 4: Složení PCR mixu pro jeden vzorek.

PCR podmínky pro jednotlivé primery jsou uvedeny v tabulce 5. Produkty PCR byly smíchány s denaturačním pufrům, denaturovány po dobu 5 minut při teplotě 96°C, separovány vertikální elektroforézou na 6 % polyakrylamidovém gelu a následně vizualizovány pomocí stříbra.

podmínky	Sx 08	Sx 10	Sx 14	Sx 20	Sx 23
<b>počáteční denaturace</b> (2:00 min)	95°C	95°C	95°C	95°C	95°C
<b>denaturace</b> (0:30 min)	95°C	95°C	95°C	95°C	95°C
<b>annealing</b> (0:30 min)	55,5°C	64,5°C	50°C	50°C	50,5°C
<b>elongace</b> (0:30 min)	72°C	72°C	72°C	72°C	72°C
<b>terminace PCR</b> (5:00 min)	72°C	72°C	72°C	72°C	72°C
<b>zchlazení</b>	4°C	4°C	4°C	4°C	4°C
<b>počet cyklů</b>	32	30	36	28	32

Tabulka č. 5: PCR podmínky pro jednotlivé primerové kombinace.

## 4.5 Analýza mikrosatelitů (SSR loci)

Pro zjištění variability studovaného souboru byla v aplikaci GenAlEx verze 6.41 (Peakall & Smouse 2006) vypočtena matice genetických vzdáleností (s využitím Jaccardova koeficientu) a následně provedena analýza hlavních koordinát (PCoA). Dále byla v programu GenAlEx provedena analýza molekulární variance (AMOVA), která slouží k identifikaci zdroje molekulární variability. Počet permutací byl nastaven na 999 a v rámci analýzy byla potlačena intraindividuální variabilita. Celkový fixační index byl vypočítán v programu GenAlEx. Genetická diference jednotlivých populací byla stanovena výpočtem párových  $F_{ST}$  v programu Arlequin verze 3.5.1.2 (Excoffier & Lischer 2010).

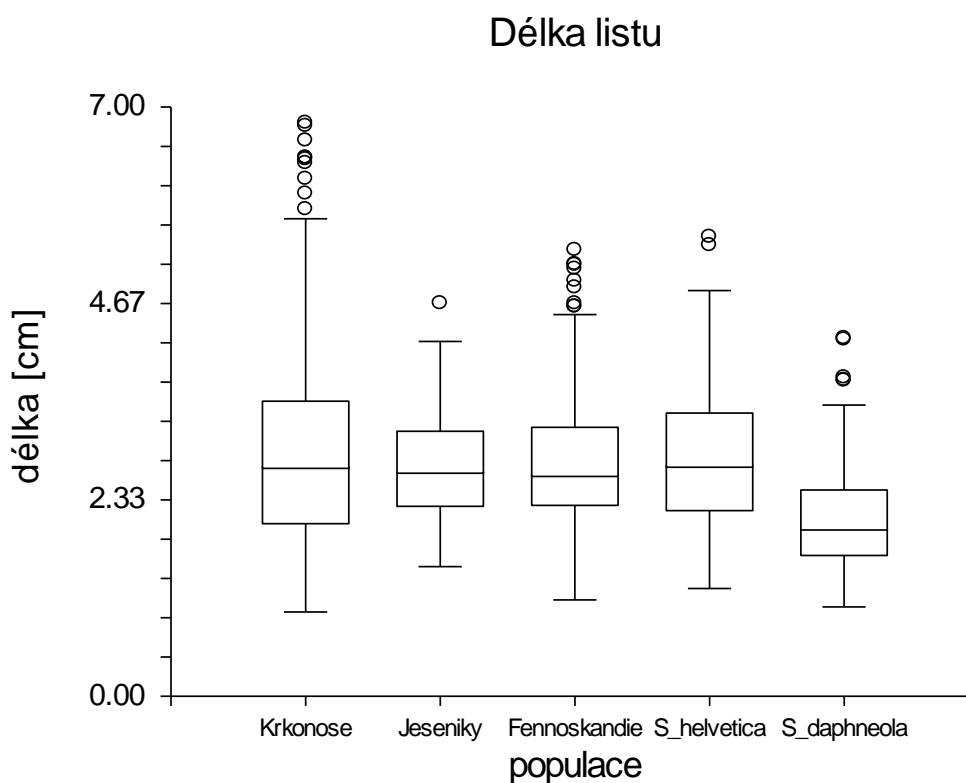
K analýze genetické struktury jednotlivých vzorků byl použit program Structure verze 2.2 (Pritchard & al. 2000), který byl spuštěn na serveru Bioportal.no Univerzity v Oslo ([www.bioportal.uio.no](http://www.bioportal.uio.no)). Parametry algoritmu byly zvoleny následovně: admixture model, „burn-in“ 80 000, počet opakování („numreps“) 800 000, počet replikací („runs“) 10. Analýza proběhla pro všechna K od 1 do 15. Nejvhodnější počet clusterů a koeficienty similarity jednotlivých běhů byly vypočteny pomocí programu Structure-sum verze 2009 (Ehrich & al. 2009). Pravděpodobnost každého K pro určení nejvhodnějšího počtu skutečných populací v souboru byla stanovena pomocí hodnot průměrných věrohodností modelu  $\ln \Pr(X/K)$  a  $\Delta K$  (cf. Evanno & al. 2005). Do následných analýz byly použity pouze vzájemně podobné běhy, jejichž individuální Q hodnoty byly zprůměrovány v programu CLUMPP for Windows verze 1.1.2. (Jakobsson & Rosenberg 2007). Z takto vzniklé Q-matice byl v programu Distruct verze 1.1 (Rosenberg 2004) vytvořen diagram znázorňující příslušnost každého jedince k jednotlivým K clusterům.

## 5. Výsledky

### 5.1 Morfometrická analýza

#### 5.1.1 ANOVA, vegetativní znaky

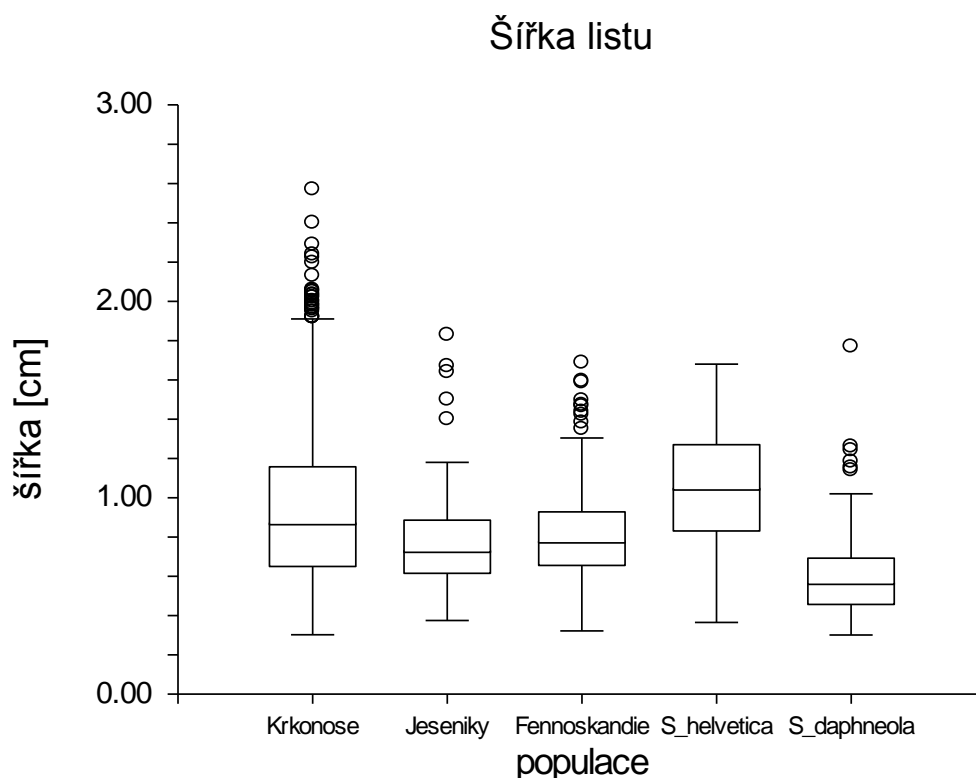
Pro analýzu vegetativních částí bylo použito celkem 259 rostlin (222 jedinců *Salix lapponum*: 161 jedinců z Krkonoš, 45 jedinců z Fennoskandie, 15 jedinců z Jeseníků, 1 jedinec z Vitoši; 22 jedinců *S. daphneola* a 15 jedinců *S. helvetica*: 14 jedinců z Tater, 1 jedinec z Alp). Rozpětí variability vybraných znaků je znázorněno na obrázcích č. 5–8. Výsledky mnohonásobného porovnávání (Dunnův test) střední hodnoty vybraných znaků mezi jednotlivými populacemi jsou uvedeny v tabulkách č. 6–9.



**Obrázek č. 5:** Variabilita délky listové čepele v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehle hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 138,6$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
Krkonoše	0,0000	0,0121	0,0483	0,8977	11,4423*
Jeseníky	0,0121	0,0000	0,0376	0,6611	7,5947*
Fennoskandie	0,0483	0,0376	0,0000	0,7854	10,0251*
<i>S. helvetica</i>	0,8977	0,6611	0,7854	0,0000	8,4880*
<i>S. daphneola</i>	11,4423*	7,5947*	10,0251*	8,4880*	0,0000

**Tabulka č. 6:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro délku listu. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

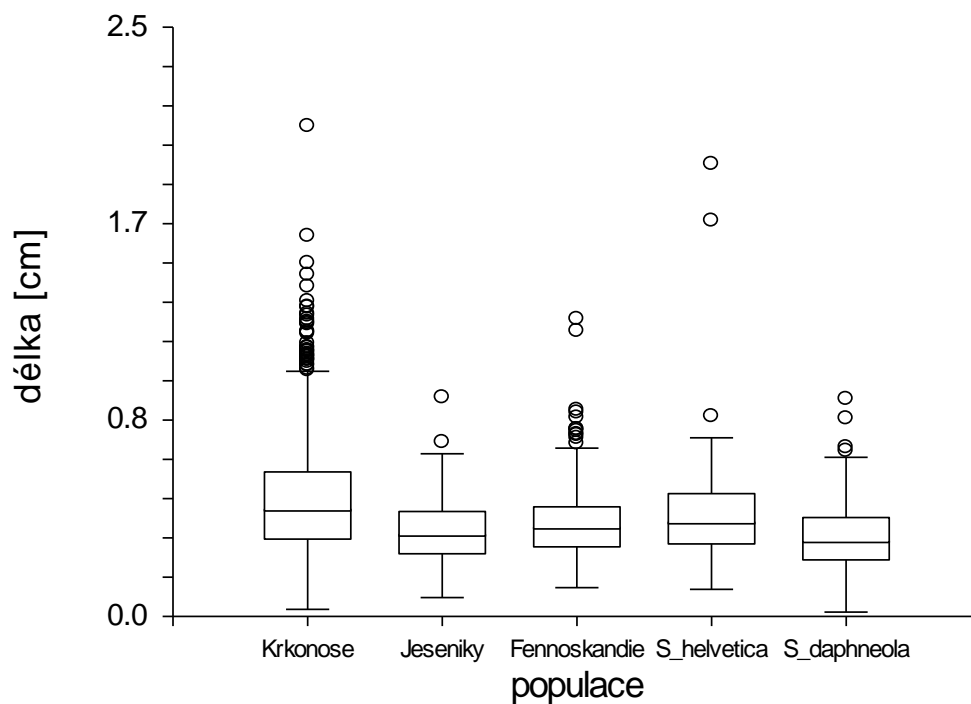


**Obrázek č. 6:** Variabilita šířky listové čepele v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehle hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 281,5$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
Krkonoše	0,0000	4,6079*	4,4870*	5,5713*	14,5130*
Jeseníky	4,6079*	0,0000	1,7495	7,5005*	5,8908*
Fennoskandie	4,4870*	1,7495	0,0000	7,5783*	9,8294*
<i>S. helvetica</i>	5,5713*	7,5005*	7,5783*	0,0000	14,3386*
<i>S. daphneola</i>	14,5130*	5,8908*	9,8294*	14,3386*	0,0000

**Tabulka č. 7:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro šířku listu. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

## Délka řápíku

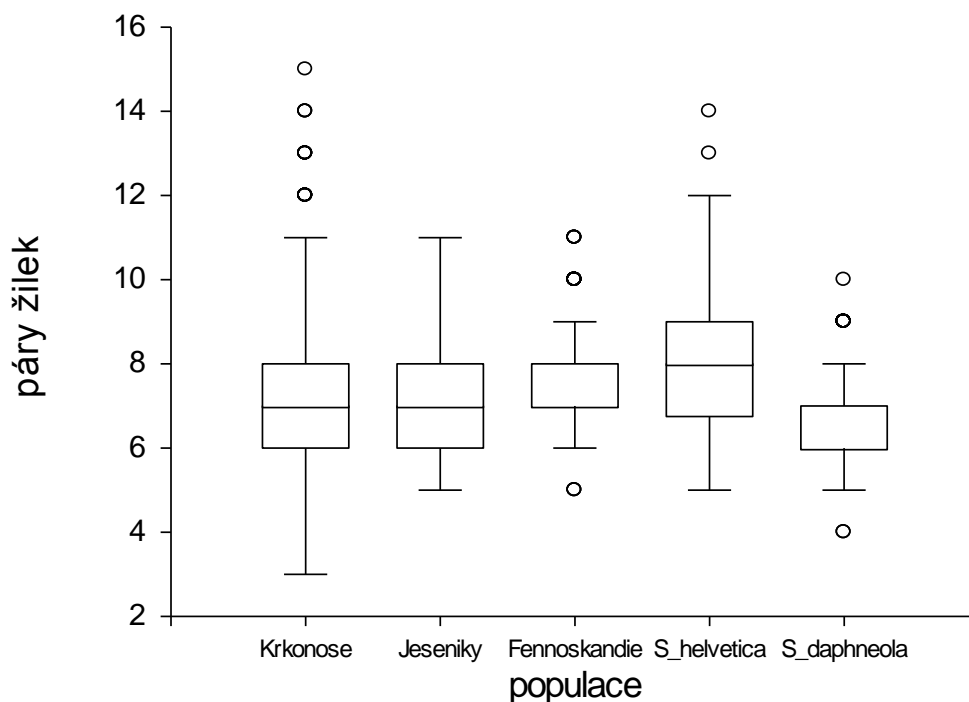


**Obrázek č. 7:** Variabilita délky řápíku v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehle hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 180,2$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
<b>Krkonoše</b>	0,0000	7,0105*	8,1462*	2,9406*	10,4406*
<b>Jeseníky</b>	7,0105*	0,0000	1,9393	3,1196*	1,2266
<b>Fennoskandie</b>	8,1462*	1,9393	0,0000	1,9081	3,9014*
<b><i>S. helvetica</i></b>	2,9406*	3,1196*	1,9081	0,0000	4,7145*
<b><i>S. daphneola</i></b>	10,4406*	1,2266	3,9014*	4,7145*	0,0000

**Tabulka č. 8:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro délku řápíku. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

## Počet žilek



**Obrázek č. 8:** Variabilita počtu párů žilek na listové čepeli v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehlé hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 87,0$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

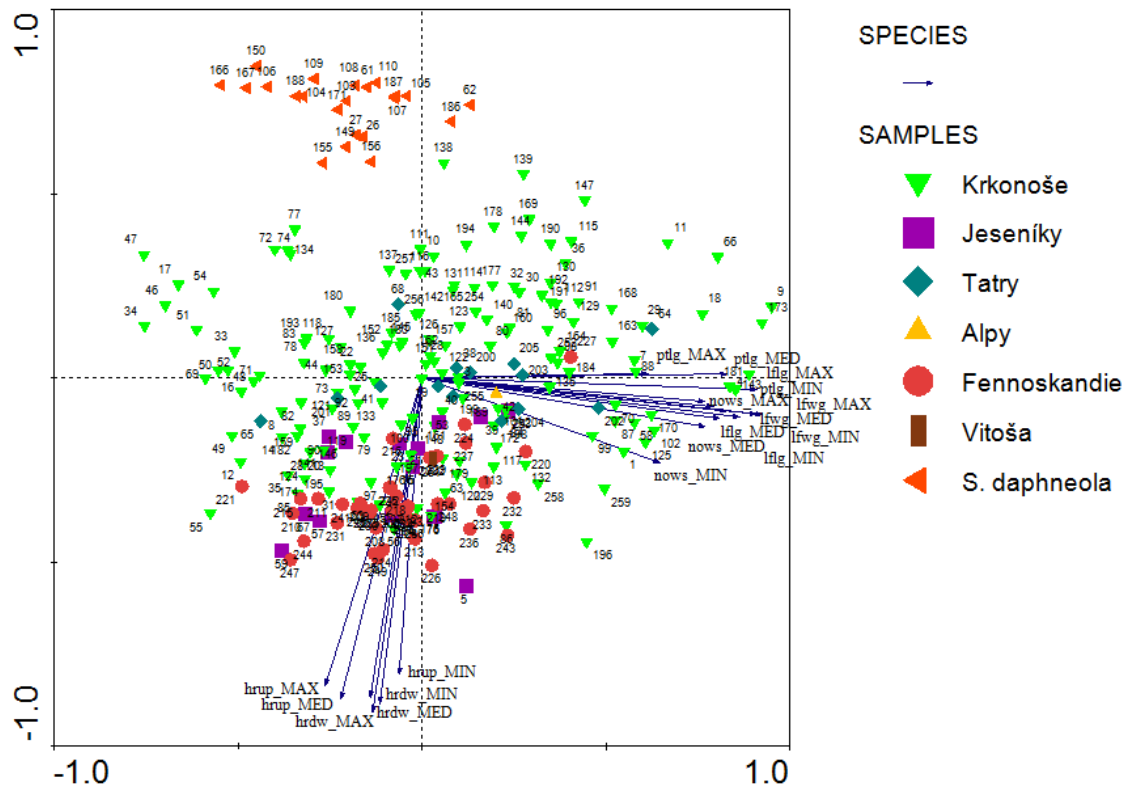
populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
<b>Krkonoše</b>	0,0000	1,8295	4,1286*	4,0133*	6,6616*
<b>Jeseníky</b>	1,8295	0,0000	0,5900	1,5433	5,9181*
<b>Fennoskandie</b>	4,1286*	0,5900	0,0000	1,3231	8,5001*
<b><i>S. helvetica</i></b>	4,0133*	1,5433	1,3231	0,0000	7,7552*
<b><i>S. daphneola</i></b>	6,6616*	5,9181*	8,5001*	7,7552*	0,0000

**Tabulka č. 9:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro počet párů žilek. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

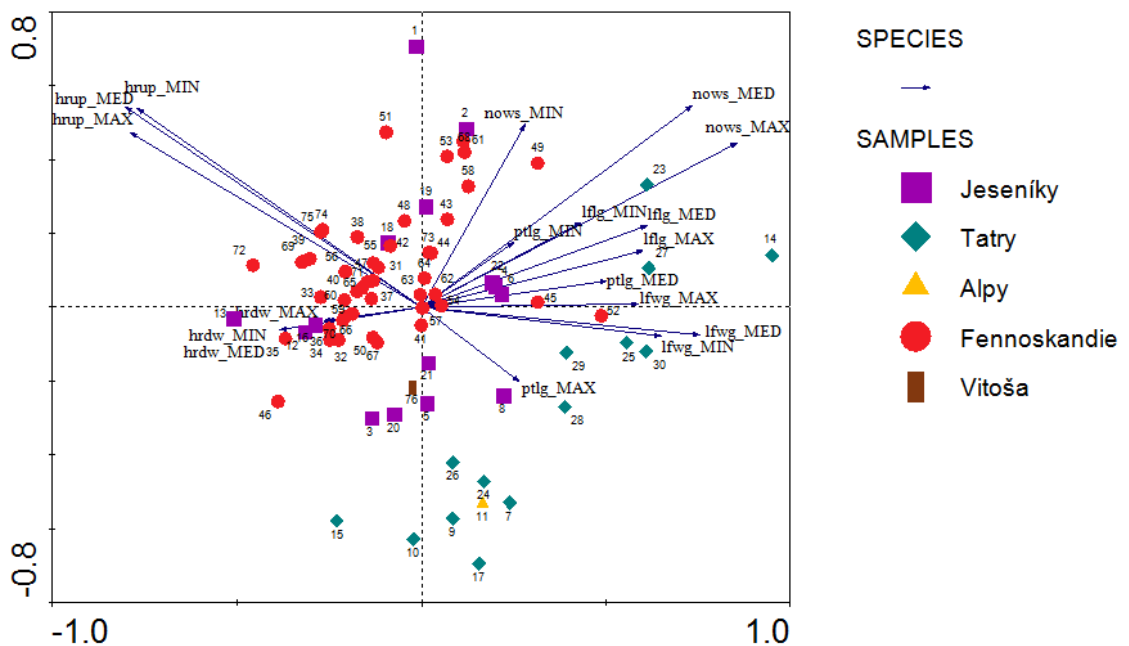
### 5.1.2 PCA, vegetativní znaky

PCA pro vegetativní znaky ukazuje dva hlavní směry variability. První osa vysvětluje 44,7 % celkové variability studovaného souboru a nejvíce s ní korelují znaky maximální délka čepele (lflg\_MAX) a délka řapíku (ptlg\_MED). Druhá osa vysvětluje 25,6 % celkové variability a nejvíce s ní korelují znaky odění líce (hrup\_MIN) a rubu čepele (hrdw\_MIN). Nápadná je zejména značná variabilita vegetativních částí rostlin z Krkonoš, která je nápadně větší než variabilita rostlin z ostatních populací. Jedinci *Salix daphneola* tvoří samostatnou a poměrně izolovanou skupinu (obr. 9). Po odstranění všech vzorků z Krkonoš (*S. lapponum* i *S. daphneola*) z analýzy je

zřetelná mírná separace *S. helvetica* od *S. lapponum* (obr. 10). V takovémto rozložení vysvětluje první ordinační osa 53 % celkové variability a druhá osa 20,6 % celkové variability souboru.

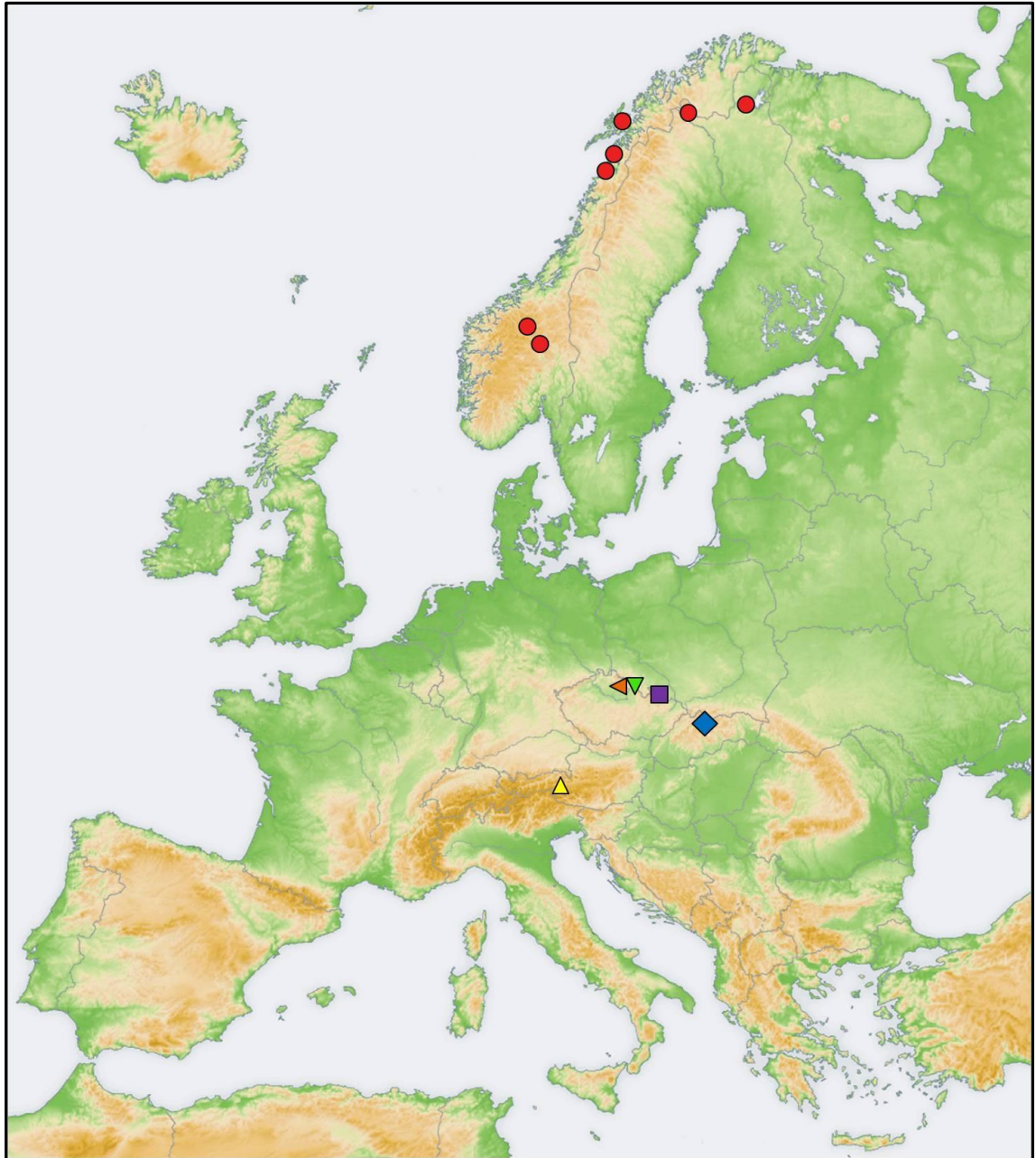


**Obrázek č. 9:** PCA ordinační diagram pro vegetativní znaky (hrup – odění líce listu, hrdw – odění rubu listu, lflg – délka čepele, lfwg – šířka čepele, ptlg – délka řapíku, nows – počet žilek; MED – medián znaku, MAX – maximální hodnota znaku, MIN – minimální hodnota znaku). První dvě osy vysvětlují 70,3 % variability.



**Obrázek č. 10:** PCA ordinační diagram pro vegetativní znaky po odstranění vzorků z Krkonoš (použité zkratky odpovídají zkratkám u obrázku č. 9). První dvě osy vysvětlují 73,6 % variability.





**Obrázek č. 11:** Geografické rozmístění studovaných populací. Symboly odpovídají symbolům na obr. č. 9, 10 a 16.

### 5.1.3 Diskriminační analýza, vegetativní znaky

Při použití všech měřených vegetativních znaků kanonická diskriminační analýza prokázala, že lze od sebe signifikantně odlišit všechny tři studované taxony (viz tab. 10, obr. 12). Největší váhu při tvorbě diskriminační funkce měly znaky odění rubu listu (*hrdw\_MED*) a šířka listu (*lfgw\_MED*; viz tab. 11).

<b>Fn</b>	<b>Eigenvalue</b>	<b>F</b>	<b>p</b>	<b>Wilk's Lambda</b>
1	1,296341	35,2	< 0,01	0,295242
2	0,474978	23,9	< 0,01	0,677976

**Tabulka č. 10:** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin (1 až 3). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – statistická významnost diskriminační funkce.

<b>znak</b>	<b>Variate1</b>	<b>Variate2</b>
<b>hrdw_MED</b>	1,011770	-0,713745
<b>hrup_MED</b>	0,008963	1,248878
<b>lflg_MED</b>	0,130595	0,349459
<b>lfgw_MED</b>	0,534970	-0,566457
<b>ptlg_MED</b>	-0,017109	0,693593
<b>nows_MED</b>	-0,002486	-0,288011

**Tabulka č. 11:** Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny.

<b>znak</b>	<b>Korelace1</b>	<b>Korelace2</b>
<b>hrdw_MED</b>	0,804221	0,037996
<b>hrup_MED</b>	0,474544	0,658307
<b>lflg_MED</b>	0,239698	0,060557
<b>lfgw_MED</b>	0,288063	-0,093838
<b>ptlg_MED</b>	0,167708	0,137648
<b>nows_MED</b>	0,192870	-0,122163

**Tabulka č. 12:** Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny.

<b>Skutečné</b>	<b>Predikované</b>			<b>Celkem</b>
	<b>skupina 1</b>	<b>skupina 2</b>	<b>skupina 3</b>	
<b>skupina 1</b>	190	18	14	222
<b>skupina 2</b>	2	13	0	15
<b>skupina 3</b>	0	0	22	22
<b>Celkem</b>	192	31	36	259

**Tabulka č. 13:** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminační funkce, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 80,3%. 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.

Po odebrání znaků „odění rubu a líce listu“ (hrdw\_MED, hrup\_MED), tedy znaků, jimiž se má *S. daphneola* lišit od ostatních taxonů, kanonická diskriminační analýza od sebe signifikantně odlišila *S. daphneola* a *S. helvetica* (viz tab. 14, obr. 12). Největší váhu při tvorbě diskriminační funkce měly znaky šířka listu (lfgw\_MED) a délka řapíku (ptlg\_MED; viz tab. 15).

Fn	Eigenvalue	F	p	Wilk's Lambda
1	0,140820	6,2	< 0,01	0,830047
2	0,056039	4,7	< 0,01	0,946934

**Tabulka č. 14:** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin (1 až 3). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – statistická významnost diskriminační funkce.

znak	Variate1	Variate2
lflg_MED	0,370525	-1,240049
lfwg_MED	-1,479502	0,600459
ptlg_MED	0,701473	-0,615162
nows_MED	-0,298478	0,596569

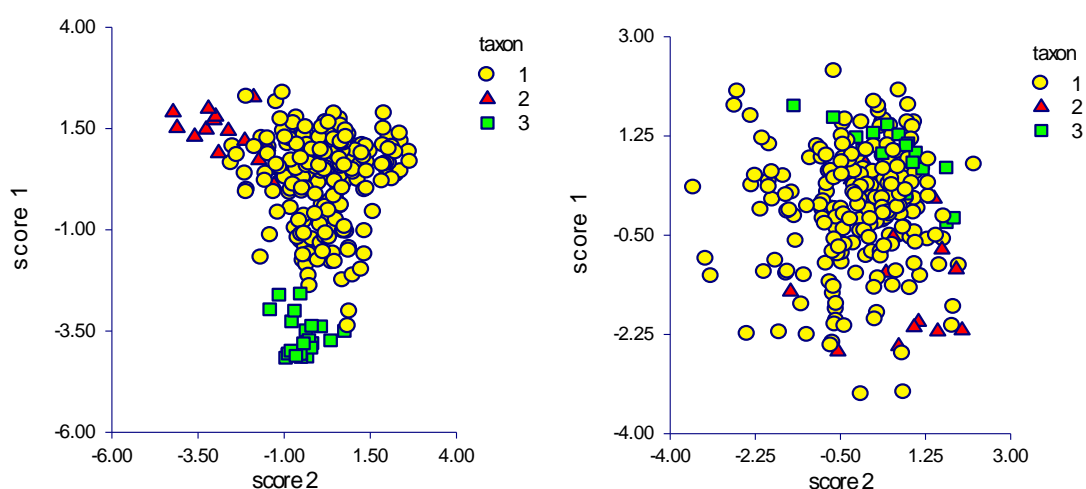
**Tabulka č. 15:** Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny.

znak	Korelace1	Korelace2
lflg_MED	-0,551778	-0,771435
lfwg_MED	-0,828498	-0,518978
ptlg_MED	-0,291482	-0,773125
nows_MED	-0,613611	-0,202138

**Tabulka č. 16:** Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny.

Skutečné	skupina 1	skupina 2	skupina 3	Celkem
1	114	47	61	222
2	3	10	2	15
3	2	2	18	22
<b>Celkem</b>	119	59	81	259

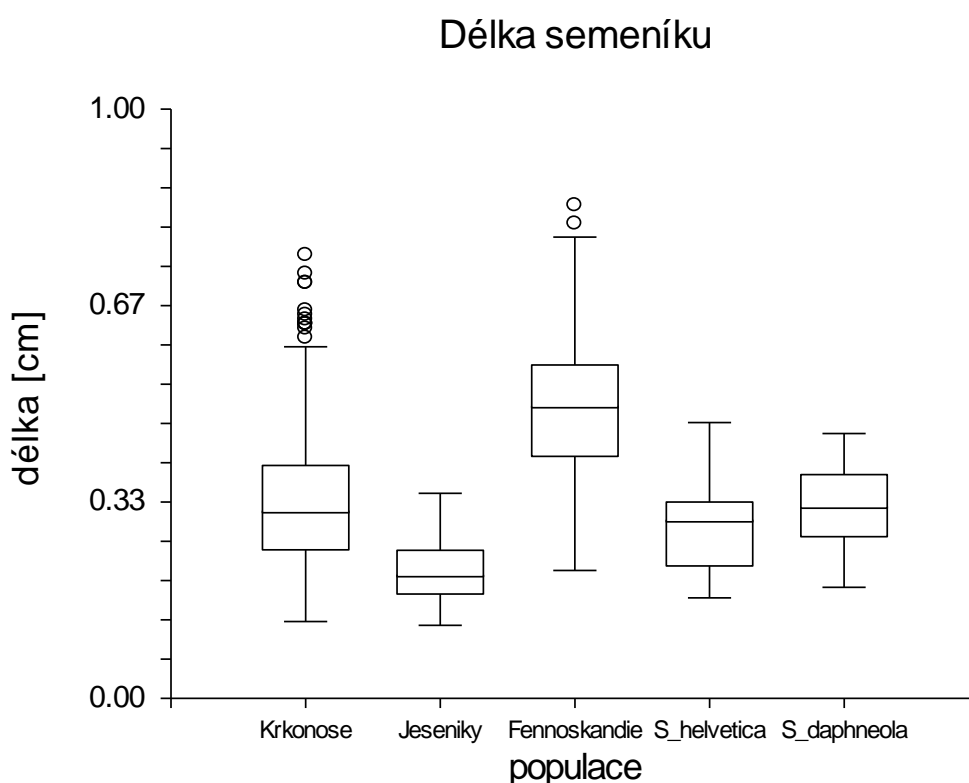
**Tabulka č. 17:** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminační funkce, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 32,2%. 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.



**Obrázek č. 12:** Kanonická diskriminační analýza: s použitím všech vegetativních znaků (vlevo) a bez použití znaků týkajících se odění listu (vpravo). 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.

### 5.1.4 ANOVA, generativní znaky

Pro analýzu generativních částí bylo použito celkem 146 rostlin (130 jedinců *Salix lapponum*: 86 jedinců z Krkonoš, 39 jedinců z Fennoskandie, 5 jedinců z Jeseníků, 9 jedinců *S. daphneola* a 7 jedinců *S. helvetica*: 6 jedinců z Tater, 1 jedinec z Alp). Rozpětí variability vybraných znaků je znázorněno na obrázcích č. 13–15. Výsledky mnohonásobného porovnávání (Dunnův test) střední hodnoty vybraných znaků mezi jednotlivými populacemi jsou uvedeny v tabulkách č. 18–20.

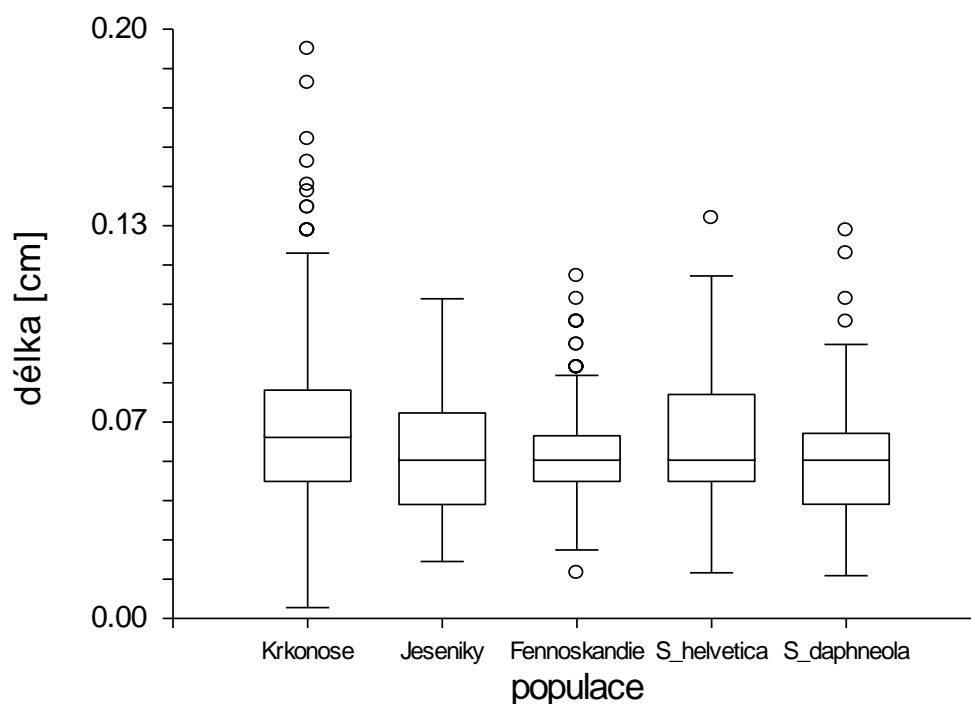


**Obrázek č. 13:** Variabilita délky semeníku v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehlé hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 499,0$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
<b>Krkonoše</b>	0,0000	7,2878*	19,1879*	2,6515*	0,0177
<b>Jeseníky</b>	7,2878*	0,0000	14,8847*	3,9459*	5,9996*
<b>Fennoskandie</b>	19,1879*	14,8847*	0,0000	11,5975*	10,0726*
<b><i>S. helvetica</i></b>	2,6515*	3,9459*	11,5975*	0,0000	2,0556*
<b><i>S. daphneola</i></b>	0,0177	5,9996*	10,0726*	2,0556*	0,0000

**Tabulka č. 18:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro délku semeníku. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

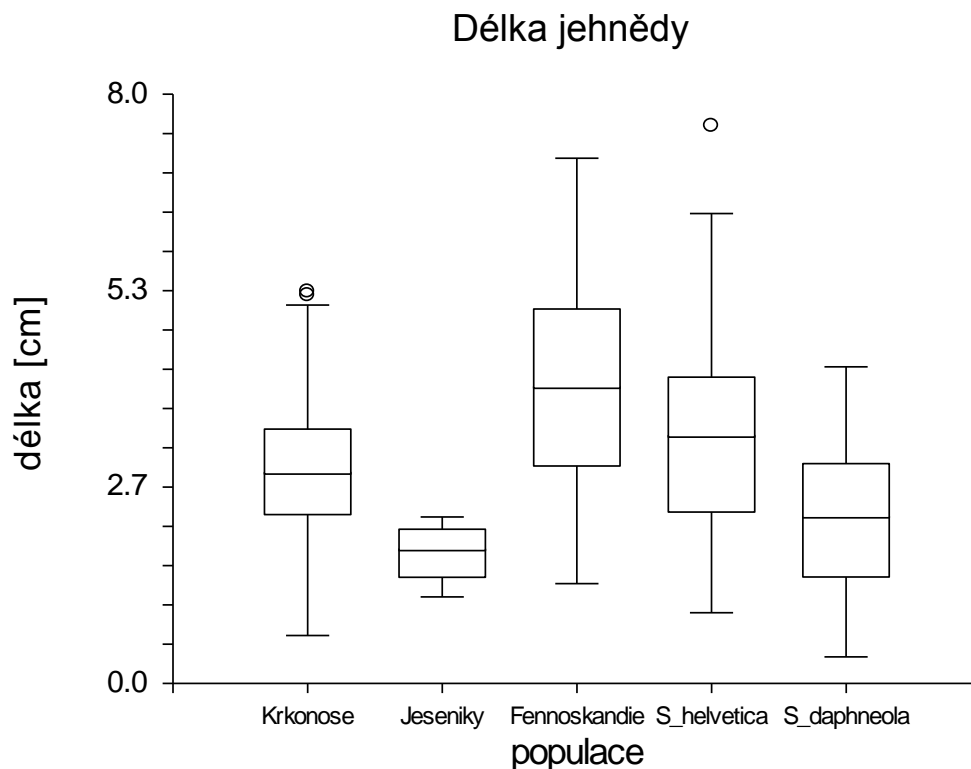
## Délka stopky semeníku



**Obrázek č. 14:** Variabilita délky stopky semeníku v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehlé hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 52,4$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
<b>Krkonoše</b>	0,0000	2,1221*	6,9288*	1,3840	3,0676*
<b>Jeseníky</b>	2,1221*	0,0000	0,7752	0,7382	0,1766
<b>Fennoskandie</b>	6,9288*	0,7752	0,0000	1,9486	0,7293
<b><i>S. helvetica</i></b>	1,3840	0,7382	1,9486	0,0000	1,0532
<b><i>S. daphneola</i></b>	3,0676*	0,1766	0,7293	1,0532	0,0000

**Tabulka č. 19:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro délku stopky semeníku. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).



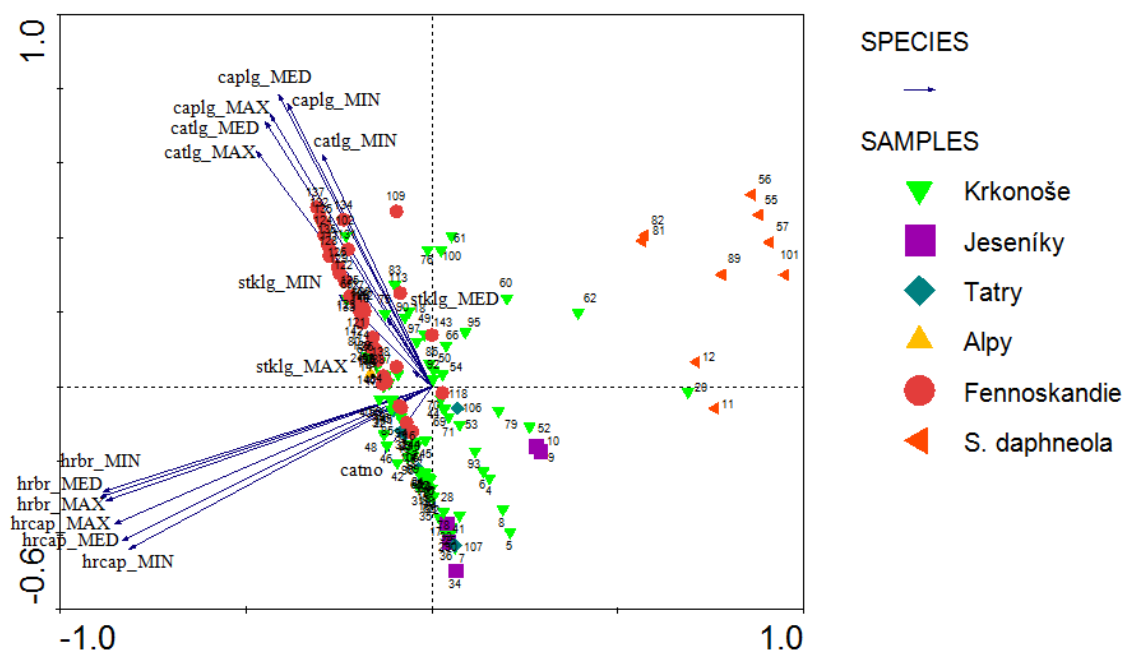
**Obrázek č. 15:** Variabilita délky jehnědy v jednotlivých populacích (tělo box-plotu znázorňuje 25–75 % rozpětí variability, čára uvnitř box-plotu medián, vousy zbytek variability a kolečka odlehlé hodnoty). Neparametrická ANOVA jednoznačně zamítá hypotézu o shodnosti všech mediánů ( $\chi^2 = 100,6$ ,  $p < 0,01$ ,  $DF = 4$ ).

populace	Krkonoše	Jeseníky	Fennoskandie	<i>S. helvetica</i>	<i>S. daphneola</i>
<b>Krkonoše</b>	0,0000	4,7420*	7,7415*	1,9527	2,0674*
<b>Jeseníky</b>	4,7420*	0,0000	7,9296*	5,1428*	2,0670*
<b>Fennoskandie</b>	7,7415*	7,9296*	0,0000	2,6758*	5,5471*
<b><i>S. helvetica</i></b>	1,9527	5,1428*	2,6758*	0,0000	2,9366*
<b><i>S. daphneola</i></b>	2,0674*	2,0670*	5,5471*	2,9366*	0,0000

**Tabulka č. 20:** Hodnoty tzv. Dunnova testu mnohonásobného porovnávání populací pro délku samičí jehnědy. \* = signifikantní rozdíl v mediánu studovaného znaku mezi populacemi ( $p < 0,05$ ;  $z > 1,96$ ).

#### 5.1.4 PCA, generativní znaky

PCA pro generativní znaky ukazuje dva hlavní směry variability. První osa vysvětluje 34,9 % celkové variability a druhá osa vysvětluje 24,6 % celkové variability. Značný vliv na umístění jedinců v prostoru má zřejmě i třetí osa, která vysvětluje 13,6 % variability. Jedinci *S. daphneola* opět tvoří poměrně izolovanou skupinu (obr. 16).



**Obrázek č. 16:** PCA ordinační diagram pro generativní znaky (hrcap – odění semeníku, caplg – délka semeníku, hrbr – odění listenu, stklg – délka stopky semeníku, catlg – délka samičí jehnědy, catno – počet jehněd; MED – medián znaku, MAX – maximální hodnota znaku, MIN – minimální hodnota znaku). První dvě osy vysvětlují 59,5 % variability.

#### 5.1.4 Diskriminační analýza, generativní znaky

Při použití všech měřených generativních znaků kanonická diskriminační analýza prokázala, že lze signifikantně odlišit pouze taxon *S. daphneola*. *S. lapponum* a *S. helvetica* se překrývají (viz tab. 21, obr. 17). Největší váhu při tvorbě diskriminační funkce měly znaky odění semeníku (hrcap\_MED) a odění listenu (hrbr\_MED; viz tab. 22).

Fn	Eigenvalue	F	p	Wilk's Lambda
1	5,734099	37,7	< 0,01	0,143398
2	0,035568	1,0	0,43	0,965653

**Tabulka č. 21:** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin (1 až 3). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – statistická významnost diskriminační funkce.

znak	Variate1	Variate2
hrcap_MED	-0,868631	0,119181
caplg_MED	-0,092611	-1,104007
stklg_MED	-0,264913	0,053522
catlg_MED	-0,013718	0,479893
catno_MED	0,134612	0,180480
hrbr_MED	-0,467332	-0,146272

**Tabulka č. 22:** Hodnoty standardizovaných kanonických koeficientů morfologických znaků pro všechny skupiny.

znak	Korelace1	Korelace2
hrcap_MED	-0,829929	0,217451
caplg_MED	-0,046804	-0,884920
stklg_MED	-0,030542	-0,005672
catlg_MED	-0,061745	-0,155931
catno_MED	-0,033943	0,288626
hrbr_MED	-0,578593	-0,137883

**Tabulka č. 23:** Hodnoty korelací morfologických znaků s příslušnou kanonickou proměnnou (osou) pro všechny skupiny.

Skutečné	Predikované			Celkem
	skupina 1	skupina 2	skupina 3	
<b>1</b>	78	51	0	129
<b>2</b>	2	5	0	7
<b>3</b>	0	0	10	10
<b>Celkem</b>	80	56	10	146

**Tabulka č. 24:** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminační funkce, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 44,5%. 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.

Po odebrání znaků „odění semeníku a listenu“ (hrcap\_MED, hrbr\_MED), tedy znaků, jimiž se má od ostatních taxonů lišit *S. daphneola*, kanonická diskriminační analýza nedokázala od sebe signifikantně jednotlivé taxony odlišit (viz tab. 25, obr. 17).

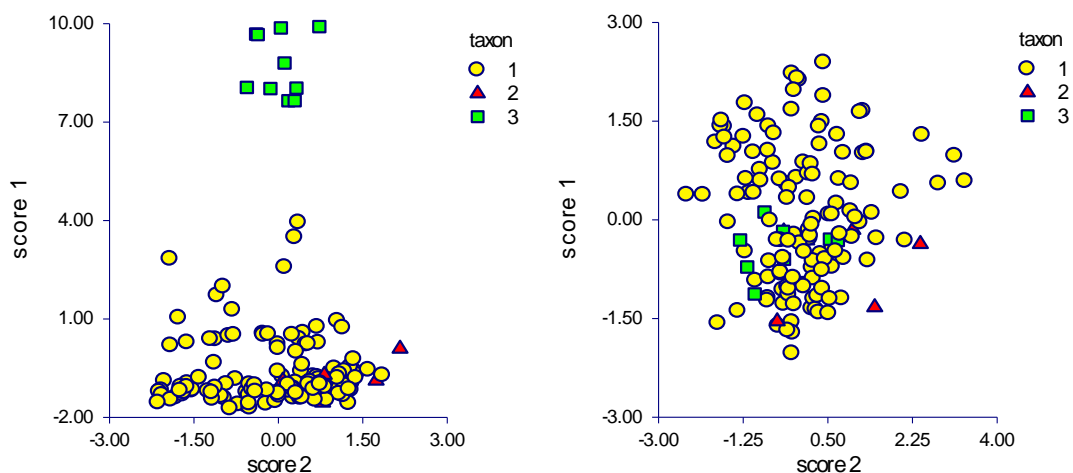
Fn	Eigenvalue	F	p	Wilk's Lambda
<b>1</b>	0,041939	1,2	0,3	0,935121
<b>2</b>	0,026337	1,2	0,3	0,974339

**Tabulka č. 25:** Analýza kanonických proměnných v rámci hodnocení všech skupin (1 až 3). Eigenvalue – vlastní čísla matice; Wilks'Lambda – statistická významnost diskriminační funkce.

Skutečné	Predikované			Celkem
	skupina 1	skupina 2	skupina 3	
<b>1</b>	57	36	36	129
<b>2</b>	1	3	3	7
<b>3</b>	0	2	8	10
<b>Celkem</b>	58	41	47	146

**Tabulka č. 26:** Klasifikační tabulka vyjadřující účinnost diskriminační funkce pro rozlišení skupin. Redukce v klasifikační chybě v důsledku využití diskriminační funkce, pokud by byli jedinci klasifikováni náhodně = 19,9%. 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.





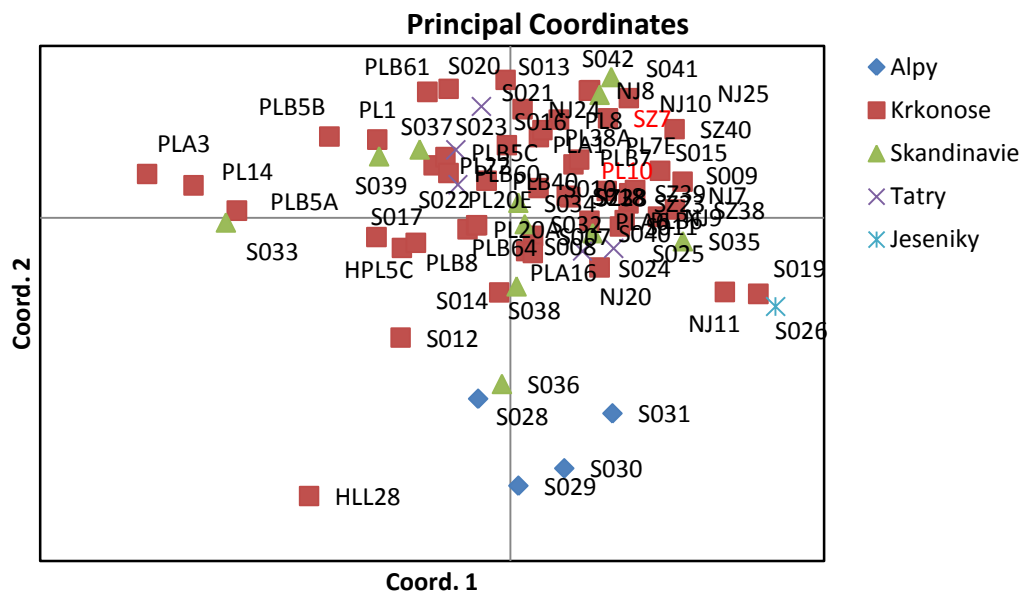
**Obrázek č. 17:** Kanonická diskriminační analýza: s použitím všech generativních znaků (vlevo) a bez použití znaků týkajících se odění semeníku a listenu (vpravo). 1 – *Salix lapponum*, 2 – *Salix helvetica*, 3 – *Salix daphneola*.

## 5.2 Analýza mikrosatelitů (SSR loci)

Pro statické vyhodnocení mikrosatelitů bylo po odstranění klonů použito 74 jedinců. Stejný genotyp ve všech 5 zkoumaných lokusech vykazovaly pouze vzorky S026 a S027 z Hrubého Jeseníku.

### 5.2.1 Analýza hlavních koordinát (PCoA)

V analýze hlavních koordinát (PCoA) vysvětluje první osa 32,25 % variability, druhá osa vysvětluje 19,93 % variability a třetí osa vysvětluje 16,05 % variability. V ordinačním prostoru nebyla zjištěna žádná větší separace jednotlivých taxonů či populací, pouze alpská populace *S. helvetica* tvoří poměrně izolovanou skupinu (obr. 18).



**Obrázek č. 18:** PCoA ordinační diagram s vynesemím všech jedinců. První dvě osy vysvětlují 50,18 % variability. Jedinci SZ7 a PL10 představují taxon *S. daphneola*.

### 5.2.2 Genetická diferenciace populací

Celkový fixační index ( $F_{ST}$ ) vypočtený v programu GenAlEx je 0,88 a signifikantně se liší od nuly ( $p < 0,01$ ). To znamená, že alespoň některé ze sledovaných populací jsou geneticky značně odlišné. Hodnoty párových  $F_{ST}$  se pohybují od 0,002 do 0,65. Z celkového počtu 91 párových porovnání se 38 signifikantně liší ve frekvenci alel ( $p < 0,05$ , počet permutací 1023). Nejvíce izolovanou populací jsou Alpy, značné rozdíly panují i mezi populacemi v Krkonoších (tab. 27).

Lokalita	1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	0,164*								
3	0,216*	0,082							
4	0,208*	0,090*	0,087*						
5	0,204*	0,025	0,112*	0,019					
6	0,142*	0,012	0,135*	0,067*	0,002				
7	0,248*	0,099*	0,032	0,118*	0,115*	0,127*			
8	0,176*	0,140*	0,170*	0,040	0,047	0,068	0,194*		
9	0,158*	0,092*	0,041	0,037*	0,078*	0,075*	0,062*	0,057	
10	0,650*	0,084	0,112*	0,085*	0,076*	0,073*	0,114*	0,062	0,045
11	0,168*	0,011	0,073	0,052	0,018	0,034	0,074	0,079	0,035
12	0,191*	0,067	0,043	0,030	0,029	0,117	0,091	0,092	0,046
13	0,188*	0,074	0,149*	0,123*	0,081*	0,010	0,114*	0,135	0,070
14	0,201	0,124	0,192	0,242	0,233	0,186	0,155	0,317	0,109

**Tabulka č. 27:** Hodnoty párových  $F_{ST}$  pro všechny populace. \* - signifikantní výsledek odlišení populací ( $p < 0,05$ ). 1-Alpy, 2-Horní Pančavská louka, 3-Schustlerova zahrádka, 4-Pančava, 5-břeh Bílého Labe nad a pod Luční boudou, 6-Pramen Labe, 7-Navorská jáma, 8-Fennoskandie-jih, 9-Fennoskandie-sever, 10-Vysoké Tatry, 11-Úpská jáma, 12-Úpské rašeliniště, 13-Vosecká bouda, 14-Jeseníky.

Lokalita	10	11	12	13
11	0,058			
12	0,093	0,031		
13	0,092	0,064	0,133	
14	0,179	0,108	0,180	0,199

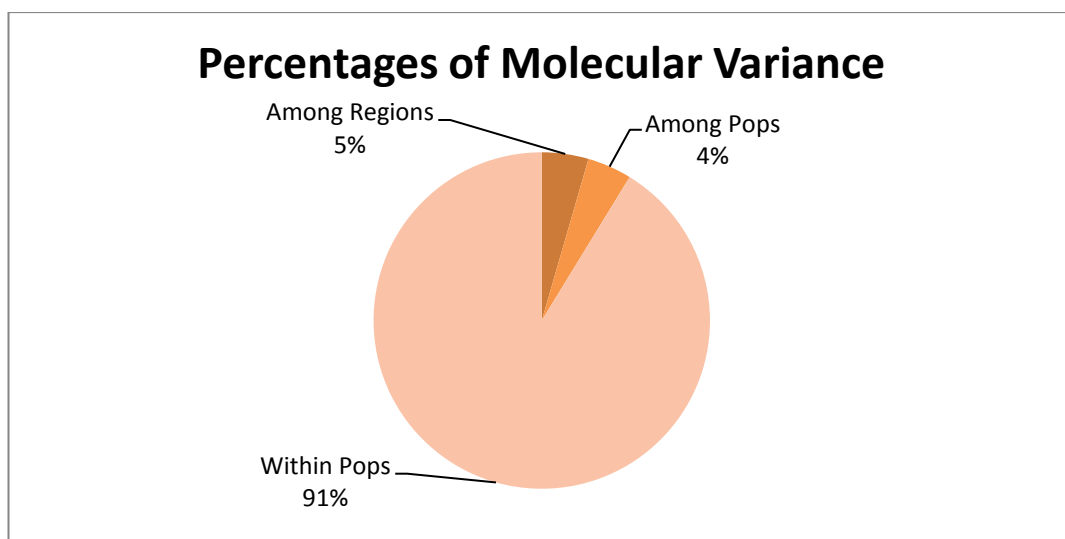
Tabulka č. 27: Pokračování.

### 5.2.3 Analýza molekulární variance (AMOVA)

Výsledky analýzy molekulární variance (AMOVA) ukazují, že na celkové variabilitě souboru má největší podíl vnitropopulační variabilita (91 %). Variance mezi populacemi činí 4 % a variance mezi jednotlivými taxony (*S. lapponum* a *S. helvetica*) činí pouhých 5 %. Rozdíly mezi taxony a mezipopulační variabilita mají tedy jen nepatrný vliv (obr. 19, tab. 28).

Zdroj variability	df	Sum of Squares	Variance komponentů	%
Mezi taxony	1	5.716	0.086	5%
Mezi populacemi	3	12.110	0.082	4%
Uvnitř populací	143	251.761	1.761	91%
Celkem	147	269.588	1.929	100%

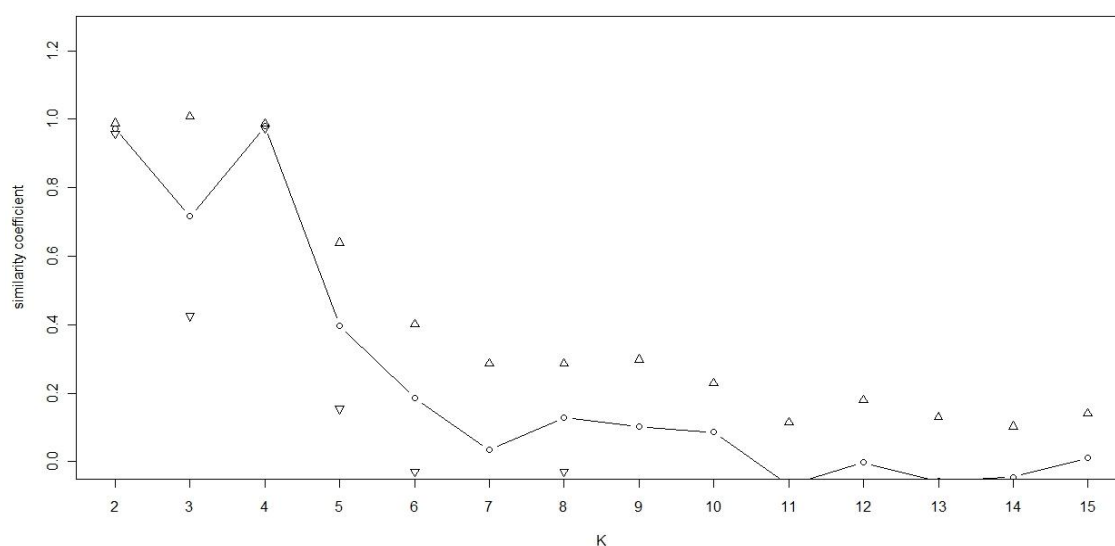
Tabulka č. 28: Souhrnný výstup analýzy molekulární variance. Procento vysvětlené variability odráží míru diferenciacce v rámci jednotlivých skupin.



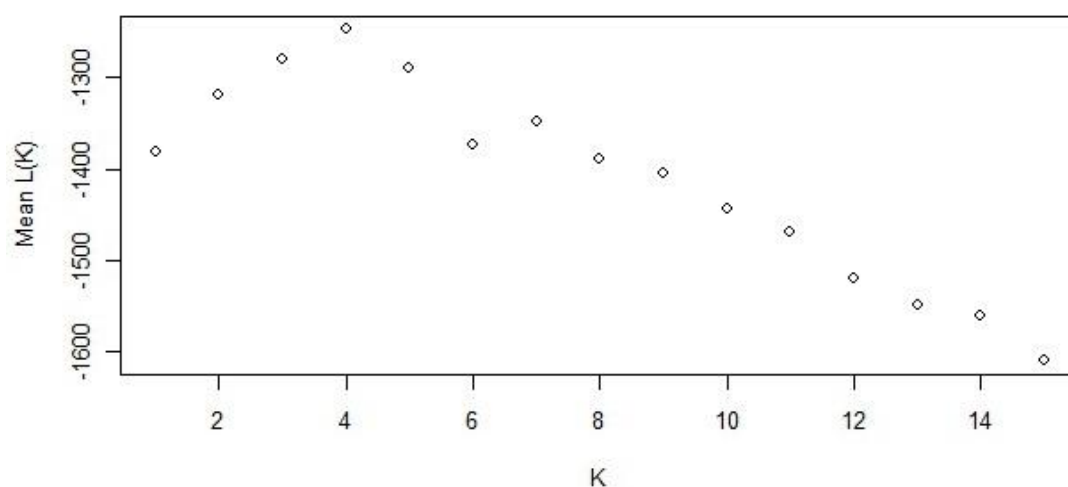
Obrázek č. 19: Výstup u analýzy molekulární variance znázorňující procentuální rozložení jednotlivých komponent variability souboru.

## 5.2.4 Bayesiánská analýza genetické podobnosti populací (STRUCTURE)

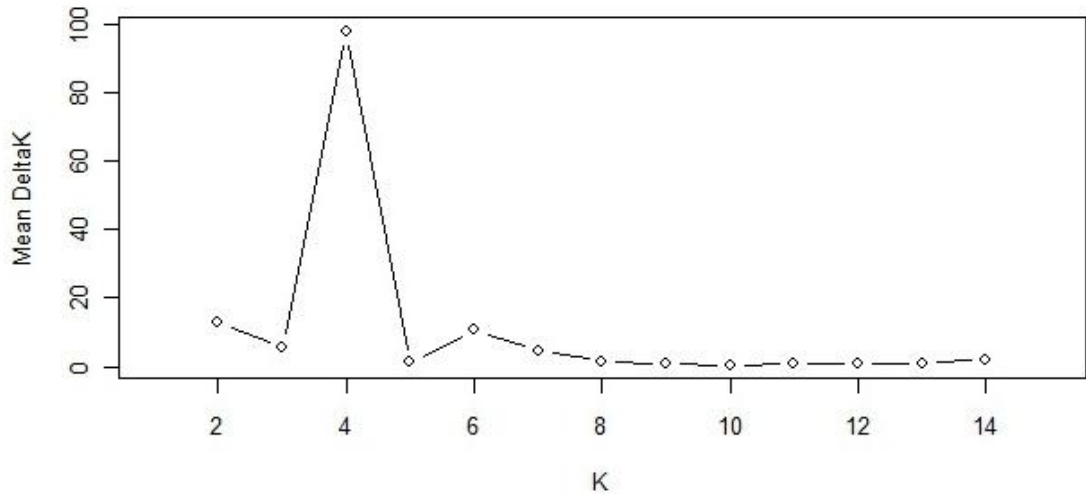
Jako nejlepší a nejvíce homogenní byl zvolen model pro  $K=4$  (viz obr. 20– 23). Program poměrně jednoznačně zařadil populace z Alp a z Tater (tedy *S. helvetica*) do jedné skupiny. Do této skupiny však mohou být přiřazeni také někteří jedinci ze Skandinávie (tedy *S. lapponum*). Krkonošské i Skandinávské populace jsou značně variabilní a skládají se z většího počtu klastrů. Taxon *S. daphneola* se podle analýzy nijak výrazně neodlišuje od ostatních rostlin v dané populaci. *S. lapponum* z Jeseníků by podle analýzy mohla mít vazby jak s některými z Krkonošských populací, tak i s rostlinami ze Skandinávie (obr. 23).



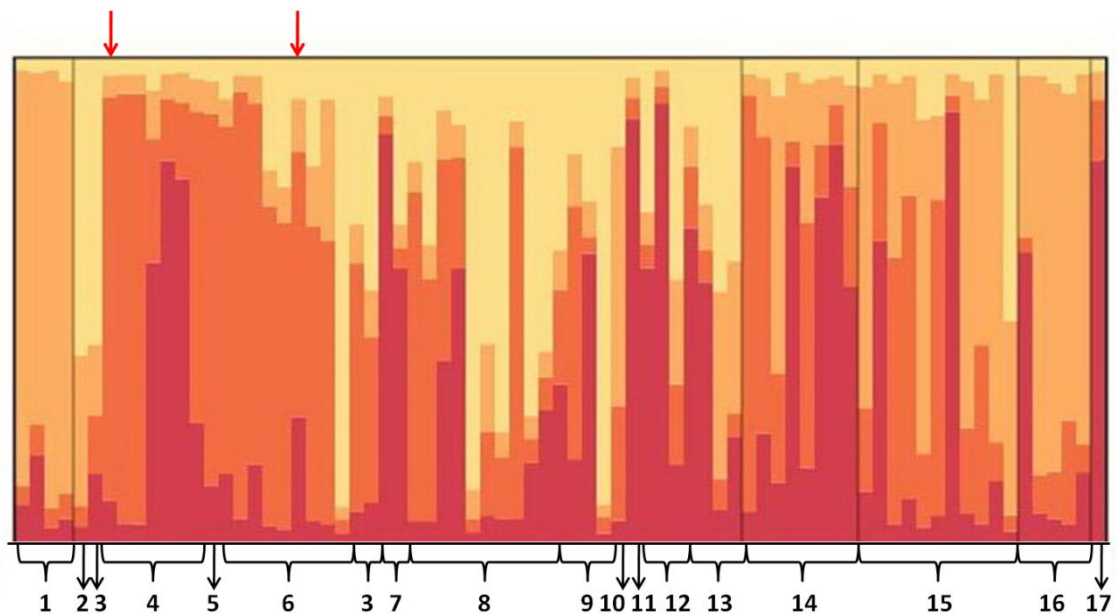
**Obrázek č. 20:** Grafický výstup z programu Structure-sum ukazující koeficienty podobnosti jednotlivých běhů pro jednotlivá  $K$ . Jako nejhomogennější byl vybrán model pro  $K=4$ .



**Obrázek č. 21:** Grafický výstup z programu Structure-sum ukazující hodnoty funkce  $L$ .



**Obrázek č. 22:** Grafický výstup z programu Structure-sum ukazující hodnoty  $\Delta K$ .



**Obrázek č. 23:** Bayesiánská analýza genetické podobnosti populací z programu STRUCTURE pro  $K=4$ . Příslušnost jedince k danému klastru je vyjádřena proporčním zastoupením určité barvy. Populace: 1-Alpy, 2-Labská louka, 3- Horní Pančavská louka, 4-Schustlerova zahrádka, 5-břeh Bílého Labe nad Luční boudou, 6-Pančavská louka, 7-Pančavská louka, u mostu, 8-břeh Bílého Labe pod Luční boudou, 9-Pramen Labe, 10-Úpská jáma, Sněhový žlab, 11-Úpské rašeliniště, 12-závěr Úpské jámy, 13-Vosecká bouda, 14-Navorská jáma, 15-Fennoskandie, 16-Vysoké Tatry, 17-Jeseníky. Červené šipky označují jedince určené jako *S. daphneola*.

## 6. Diskuze

### 6.1 Variabilita jednotlivých populací

Morfologicky a geneticky bylo v této práci podrobněji studováno celkem 5 makropopulací z okruhu *S. lapponum* v různých geografických oblastech: Krkonoše (*S. lapponum* a *S. daphneola*), Jeseníky (*S. lapponum*), Skandinávie (*S. lapponum*), Tatry (*S. helvetica*) a Alpy (*S. helvetica*). Z důvodu rozdílné dostupnosti materiálu z jednotlivých geografických oblastí je soubor rostlin ve studovaných populacích poměrně nevyrovnaný. V některých populacích byl k dispozici výrazně větší počet rostlin (Krkonoše, Jeseníky, Skandinávie) než v jiných (Alpy, Tatry). Je proto možné, že nevyrovnané počty rostlin mezi jednotlivými populacemi mohly v některých případech ovlivnit výsledky provedených analýz.

Jednotlivé makropopulace vykazovaly výrazně odlišnou míru variability. Na celkové genetické variabilitě studovaného souboru se nejvíce podílela variabilita mezi jedinci, variabilita mezi populacemi a mezi jednotlivými taxony je velmi malá (viz tab. 28).

Morfologicky i geneticky nejvariabilnější je krkonošská populace (i v případě, že se oddělil soubor rostlin odpovídající *S. daphneola*). Krkonošské rostliny *S. lapponum* jsou morfologicky variabilní především ve stupni odění (obr. 9 a 16), šířce (obr. 6) a délce listu (obr. 5). Kromě typicky oděných jedinců byla zjištěna také celá škála olýsalých až téměř lysých jedinců. Tito jedinci měli často také delší či širší listy než mají populace *S. lapponum* ze Skandinávie či Jeseníků. Genetická variabilita této populace je také značná a má téměř stejný rozsah jako variabilita celého studovaného souboru (obr. 18). Hodnoty párového  $F_{ST}$  mezi jednotlivými krkonošskými mikropopulacemi se pohybují od 0,002 po 0,149, což ukazuje na rozdílnou míru izolovanosti a různou míru genového toku mezi jednotlivými populacemi. Zajímavé je, že některé geograficky relativně blízké populace vykazují poměrně vysokou hodnotu  $F_{ST}$ , která poukazuje na jejich značnou genetickou izolaci (např. populace v Navorské jámě a na Pančavské louce, hodnota  $F_{ST} = 0,118$ , viz tab. 27). Naopak některé geograficky vzdálené populace vykazují pouze velmi malou mezipopulační diferenciaci (např. populace v Úpské jámě a na Horní Pančavské louce,  $F_{ST} = 0,011$ , populace u Luční boudy a u pramene Labe,  $F_{ST} = 0,002$ ). Možným vysvětlením by mohl být

dálkový přenos semen nebo pylu z jedné strany pohoří na druhou. Vzhledem k tomu, že vrby mají lehká, anemochorní semena a potenciál k rozšiřování pylu větrem (Skvortsov 1999), není tato možnost vyloučena. Další možností je, že současné populace představují pouze izolované ostrůvky původního rozšíření *S. lapponum* v Krkonoších a nízké hodnoty  $F_{ST}$  jsou tudíž reliktem dřívějšího rozsáhlého genového toku.

O populaci *S. lapponum* z Hrubého Jeseníku u Tabulových skal se předpokládá, že je tvořena pouze jediným velkým polykormonem (Chmelař 1972). Tuto hypotézu potvrzuje poměrně značná uniformita sledovaných generativních znaků (obr. 13–15). Hustým oděním obou stran listu i velikostí listů je jesenická populace podobná spíše rostlinám ze Skandinávie než rostlinám z Krkonoš. Dva vzorky použité na genetickou analýzu byly ve všech 5 sledovaných mikrosatelitárních sekvencích shodné, což také podporuje hypotézu o klonálním původu populace. Hodnoty párového  $F_{ST}$  ukazují na poměrně značnou genetickou izolaci této populace (tab. 27).

Skandinávský materiál použitý v práci pochází z geograficky rozsáhlé oblasti a jeho genetická variabilita je tedy přirozeně vyšší. Morfologicky je naopak málo variabilní, hodnoty zjištěných morfologických znaků korespondují s hodnotami těchto znaků v díle Flora Nordica (Elven & Karlsson 2000).

Slovenské populace *S. helvetica* se na základě studovaných vegetativních znaků poměrně dobře odlišily od *S. lapponum* s. str. (obr. 10 a 12). Na základě studovaných generativních znaků tuto populaci od *S. lapponum* odlišit nelze. Geneticky je studovaná populace z Vysokých Tater od ostatních populací poměrně dobře izolovaná. Nejnižší hodnotu párového  $F_{ST}$  (0,045) má tato populace v porovnání s populací ze severní Skandinávie (tab. 27). Zajímavé je, že PCoA analýza nedokázala *S. helvetica* z Tater odlišit od *S. lapponum*. Naopak program STRUCTURE tuto populaci téměř jednoznačně přiřadil do stejné skupiny jako *S. helvetica* z Alp. Tento rozpor ve výstupech z jednotlivých analýz může naznačovat, že populace *S. helvetica* z Tater nemusí být blízkce příbuzná se *S. helvetica* z Alp (viz dále) a může mít jinou evoluční historii. Jako možné vysvětlení se nabízí polytopický vznik *Salix helvetica* z izolovaných populací *Salix lapponum* v Alpách a Tatrách na konci poslední doby ledové.

Populace *S. helvetica* ze švýcarských Alp je geneticky nejlépe izolovanou populací ze studovaného souboru (obr. 18 a 23). Jak ukazují hodnoty párového  $F_{ST}$  je tato populace velmi dobře izolovaná od všech ostatních populací (tab. 27). Velmi

překvapivá je vysoká hodnota párového  $F_{ST}$  pro porovnání se *S. helvetica* z Vysokých Tater. Pro morfologické studium této populace byla k dispozici pouze jediná položka, proto nebylo možné provést řádné porovnání morfologických znaků s ostatními populacemi. PCA analýza vegetativních znaků zařadila tuto položku mezi rostliny *S. helvetica* ze Slovenska.

## **6.2 Možné příčiny zvýšené variability krkonošské populace *S. lapponum***

Krkonošské populace jsou na rozdíl od ostatních zkoumaných populací značně morfologicky i geneticky variabilní. Vyšší morfologická variabilita je u studovaného druhu známa např. také ve východním Polsku. Vrba laponská je zde značně variabilní zejména v charakteru vzrůstu, velikosti a tvaru listů (Fijałkowski 1957). Naproti tomu krkonošská populace je proměnlivá především v míře odění rostlin a v menším rozsahu také ve velikosti a tvaru listů.

Příčinou zvýšené variability vrby laponské v Krkonoších by mohla být např. plasticita způsobená podmínkami prostředí. Rostlinná morfologie a zejména míra odění, tvar a velikost listů se může mírně měnit v závislosti na dostupné vlhkosti či dostatku světla (cf. Traiser & al. 2005, Xu & al. 2009). Vzhledem k tomu, že zkoumané rostliny ostatních makropopulací byly sbírány se snahou o pokrytí co nejširšího rozpětí podmínek prostředí, se ale tato hypotéza nejeví jako pravděpodobná. Také hodnoty ekologických faktorů (vlhkost, pH), které působí na vrbu laponskou v Krkonoších, se výrazně neliší od hodnot v jiných částech areálu *S. lapponum* (S. Hrachová pers. com.).

Jiným a zřejmě nejpravděpodobnějším vysvětlením zvýšené variability může být dávná nebo i v současné době probíhající hybridizace a následná rozsáhlá introgrese. Pravděpodobným partnerem při hybridizaci by mohla být vrba slezská (*Salix silesiaca*), která se v Krkonoších s vrbou laponskou skutečně i v současnosti poměrně často kříží (M. Hroneš pers. obs., Chmelař & Koblížek 1990). Kříženci vrby slezské a laponské se obvykle vyznačují načervenalou barvou mladých listů, jemně pilovitým okrajem listů či rozpraskanou borkou připomínající lísku (Chmelař & Koblížek 1990). U naprosté většiny analyzovaných rostlin žádný z těchto znaků zjištěn nebyl, přesto není vyloučeno, že se může jednat o introgresanty. Hybridi a introgresanti nemusí být



v morfologických znacích intermediární, případně se znaky jednoho z rodičů nemusí nějak výrazněji morfologicky projevit (Hardig & al. 2000, Triest 2001). Na možnou hybridizaci tak může ukazovat právě jen zvýšená variabilita v míře odění, ale i zjištěná značná genetická variabilita jedinců, kteří byli na základě ostatních morfologických znaků určeni jako *S. lapponum*. K hybridizaci a následné introgresi navíc dochází výrazně častěji v disturbovaném prostředí (Anderson 1949, Thibault 1998). Zejména v karových populacích *S. lapponum* může být disturbance vlivem lavin či plazivého sněhu značná (cf. Jeník 1961).

Vrba laponská roste společně s vrbou slezskou v bohatých populacích v rámci svého areálu pouze v Krkonoších a zřejmě i v bulharských pohořích Rila a Vitoša (Skvortsov 1999). Bylo by proto zajímavé studovat morfologickou variabilitu bulharských populací *S. lapponum*, zda vykazují či nevykazují podobný pattern variability jako populace krkonošské, a zda je tedy hybridizace s vrbou slezskou možnou příčinou zvýšené variability krkonošských populací *S. lapponum*.

Vyloučit nelze ani možnost, že s vrbou laponskou mohl v minulosti hybridizovat i jiný druh vrby, který se již v současné době v Krkonoších nevyskytuje. Část genomu tohoto druhu mohla přetrvat v genomu vrby laponské a způsobovat tak její zvýšenou morfologickou i genetickou variabilitu i v současnosti.

### **6.3 *Salix daphneola*: samostatný taxon, hybrid nebo mutace?**

Taxon *Salix daphneola* je již od Tauschových dob zdrojem taxonomických nejasností a sporů (cf. Tausch 1837, Wimmer 1866, Čelakovský 1879, Dostál 1950, Dostál 1984, Chmelař & Koblížek 1990). I přesto, že je tento taxon od *Salix lapponum* s. str. dobře odlišitelný absencí odění listů i semeníků, činí jeho určování floristům či pracovníkům ochrany přírody poměrně velké obtíže. Například v kultivaci správy KRNAP je pod jménem *S. daphneola* pěstována rostlina, která svými znaky tomuto taxonu neodpovídá (M. Hroneš pers. obs. 2008). Vzhledem k tomu, že je *S. daphneola* v přírodě velmi vzácná (cf. Hroneš & al. 2011), jsou často za tento taxon považováni různě olýsalí jedinci, kteří však ostatními znaky odpovídají *S. lapponum* s. str.

Neparametrická analýza variance (ANOVA) ukázala, že se *S. daphneola* od *S. lapponum* s. str. kromě absence odění, signifikantně liší také kratšími a užšími listy, menším počtem párů žilek a délkou samičích jehněd (obr. 5, 6, 8 a 15). Diskriminační

analýza dokázala odlišit *S. daphneola* od *S. lapponum* s. str. především na základě absence odění. Po odstranění znaků týkajících se odění analýza již nedokázala jednoznačně tyto dva taxony rozlišit (obr. 12 a 17). Molekulární data žádnou diferenciaci od *S. lapponum* s. str. nenaznačují (viz obr. 18 a 23). Z výsledků těchto analýz tedy vyplývá, že taxon *S. daphneola* je morfologicky poměrně dobře vyhraněným souborem rostlin, které, pokud neuvažujeme odění, však spadají do variability *S. lapponum* v Krkonoších.

Paralelou k *S. daphneola* může být severoamerický zástupce sekce *Villosae*: *Salix alaxensis* var. *longistylis* (Rydberg) C. K. Schneider. Tento taxon, který byl původně popsán také jako samostatný druh, se od nominální variety liší zejména olýsalými až lysými letorosty a listy (Argus 2007, 2010). Podobným případem je i další severoamerický taxon z této sekce *S. candida* f. *denudata* (Andersson) Rouleau, který se od typu odlišuje olýsalými listy (Argus 2010). Poměrně značná variabilita v míře odění líce listu se projevuje také u *S. helvetica* z Alp. Kromě typicky oděných jedinců se v Alpách vyskytují i jedinci s listy na líci zcela lysými (Rechinger 1957).

V případě *S. candida* f. *denudata* se předpokládá, že tento olýsalý morfotyp mohl pravděpodobně vzniknout hybridizací (Argus 2010). Stejně tak i *S. daphneola* mohla vzniknout hybridizací vrby laponské s nějakým lysým taxonem. Mezi v současnosti se v Krkonoších vyskytujícími druhy se jako možný rodič nabízí vrba slezská (viz výše) či vrba dvoubarvá (*Salix bicolor*). Možným rodičem by také mohl být jiný taxon, který v Krkonoších vyhynul dříve, než zde započal floristický průzkum. V úvahu zde přichází zejména dřívější rozsáhlá introgrese cizího genomu do genomového poolu vrby laponské. Část cizího genomu v genomu vrby laponské nyní „nutí“ *S. lapponum* vyštěpovat olýsalé až lysé morfotypy. V případě dávné hybridizace s vrbou dvoubarvou či jiným vymřelým taxonem by byla existence *S. daphneola* zajímavým dokladem o historickém složení flóry západních Krkonoš. Podobně tomu je např. u druhu *Sorbus sudetica*. Oba rodiče tohoto hybridogenního taxonu (*Sorbus aria* a *S. chamaemespilus*) již v Krkonoších vymřeli. *Sorbus sudetica* je tak dokladem o výskytu těchto dvou druhů v Krkonoších či jejich okolí (Kociánová & al. 2005).

Jinou alternativou vysvětlení původu *S. daphneola* je mutace genu kódujícího odění. Pokud by bylo odění u vrb kódováno jedním či několika málo geny, podobně jako je tomu u *Arabidopsis thaliana* (Herman & Marks 1989, Ishida & al. 2008), stačila by jedna mutace tohoto genu či jeho transkripčních faktorů v raném vývoji rostliny k tomu, aby vznikali lysí jedinci. V případě této možnosti vzniku *S. daphneola* však

vyvstává otázka, proč se lysé morfotypy neobjevují také jinde v areálu *S. lapponum*. Jedním z možných vysvětlení je, že se mohlo jednat pouze o drobnou mutaci, která vznikla pravděpodobně přímo v Krkonoších. Tato mutace by se navíc mohla projevovat pouze v recesivně homozygotní kombinaci, což by vysvětlovalo její velkou vzácnost.

Z taxonomického hlediska, s přihlédnutím k výše uvedeným výsledkům morfometrických a genetických analýz a také k morfologické variabilitě analogických severoamerických taxonů, by bylo pravděpodobně nejlepší ponechat *S. daphneola* v ranku variety či případně formy. Otázka vzniku či původu tohoto taxonu prozatím nadále zůstává nezodpovězená a bude vyžadovat další studium.

## 6.4 Vztah *Salix helvetica* k *S. lapponum*

*Salix helvetica* je velmi blízce příbuzná vrbě laponské a zejména v počátcích salikologického výzkumu od ní nebyla dlouho odlišována (cf. Wimmer 1866, Andersson 1868). Morfologické i genetické rozdíly mezi *S. helvetica* a *S. lapponum* skutečně nejsou příliš velké, přesto většina provedených analýz dokázala tyto taxony odlišit (viz obr. 10, 12, 23). *S. helvetica* se od *S. lapponum* liší především širšími listy a větším počtem párů žilek. Velmi zajímavé jsou výsledky genetických analýz, které ukazují na poměrně velkou odlišnost rostlin z Alp a Tater: například analýza hlavních koordinát separuje alpskou *S. helvetica* do samostatné skupiny, zatímco tatranskou *S. helvetica* shlukuje se *S. lapponum*. Hodnota párového  $F_{ST}$  byla 0,65, což je nejvyšší zjištěná hodnota fixačního indexu v celém souboru. Tato hodnota ukazuje, že alpské a tatranské populace jsou od sebe značně geneticky vzdálené.

Značná genetická odlišnost obou populací může být pravděpodobně způsobena polytopickým vznikem *S. helvetica*. Paralelou k takovému případu může být např. alpský taxon *Gentianella styriaca*, u kterého bylo dokázáno, že vznikl polytopicky v několika různých částech Alp (Greimler & Jang 2007). Vrba švýcarská by v tomto případě byla derivátem *S. lapponum*, který vznikl opakovaně v glaciálních refugiích, popř. konvergentním vývojem v horách izolovaných populací *S. lapponum*. Hypotéza mnohonásobného vzniku následně vyvolává otázku taxonomického hodnocení obou populací jako samostatných taxonů. Jako samostatný poddruh vyčlenil tatranskou populaci švédský botanik Floderus (pod neplatným jménem *S. helvetica* subsp. *marrubiiifolia*; Floderus 1943). Stejně tak Skvortsov (1999) ve své monografii

uvádí, že se tatranská *S. helvetica* od alpské morfologicky poměrně liší a bylo by možné ji hodnotit jako samostatný taxon nižšího ranku.

Vzhledem k poměrně malému počtu vzorků *S. helvetica* a malého počtu analyzovaných mikrosatelitů, však není možné v rámci této práce vyvozovat rozsáhlejší závěry o původu, vztahu a taxonomii obou populací ani o vztahu *S. helvetica* k *S. lapponum* s. str.

## 7. Závěr

Tato diplomová práce se zabývala morfologickou a genetickou variabilitou zástupců *Salix* sect. *Villosae* (jmenovitě *Salix lapponum*, *S. helvetica* a *S. daphneola*) ve střední Evropě.

V rámci studovaného souboru byla nalezena značná morfologická variabilita. Tuto variabilitu způsobují zejména rostliny z Krkonoš, které jsou značně variabilní v charakteru odění (od listů a semeníků hustě oděných po olysálé až téměř lysé) a ve velikosti listů. Některé z krkonošských rostlin jsou značně morfologicky odlišné od *S. lapponum* z Jeseníků či Skandinávie. *S. lapponum* z Hrubého Jeseníku je naopak morfologicky poměrně uniformní a příliš se neliší od populací ze Skandinávie. Morfologická variabilita *S. helvetica* z Tater se projevuje zejména charakteru odění líce listu.

Největší část genetické variability v rámci studovaného souboru je tvořena vnitropopulační variabilitou. Mezipopulační variabilita je velmi malá. Geneticky nejvariabilnější populací jsou Krkonoše. Další geneticky značně variabilní populací je Skandinávie. Oba použité vzorky z Hrubého Jeseníku vykazovaly stejný genotyp a ukazují na to, že populace *S. lapponum* je zde pravděpodobně tvořena jediným klonem.

Testované morfologické vegetativní znaky dokázaly *S. helvetica* od *S. lapponum* poměrně dobře odlišit. *S. helvetica* oproti *S. lapponum* širší listy s větším počtem párů žilek. V rámci testovaných 5 mikrosatelitárních lokusů se od *S. lapponum* poměrně dobře oddělila *S. helvetica* z Alp. Populace *S. helvetica* z Tater se již odděluje méně a ukazuje tak na možný polytopický vznik tohoto taxonu.

Taxon *Salix daphneola* se svými oboustranně lysými, kratšími a užšími listy morfologicky poměrně dobře odlišuje od *S. lapponum* s. str. S ohledem na značnou

proměnlivost *S. lapponum* v Krkonoších však spíše spadá do její variability. Geneticky se *S. daphneola* od *S. lapponum* v rámci 5 studovaných mikrosatelitů neliší. S ohledem na výjimečnost této odchylky (lysých rostlin) v rámci areálu *S. lapponum* a k hodnocení podobných taxonů v Severní Americe, je z taxonomického hlediska pravděpodobně nejlepší hodnotit *S. daphneola* v ranku variety.

Pro budoucí studium vztahů mezi jednotlivými zástupci *Salix* sect. *Villosae* v Evropě bude potřeba výrazně rozšířit zkoumaný populační vzorek a analyzovat větší množství mikrosatelitů. V úvahu připadá také využití jiné molekulární metody, která by dokázala lépe objasnit vztahy mezi jednotlivými taxony.

## 8. Literatura

ALLIENDE M. C. & HARPER J. L. (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.

ALSTRÖM-RAPAPORT C., LASCoux M. & GULLBERG U. (1997): Sex determination and sex ratio in the dioecious shrub *Salix viminalis* L. – *Theoretical and Applied Genetics* 94: 493–497.

ALSTRÖM-RAPAPORT C., LASCoux M., WANG Y. C., ROBERTS G. & TUSKAN G. A. (1998): Identification of a RAPD marker linked to sex determination in the basket willow (*Salix viminalis* L.). – *Journal of Heredity* 89: 44–49.

ANDERSON E. (1949): *Introgressive hybridization*. – Wiley and Sons, Inc., New York, 109 p.

ANDERSSON N. J. (1868): Genus *Salix* L. – In: De Candolle A. P. [ed.], *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, 16(2), Genève. p. 190–323.

APG III (2009): An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. – *Botanical Journal of Linnean Society* 161: 105–121.

ARGUS G. W. (1986): The genus *Salix* (Salicaceae) in the southeastern United States. – *Systematic Botany Monographs* 9: 1–170.

ARGUS G. W. (1997): Infrageneric classification of *Salix* (Salicaceae) in the New World. – *Systematic Botany Monographs* 52: 1–121.

ARGUS G. W. (2007): *Salix* (Salicaceae) distribution maps and synopsis of their classification in North America, North of Mexico. – *Harvard Papers in Botany* 12(2): 335–368.

ARGUS G. W. (2010): Genus *Salix* L. – In: *Flora of North America Editorial Committee, Flora of Northern America North of Mexico 7: Salicaceae – Brassicaceae*, New York. p. 23–51.

AZUMA T., KAJITA T., YOKOYAMA J. & OHASHI H. (2000): Phylogenetic relationships of *Salix* (Salicaceae) based on *rbcL* sequences data. – *American Journal of Botany* 87(1): 67–75.

BARKER J. H. A., PAHLICH A., TRYBUSH S., EDWARDS K. J. & KARP A. (2003): Microsatellite markers for diverse *Salix* species. – *Molecular Ecology Notes* 3: 4–6.

BLANCO, P. (1993): Genus *Salix* L. – In: Castroviejo S., Aedo C., Cirujano S., Laínz M., Montserrat P., Morales R., Muñoz Garmendia F., Navarro C., Paiva J. & Soriano C. [eds], *Flora Iberica. Vol. III: Plumbaginaceae (partim)-Capparaceae*, CSIC. Real Jardín Botánico de Madrid, Madrid. p. 508–510.

BRANDOVÁ B. (2010): Hybridizace horských druhů vrb na příkladu vrby hrotolisté ve Velké kotlině. – Diplomová práce [depon. in Katedra ekologie a životního prostředí, PřF UP, Olomouc].

BÜCHLER W. (1986): Neue Chromozomenzählungen in der Gattung *Salix*. 2. Teil. – *Botanica Helvetica* 96(2): 135–143.

BUSER R. (1940): Kritische Beiträge zur Kenntnis der schweizerischen Weiden. – *Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft* 50: 567–788.

CRAWFORD R. M. M. & BALFOUR J. (1983): Female predominant sex ratios and physiological differentiation in arctic willows. – *Journal of Ecology* 71: 149–160.

ČELAKOVSKÝ L. (1879): Analytická květena česká. – F. Tempský, Praha, 414 p.

DAWSON T. E. & BLISS L. C. (1989): Patterns of water use and the tissue water relations in the dioecious shrub, *Salix arctica*: the physiological basis for habitat partitioning between the sexes. – *Oecologia* 79: 332–343.

DOBEŠ CH., HAHN B. & MORAWETZ W. (1997): Chromosomenzahlen zur Gefäßpflanzen-Flora Österreichs. – *Linzer biol. Beitr.* 29(1): 5–43.

DOSTÁL J. (1950): Květena ČSR a ilustrovaný klíč k určení všech cévnatých rostlin, na území Československa, planě rostoucích nebo běžně pěstovaných. Svazek II. – Přírodovědecké nakladatelství, Praha, 2269 p.

DOSTÁL J. (1984): Notes to the nomenclature of the taxa of the Czechoslovak flora. – *Folia Mus. Rer. Nat. Bohem. Occid., Bot.* 21: 3–22.

DOUHOVNIKOFF V., MCBRIDE J. R. & DODD R. S. (2005): *Salix exigua* clonal growth and population dynamics in relation to disturbance regime variation. – *Ecology* 86: 446–452.

DUDLEY L. S. (2006): Ecological correlates of secondary sexual dimorphism in *Salix glauca* (Salicaceae). – *American Journal of Botany* 93(12): 1775–1783.

EHRICH D., GAUDEUL M., ASSEFA A., KOCH M., MUMMENHOFF K., NEMOMISSA S., INTRABIODIV CONSORTIUM, BROCHMANN C. (2007): Genetic consequences of Pleistocene range shifts: Contrast between the Arctic, the Alps and the East African mountains. – *Molecular Ecology* 16: 2542–2559.

ELVEN R. & KARLSSON T. (2000): Salicaceae Mirbel. – In: Jonsell B. [ed.], *Flora Nordica* 1. Lycopodiaceae – Polygonaceae. – Bergius Foundation, Stockholm. p. 118–195.

EVANNO G., REGNAUT S. & GOUDET J. (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. – *Molecular Ecology* 14: 2611–2620.

- EXCOFFIER L. & LISCHER H. E. L. (2010): Arlequin suite ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. – *Molecular Ecology Resources* 10: 564–567.
- FANG Z., ZHAO S. & SKVORTSOV A. K. (1999): Genus *Salix* L. – In: Wu Z. Y. & Raven P. H. [eds], *Flora of China* 4 (Cycadaceae – Fagaceae), Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis. p. 162–274.
- FIJALKOWSKI D. (1957): Badania nad rozmieszczeniem i ekologią wierzby lapońskiej (*Salix lapponum* L.) na Pojezierzu Łęczycko-Włodawskim. – *Fragmenta Floristica et Geobotanika* 3(2): 89–103.
- FLODERUS B. (1943): *Salix helvetica* Vill. and its subspecies and hybrids. — *Svensk bot. tidskr.* 37: 73–80.
- GREIMLER J. & JNAG CH.-C. (2007): *Gentianella styriaca*, a case of reticulate evolution in the northeastern and eastern Central Alps. – *Taxon* 56(3): 857–870.
- GUNTER L. E., ROBERTS G. T., LEE K., LARIMER F. W. & TUSKAN G. A. (2003): The development of two flanking SCAR Markers linked to a sex determination locus in *Salix viminalis* L. – *Journal of Heredity* 94(2): 185–189.
- HARDIG T. M., ANTILLA C. K. & BRUNSFELD S. J. (2010): A phylogenetic analysis of *Salix* (Salicaceae) based on matK and ribosomal DNA sequences data. – *Journal of Botany* 2010, Article ID 197696, 12 pages. doi:10.1155/2010/197696
- HARDIG T. M., BRUNSFELD S. J., FRITZ R. S., MORGAN M. & ORIANI C. M. (2000): Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. – *Molecular Ecology* 9: 9–24.
- HERMAN P. L. & MARKS M. D. (1989): Trichome development in *Arabidopsis thaliana*. II. Isolation and complementation of the GLABROUS1 gene. – *The Plant Cell* 1(11): 1051–1055.
- HINTZE J. (2008): NCSS. – NCSS, LLC. Kaysville, Utah.
- HRADÍLEK Z., LIZOŇ P. & TLUSTÁK V. (1992): *Soupis botanických sbírek v Československu*. – Vlastivědné muzeum Olomouc. 73 p.
- HRACHOVÁ S. (2009): *Biologie a ekologie Salix lapponum* L. se zaměřením na problematiku ekologie pohlaví. – *Bakalářská práce* [depon. in Katedra zoologie, PřF UP, Olomouc].
- HRONEŠ M. (2009): *Rozšíření a morfologická variabilita populací vrby laponské (Salix lapponum) v České republice*. – *Bakalářská práce* [depon. in Katedra zoologie, PřF UP, Olomouc].
- HRONEŠ M., HRACHOVÁ S., DANČÁK M. & VAŠUT R. J. (2011): *Vrba laponská (Salix lapponum* L.) v Krkonoších. – *Opera Corcontica* 48: 69–78.



- HUGHES F. M. R., JOHANSSON M., XIONG. S., CARLBORG E., HAWKINS D. & SVEDMARK M. (2010): The influence of hydrological regimes on sex ratios and spatial segregation of the sexes in two dioecious riparian shrub species in northern Sweden. – *Plant Ecology* 208: 77–92.
- HULTÉN E. & FRIES M. (1986): Atlas of North European vascular plants. North of the tropic of cancer. Part I. – Koeltz Scientific Books, Königstein. 498 p.
- CHASE M. W., ZMARZTY S., LLEDÓ M. D., WURDACK K. J., SWENSEN S. M. & FAY M. F. (2002): When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid *rbcL* DNA sequences. – *Kew Bulletin* 57: 141–181.
- CHEN J. H., SUN H., WEN J. & YANG Y. P. (2010): Molecular phylogeny of *Salix* L. (Salicaceae) inferred from three chloroplast datasets and its systematic implications. – *Taxon* 59(1): 29–37.
- CHMELAŘ J. & KOBLÍŽEK J. (1990): 65. Salicaceae Mirbel – vrbovité. – In: Hejný S. & Slavík B. [eds], *Květena České republiky 2*, Academia, Praha. p. 458–495.
- CHMELAŘ J. (1972): Poznámky k československým druhům rodu *Salix* – II. Druhy vrb vyšších poloh. – *Acta Musei Silesiae, series Dendrologica* 11: 1–16.
- CHMELAŘ J. (1979): Taxonomický význam počtu chromozomů rodu *Salix* L. – *Lesnictví* 25(5): 411–415.
- CHYTRÝ M. [ed.] (2007): *Vegetace České republiky 1. Travinná a keříčková vegetace*. – Academia, Praha. 526 p.
- ISHIDA T., KURATA T., OKADA K. & WADA T. (2008): A Genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. – *Annual Review of Plant Biology* 59: 365–86.
- JAKOBSSON M. & ROSENBERG N. A. (2007): CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. – *Bioinformatics* 23: 1801–1806.
- JENÍK J. (1961): *Alpínská vegetace Krkonoš, Králického Sněžníku a Hrubého Jeseníku*. – Nakladatelství ČSAV, Praha. 409 p.
- KELLER L. F. & WALLER D. M. (2002): Inbreeding effects in wild populations. – *Trends in Ecology & Evolution*. 17(5): 230–241.
- 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. p. 218–231.
- KOBLÍŽEK J. (2006): Salicaceae Mirbel. – In: Goliášová K. & Michálková E., *Flóra Slovenska V/3, Veda, Bratislava*. p. 208–303.

- KOCIÁNOVÁ M., ŠTURSOVÁ H. & ZAHRADNÍKOVÁ J. (2005): Klonální růst endemického jeřábu *Sorbus sudetica* v Krkonoších. – Opera Corcontica 42: 99–105.
- KWIATKOWSKI P. (2006): Rośliny naczyniowe kotłów polodowcowych Karkonoszy. – Przyroda Sudetów 9: 25–46.
- LIN J., GIBBS J. P. & SMART L. B. (2009): Population genetic structure of native versus naturalized sympatric shrub willows (*Salix*; Salicaceae). – American Journal of Botany 96(4): 771–785.
- MEUSEL W. & CHMELARĚ J. (1976): Die Weiden Europas. – Die Neue Brehm-Bücherei, Wittenberg Lutherstadt. 143 p.
- MONTERRAT P. (1950): El *Salix lapponum* L. en España. – Collectanea Botanica 2: 439–443.
- MOSSELER A. & ZSUFFA L. (1989): Sex expression and sex ratios in intra- and interspecific hybrid families of *Salix* L. – Silvae Genetica 38(1): 12–17.
- MYKLESTAD Å. & BIRKS H. J. B. (1993): A numerical analysis of the distribution patterns of *Salix* L. species in Europe. – Journal of Biogeography 20: 1–32.
- PEAKALL R. & SMOUSE P. E. (2006): GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. – Molecular Ecology Notes 6: 288–295.
- PEI M. H., RUIZ C., BAYON C. & HUNTER T. (2004): Rust rezistance in *Salix* to *Melampsora larici-epitea*. – Plant Pathology 53: 770–779.
- POGORZELEC M. & NOWOSIELSKI J. (2006): The *Salix lapponum* L. (downy willow) among-population genetic diversity in the Polesie Lubelskie Region. – Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowka Lublin – Polonia, Section C 61(4): 99–106.
- POGORZELEC M. (2003): Charakterystyka populacji i stanowisk *Salix lapponum* L. w Poleskim parku narodowym. – Acta Agrophysica 1(1): 145–151.
- PRITCHARD J. K., STEPHENS M. & DONNELLY P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. – Genetics 155: 945–959.
- PROCHÁZKA F. [ed.] (2001): Černý a Červený seznam cévnatých rostlin České republiky (stav v roce 2000). – Příroda 18: 1–166.
- RECHINGER K. H. (1957): Genus *Salix* L. – In: Hegi G. [ed.], Illustrierte flora von Mitteleuropa 3(1), 2. Auflage, Carl Hanser Verlag, München. p. 44–135.
- 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 Europaea, Volume 1 Lycopodiaceae to Platanaceae, Cambridge University Press, Cambridge – New York – Port Chester – Melbourne – Sydney. p. 43–54.

- RECHINGER K. H. (1992): *Salix* taxonomy in Europe – problems, interpretations, observations. – Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, ser. B 98: 1–12.
- ROSENBERG N. A. (2004): Distruct: a program for the graphical display of population structure. – Molecular Ecology Notes 4: 137–138.
- ROTTENBERG A. (2007): Fertility and sexual structure in a polygamous willow population. – Plant Systematics and Evolution 268: 257–260.
- ROTTENBERG A., ZONARY D. & NEVO E. (1999): Patterns of isozyme diversity and vegetative reproduction of willows in Israel. – International Journal of Plant Sciences 160(3): 561–566.
- SALICK J. & PFEFFER E. (1999): The interplay of hybridization and clonal reproduction in the evolution of willows. Experiments with hybrids of *S. eriocephala* [R] & *S. exigua* [X] and *S. eriocephala* & *S. petiolaris* [P]. – Plant Ecology 141: 163–178.
- SKVORTSOV A. K. (1999): Willows of Russia and adjacent countries. Taxonomic and Geographic Revision. – Joensuu Univ. Press, Joensuu. 307 p.
- SOCHOR M. (2009): Molekulární markery pro studium vysokohorských druhů vrb (*Salix*). – Bakalářská práce [depon. in Katedra zoologie, PřF UP, Olomouc].
- STAMATI K., HOLLINGSWORTH P. M. & RUSSELL J. (2007): Patterns of clonal diversity in three species of sub-arctic willow (*Salix lanata*, *Salix lapponum* and *Salix herbacea*). – Plant Systematics and Evolution 269: 75–88.
- STERCK L., ROMBAUTS S., JANSSON S., STERKY F., ROUZÉ P. & DE PEER Y. V. (2005): EST data suggest that poplar is an ancient polyploid. – New Phytologist 167: 165–170.
- SUDA Y. & ARGUS G. W. (1968): Chromosome numbers of some North American *Salix*. – Brittonia 20: 191–197.
- ŠEFFER J., ŠEFFEROVÁ E. & DÚBRAVCOVÁ Z. (1989): Numerical syntaxonomy of the tall-forb and tall-grass communities in the Tatra Mountains. – Vegetatio 81: 181–187.
- ŠOUREK J. (1969): Květena Krkonoš. – Academia, Praha. 452 p.
- TAUSCH I. F. (1837): Beobachtungen über einige Salices. – Flora 22: 337–345.
- TENNANT D. J. (2004): A re-assessment of montane willow (*Salix* L., Salicaceae) hybrids in Scotland. – Watsonia 25: 65–82.
- TER BRAAK C.J.F. & ŠMILAUER P. (2002): CANOCO reference manual and user's guide to Canoco for Windows: software for canonical community ordination (Version 4.5). – Microcomputer Power, Ithaca. 500 p.
- THIBAUT J. (1998): Nuclear DNA amount in pure species and hybrid willows (*Salix*): a flow cytometric investigation. – Canadian Journal of Botany 76: 157–165.

- TOKUOKA T. & TOBE H. (2006): Phylogenetic analyses of Malpighiales using plastid and nuclear DNA sequences, with particular reference to the embryology of Euphorbiaceae sens. str. – *Journal of Plant Research* 199: 599–616.
- TRAIER CH., KLOTZ S., UHL D. & MOSSBRUGER V. (2005): Environmental signals from leaves – a physiognomic analysis of European vegetation. – *New Phytologist* 166: 465–484.
- TRIST L. (2001): Hybridization in staminate and pistillate *Salix alba* and *S. fragilis* (Salicaceae): morphology versus RAPD's. – *Plant Systematics and Evolution* 226: 143–153.
- 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.
- WALLNÖFER S., HILPOLD A., ERSCHBAMER B. & WILHALM T. (2007): Checkliste der Lebensräume Südtirols. – *Gredleriana* 7: 9–30.
- WEIH M. & NORDH N. E. (2002): Characterising willows for biomass and phytoremediation: growth, nitrogen and water use of 14 willow clones under different irrigation and fertilisation regimes. – *Biomass and Bioenergy* 23: 397–413.
- WIMMER F. (1866): *Salices Europaeae*. – *Vratislaviae*. 286 p.
- XU F., GUO W., XU W., WEI Y. & WANG R. (2009): Leaf morphology correlates with water and light availability: What consequences for simple and compound leaves?. – *Progress in Natural Science* 19: 1789–1798.

## 9. Přílohy

### Příloha 1: Historické rozšíření *Salix lapponum* v České republice

#### České oreofytikum

**93a. Krkonoše lesní:** Modrý důl (1954 *Šourek*, PR; 1967 *Faltys*, MP). – Obří důl, louka Na Dolech, pravděpodobně † (1953 *Horák et Šourek*, MP; 1954 *Šourek*, PR; 1954 *Soják*, PR). – **93b. Krkonoše subalpínské:** Navorská louka, při cestě z Labské louky k Vosecké boudě (2010 *Hroneš*, OL). – Prameniště Velké Mumlavy (2010 *Hroneš*, OL). – Kotelní jámy (1959 *Čábera*, CB). – Malá Kotelní jáma (1907 *Čelakovský*, PR). – Labská louka (s. d. *Tausch*, PRC; 1883 *Velenovský*, PR; 1890 *Kabát*, BRNU, PR; 1913 *Schustler*, PR; 1927 *Sillinger*, PR; 1933 *Horák*, MP; 1947 *Křístek*, GM). – Prameniště 150 m JZ Labské boudy (1995 *Hanousek*, HR). – Labská bouda (1907 *Domin*, PRC; 1959 *Čábera*, PR). – Pančavská louka (1880 *Freyn*, PRC; 1882 *Baenitz*, PRC; 1895 *Lukeš*, BRNU; 1895 *Tocl*, PR; 1905 *Čelakovský*, PR; 1907 *Domin*, PRC; 1922 *Puchmajerová*, PRC; 1925 *Thenius*, BRNU; 1930 *s. coll.*, PR; 1931 *s. coll.*, PR; 1933 *Horák*, MP; 1934 *Dostál et Novák*, PRC; 1950 *Mikeška*, PR; 1950 *Kurka*, CB; 1952 *Hrabětová*, BRNU; 1968 *Šťastný*, LIT; 1975 *Belicová*, HR). – Pančavská louka, Z okraj (1967 *Businský*, ROZ). – Pančavská louka, u pramenů Pančavy (1927 *Puchmajerová*, PRC; 2010 *Hroneš*, OL). – Pančavská louka, u Pančavského vodopádu (1880 *Freyn*, PRC; 1880 *Hora*, PRC; 1890 *Cypers*, PR; 1907 *s. coll.*, PRC; 1927 *Puchmajerová*, PRC; 1949 *Šourek*, PR). – Navorská jáma (1980 *Šrůtek*, ROZ). – Labský důl (s. d. *Tausch*, PR, PRC; s. d. *Litenský*, PR; 1927 *Puchmajerová*, PRC). – Labský důl, hrana nad karem se Schustlerovou zahrádkou (1975 *Jeslík*, ROZ). – Straň u můstku přes Labský vodopád (1955 *Hoštička*, MP). – Čertova louka, rašeliniště vlevo od cesty (1975 *Belicová*, HR). – Stříbrné návrší (1901 *Cypers*, PR). – Výrovka, při cestě k Luční boudě (1980 *Procházka*, MP; 1989 *Kubát*, LIT). – Důl Bílého Labe (1881 *Purkyně*, PL; 1922 *Schustler et Zlatník*, PR; 1934 *Dostál et Novák*, PR). – Bílá louka (1810 *s. coll.*, PRC; 1887 *Krátký*, ROZ; 1887 *s. coll.*, PR; 1922 *Krajina*, PRC; 1954 *Šourek*, PR; 2010 *Hroneš*, OL). – Úpské rašeliniště (1956 *Skalický*, PR; 2010 *Hroneš*, OL). – Studniční hora (s. d. *Traxler*, HR). – Jižní úbočí Studniční hory, v pásu kosodřeviny (1946 *Horák*, MP, PRC). – Obří důl (s. d. *Tausch*, BRNU). – Úpská jáma, Krakonošova zahrádka (1926 *s. coll.*, PRC). – Úpská jáma, mezi vodopády Úpy a Úpičky (1949 *Hendrych*, PR; 2010 *Hroneš*, OL). – Cestou od Sněžky na sever, pravděpodobně † (1912 *Adámek*, GM). – **93c. Rýchory:** Rýchory, na náhorní planině blíže cestičky při vstupu do bukového pralesa, † (1959 *Šourek*, PR). – **97. Hrubý Jeseník:** Tabulové kameny na Pradědu (1893 *Schierl*, BRNM; 1904 *Oborny*, BRNM; 1929 *Laus*, OSM, PRC; 1930 *Laus*, BRNU, PR; 1936 *Otruba*, PR; 1946 *Pospíšil*, BRNM; 1947 *Šmarda*, BRNM; 1960 *Chmelař*, CB, OL). – Praděd (s. d. *Formánek*, BRNM; 1883 *Freyn*, BRNM; 1893 *Anders*, PR; 1894 *Rothe*, BRNU; 1909 *Laus*, BRNM, GM; 1909 *s. coll.*, BRNU; 1937 *Laus* NJM; 1959 *Hrabětová*, BRNU; 1962 *Vaněček*, CB; 1966 *Procházka et al.*, MP; 1972 *Kubát*, LIT). – Praděd při cestě na Švýcárnu (1980 *Kubát*, LIT).

#### Nelokalizovatelné a příliš široce lokalizované údaje:

Sudety (s. d. *Tausch*, MJ; 1843 *Poech*, PR). – Krkonoše (s. d. *Tausch*, PRC; s. d. *Fiek*, BRNM; s. d. *Kabliková*, PR; 1836 *Wagner*, PR; 1859 *Ettel*, PR; 1896 *Tocl*, PR; 1902 *Smolák*, ROZ; 1933 *s. coll.*, ROZ). – Jeseníky (s. d. *Grabowski*, BRNM).

**Pochybné údaje:**

**93a. Krkonoše lesní:** U Špindlerovy boudy (1928 *Dostál*, PRC). – **97. Hrubý Jeseník:** Petrovy kameny (1946 *Krajina*, PRC; 1960 *Dostál*, PR). – Vysoká Hole (1960 *Dostál et Bednář*, PR). – Jelení hřbet (1965 *Dostál*, PR). – Břidličná hora [„Schieferstein“] (1931 *s. coll.*, PR).

## **Příloha 2: Historické rozšíření *Salix lapponum* var. *daphneola* v České republice**

**93b. Krkonoše subalpínské:** Pančavská louka, u vodopádu Pančavy (1919 *Schustler*, PR; 1925 *Thenius*, BRNU; 1949 *Šourek*, MP, PR). – Pančavská louka (1889 *Fiek*, PRC; 1895 *Hirte*, PRC; 1922 *Puchmajerová*, PRC; 1934 *Dostál et Novák*, PRC; 1950 *Kurka*, CB).

### **Nelokalizovatelné a příliš široce lokalizované údaje:**

Krkonoše [„In den Sümpfen des Riesengebirges“] (s. d. *Tausch*, PR, PRC).

## Příloha 3: Historické rozšíření *Salix helvetica* na Slovensku

### Carpaticum Occidentale

**22. Nízké Tatry:** Liptovská hole (1950 *Šmardová*, BRNU). – vrch Konské (Koblížek 2006). – Ludarův důl (1935 *Suza*, BRNU; 1935 *Šmarda*, BRNU; Chmelař 1972; Koblížek 2006). – Velký kar, první meandry (1971 *Geobotanická exkurze PŘF UK, ROZ*). – **23a. Západné Tatry:** Roháčovské pleso (1978 *Kubát*, LIT; Koblížek 2006). – Smutná dolina (1933 *Dostál*, PR; 1950 *Součková et Šmarda*, BRNM; Koblížek 2006). – Ostrý Roháč (Koblížek 2006). – Baranec (Koblížek 2006). – Jamnická dolina (Koblížek 2006). – Gáborova dolina, žlab Grúňa (Koblížek 2006). – **23b. Vysoké Tatry:** Velká Kopa (1989 *Horák*, CB). – Tichá dolina, plieska pod Svinicou (1951 *Šourek*, PR; Koblížek 2006). – Kôprová dolina (Koblížek 2006). – Dolina Nefcerka (1916 *Hulják*, PR; 1932 *Suza*, BRNU; 1950 *Hadač*, PR; 1965 *Horák*, OL). – Dolina Nefcerka, Nižné Terianské pleso (1926 *Suza*, BRNU; Koblížek 2006). Temnosmrčanská dolina (1950 *Míček*, PR). – Temnosmrčanská dolina, Nižné Temnosmrčanské pleso (1947 *Pospíšil*, BRNM; Koblížek 2006; Hroneš 2010, not.). – Temnosmrčanská dolina, Vyšné Temnosmrčanské pleso (1947 *Šmarda*, BRNM; Koblížek 2006). – Hlinská dolina (Koblížek 2006). – Mlynická dolina, Nižné Kozie pleso (1931 *s. coll.*, PR; Hroneš 2010, not.). – Mlynická dolina, Pleso nad Skokom (1928 *Margittai*, BRNU; 1933 *Krajina*, PR; 1933 *s. coll.*, PL; 1934 *Šmarda*, BRNU; 1934 *Weber*, PR; 1947 *Hendrych*, PR; 1947 *Pospíšil*, BRNM; 1947 *Šmarda*, BRNM; 1948 *Šourek*, PR; 1950 *Součková et Šmarda*, BRNM; Koblížek 2006; Hroneš 2010, not.). – Hincova dolina, pod Velkým Hincovým plesem (Koblížek 2006; Hroneš 2010, not.). – Česká dolina, České pleso (Koblížek 2006). – Velká Studená dolina (Koblížek 2006). – Dolina Bielych plies, potok spod Žeľuchovej věže (Koblížek 2006).

### Nelokalizovatelné a příliš široce lokalizované údaje:

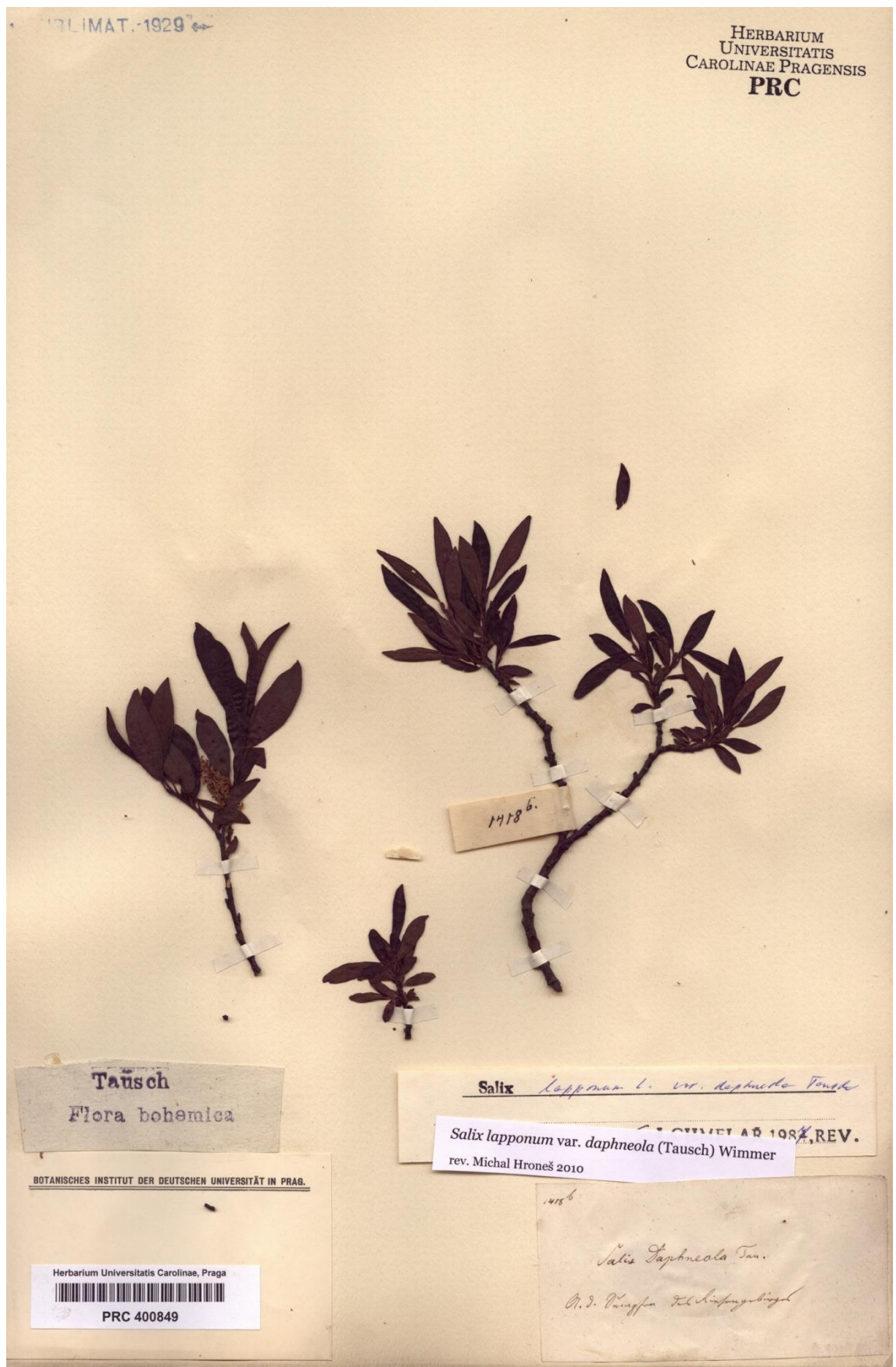
Tatranská Lomnice (1925 *Kurka*, CB).



**Příloha 4: Typová položka jména *S. arenaria* et *marrubifolia* Tausch**



**Příloha 5: Typová položka jména *Salix daphneola* Tausch**



## Příloha 6: Přehled vzorků použitých pro SSRloci

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
S007	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka, svrchní část	N 50°46'7.92", E 15°32'19.27"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S008	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka, svrchní část	N 50°46'7.92", E 15°32'19.27"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S009	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka, nad bývalým mostem	N 50°45'49.17", E 15°32'20.88"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S010	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka, nad bývalým mostem	N 50°45'49.17", E 15°32'20.88"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S011	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská louka, nad cestou k Vosecké boudě	N 50°46'26.86", E 15°31'24.44"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S012	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská louka, nad cestou k Vosecké boudě	N 50°46'26.86", E 15°31'24.44"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S013	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská louka, nad cestou k Vosecké boudě	N 50°46'26.86", E 15°31'24.44"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S014	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská louka, nad cestou k Vosecké boudě	N 50°46'26.86", E 15°31'24.44"	5. 9. 2010	M. Hroneš
S015	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Úpské rašeliniště	N 50°44'11.13", E 15°42'50.76"	12. 9. 2010	M. Hroneš
S016	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Bílé Labe nad Luční boudou	N 50°44'2.11", E 15°41'57.78"	12. 9. 2010	M. Hroneš
S017	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Obří Důl, závěr Úpské jámy	N 50°44'18.44", E 15°43'23.89"	12. 9. 2010	M. Hroneš
S018	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Obří Důl, závěr Úpské jámy	N 50°44'18.44", E 15°43'23.89"	12. 9. 2010	M. Hroneš
S019	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Obří Důl, závěr Úpské jámy	N 50°44'18.44", E 15°43'23.89"	12. 9. 2010	M. Hroneš
S020	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Úpská jáma, Sněhový žlab	N 50°43'55.48", E 15°42'54.54"	22. 7. 2010	M. Hroneš

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
S021	<i>Salix helvetica</i>	SK	Vysoké Tatry, Mlýnická dolina, Pleso nad Skokom	N 49°9'17.61", E 20°2'40.91"	31. 7. 2010	M. Hroneš
S022	<i>Salix helvetica</i>	SK	Vysoké Tatry, Mlýnická dolina, Pleso nad Skokom	N 49°9'17.61", E 20°2'40.91"	31. 7. 2010	M. Hroneš
S023	<i>Salix helvetica</i>	SK	Vysoké Tatry, Mlýnická dolina, břeh potoka nad plesem	N 49°9'21.95", E 20°2'42.72"	31. 7. 2010	M. Hroneš
S024	<i>Salix helvetica</i>	SK	Vysoké Tatry, Mlýnická dolina, Nižné Kozie pleso	N 49°9'43.73", E 20°2'30.65"	31. 7. 2010	M. Hroneš
S025	<i>Salix helvetica</i>	SK	Vysoké Tatry, Hincova dolina, pod Velkým Hincovým plesem	N 49°10'24.14", E 20°3'41.52"	2. 8. 2010	M. Hroneš
S026	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Hrubý Jeseník, Tabulové kameny	N 50°5'8.05", E 17°13'47.652"	2010	R. J. Vašut
S027	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Hrubý Jeseník, Tabulové kameny	N 50°5'8.05", E 17°13'47.652"	2010	R. J. Vašut
S028	<i>Salix helvetica</i>	CH	Alpy, Rhonegletscher	N 46°34'39.28", E 8°23'18.00"	31. 8. 2010	R. J. Vašut
S029	<i>Salix helvetica</i>	CH	Alpy, Rhonegletscher	N 46°34'39.28", E 8°23'18.00"	31. 8. 2010	R. J. Vašut
S030	<i>Salix helvetica</i>	CH	Alpy, Furkapass	N 46°34'32.28", E 8°25'5.55"	31. 8. 2010	R. J. Vašut
S031	<i>Salix helvetica</i>	CH	Alpy, Furkapass	N 46°34'32.28", E 8°25'5.55"	31. 8. 2010	R. J. Vašut
S032	<i>Salix lapponum</i>	N	Ringebu	N 61°42'41.47", E 10°10'11.04"	1. 7. 2008	M. Hroneš
S033	<i>Salix lapponum</i>	N	Dovrefjell	N 62°14'4.98", E 9°32'35.30"	1. 7. 2008	M. Hroneš
S034	<i>Salix lapponum</i>	N	Svartissen	N 66°35'6.54", E 14° 7'35.55"	2. 7. 2008	M. Hroneš

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
S035	<i>Salix lapponum</i>	N	Rågo	N 67°27'29.10", E 15°54'36.48"	22. 7. 2010	M. Hroneš
S036	<i>Salix lapponum</i>	N	Ånderdalen	N 69°12'12.95", E 17°18'39.78"	7. 7. 2008	M. Hroneš
S037	<i>Salix lapponum</i>	FIN	Käsvärsi	N 69° 0'52.90", E 20°52'28.31"	9. 7. 2010	M. Hroneš
S038	<i>Salix lapponum</i>	FIN	Lemenjoki	N 68°45'21.98", E 26°13'28.54"	11. 7. 2010	M. Hroneš
S039	<i>Salix lapponum</i>	N	silnice na Namsskogan, u řeky Nansen	N 65°00'18", E 13°15'16"	16. 8. 2010	T. Pěnkavová
S040	<i>Salix lapponum</i>	N	Bjellånesveien, Rana	N 66°30'16", E 14°55'06"	16. 8. 2010	T. Pěnkavová
S041	<i>Salix lapponum</i>	N	potok u jezera Sandnesvat (u silnice E6)	N 67°52'38", E 15°53'06"	17. 8. 2010	T. Pěnkavová
S042	<i>Salix lapponum</i>	S	Kiruna, Alttajärvivägen	N 67°48'48", E 20°35'07"	20. 8. 2010	T. Pěnkavová
PLB5A	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB5B	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB5C	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB6	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB7	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB8	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88", E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
PLB40	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88" , E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB60	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88" , E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB61	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88" , E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
PLB64	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, pod Luční boudou	N 50°44'5.88" , E 15°41'46.645"	2010	S. Hrachová
SZ7	<i>Salix daphneola</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ23	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ28	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ33	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ38	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ39	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
SZ40	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Schustlerova zahrádka	N 50°45'43.157" , E 15°32'47.633"	2010	S. Hrachová
NJ7	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927" , E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ8	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927" , E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ9	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927" , E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
NJ10	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927", E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ11	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927", E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ20	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927", E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ24	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927", E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
NJ25	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Navorská jáma	N 50°46'2.927", E 15°32'56.848"	2010	S. Hrachová
HLL28	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Labská louka	N 50°46'21.981", E 15°32'25.162"	2010	S. Hrachová
PLA1	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, u pramene Labe	N 50°46'29.649", E 15°32'19.378"	2010	S. Hrachová
PLA3	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, u pramene Labe	N 50°46'29.649", E 15°32'19.378"	2010	S. Hrachová
PLA6	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, u pramene Labe	N 50°46'29.649", E 15°32'19.378"	2010	S. Hrachová
HPL5C	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka, svrchní část	N 50°46'7.92", E 15°32'19.27"	2010	S. Hrachová
PL1	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL10	<i>Salix daphneola</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL14	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL20A	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová

ID	Taxon	Země	Lokalita	GPS	Datum sběru	Sběratel
PL20E	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL22	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL38A	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL7E	<i>Salix lapponum</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová
PL8	<i>Salix daphneola</i>	CZ	Krkonoše, Pančavská louka	N 50°45'40.220", E 15°32'38.615"	26. 6. 2010	M. Hroneš & S. Hrachová