

Dokážeme odlišit topol černý od nepůvodního topolu kanadského a jejich kříženců?

Topol černý (*Populus nigra*) je naše domácí, dosti vzácná a bohužel neprávem opomíjená dřevina. Dnes nabývá značně na významu zejména jeho využití především v silně poškozených ekosystémech lužních lesů a břehových nebo doprovodných porostů. Snadné samovolné křížení s topolem kanadským (*P. ×canadensis*) a jejich potomky však ohrožuje tento i jinak silně ubývající druh genetickou erozí. Rozlišit křížence na základě morfologických znaků je velmi obtížné až nemožné, proto byla vyvinuta metoda odlišení topolu černého s pomocí DNA markerů. Díky ní je možné ověřit druhovou čistotu zdrojů rozmnožovacího a výsadbového materiálu a zároveň lépe identifikovat a podpořit stávající zbytkové populace druhu.



Poznáme topol černý?

Když se řekne topol černý, řada lidí si představí pouze stromy často rostoucí podél cest a fotbalových hřišť se sloupovitou korunou. V tomto případě jde o jeden klon topolu černého, a to o topol vlašský (kultivar 'Italica'), který vznikl pravděpodobně jako mutace t. černého v severoitalské Lombardii a začal se v západní a střední Evropě v rozsáhlém měřítku pěstovat v polovině 18. století. Ve skutečnosti má většina dospělých topolů černých naopak značně rozkladitou korunu se silnými větvemi. Topol černý dorůstá výšky až 40 m, výčetní tloušťky (ve výšce 1,3 m nad zemí) i přes 2 m a objemu stromu více než 40 m³. Jeho přípustné technické stáří (věk dřeviny, kdy přestává být plně vitální a začínají se objevovat poškození a nemoci) v břehových porostech se uvádí 40–50 let, ale dožívá se 200–300 let, výjimečně až 400 let. Jde o eurasijský druh patřící mezi klíčové dřeviny lužních lesů a břehových porostů, kde jeho mohutný, hustý a hluboký kořenový systém zpevňuje břehy (obr. na 2. str. obálky). Dospělé stromy navíc výrazně formují krajinný ráz rovinaté lužní krajiny. Jeho habitus pomáhá vytvářet přirozené scenerie. Soliterní jedinci s vysokým a silným kmenem a mohutnou korunou představují významné a malebné krajinnotvorné prvky (obr. 14). Do krajiny lze tak nejrychleji vrátit vysokou zeleň. Je také velice vhodný pro zakládání větrolamů. Využívá se i v městské zeleni, kde svou dominancí rozměrově značně přesahující ostatní dřeviny tvoří výrazné prvky v parcích a v zelených pásích kolem měst (obr. 1 a 2).

Při procházce podél vodních toků můžeme často narazit na skupiny mohutných topolů podobných našemu topolu černému (obr. 3). Podíváme-li se na ně blíže, zjistíme však, že obvykle nejde o topoly černé, ale jim příbuzné a dosti podobné topoly kanadské. Topol kanadský je mezidruhový kříženec mezi t. bavlíkovým (*P. deltoides*), pocházejícím ze Severní Ameriky, a t. černým. Vybrané klony topolu kanadského byly do ČR dovezeny ze západní a jižní Evropy a hromadně vysazovány hlavně v 50. letech a na počátku 60. let 20. století pro rychlý růst a někdy i pro estetickou hodnotu. Bohužel, v minulosti nikdo nepočítal s jejich kratší životností, horšími technickými vlastnostmi ani s riziky, která představují pro domácí populaci topolu černého.

Výskyt a příčiny ohrožení

Topol černý, dříve častá dřevina v úvalech našich řek, je dnes podle dostupné literatury k nalezení zřejmě jen ojediněle nebo v malých skupinách v Poohří, středním Polabí, Hornomoravském a Dolnomoravském úvalu. V Červeném seznamu cévnatých rostlin ČR je zařazen mezi kriticky ohrožené a ustupující druhy (Grulich 2017), i když není podle zákona chráněn (zákon č. 114/1992 Sb. a vyhláška MŽP ČR č. 395/1992 Sb.). Situace v ostatních evropských státech je obdobná.

Mezi hlavními příčinami ohrožení druhu se uvádí stále větší fragmentace a ztráta jeho přirozených stanovišť způsobená rozsáhlým odvodněním krajiny, regulací vodních toků a ústupem lužních lesů zemědělskému hospodaření a urbanizaci



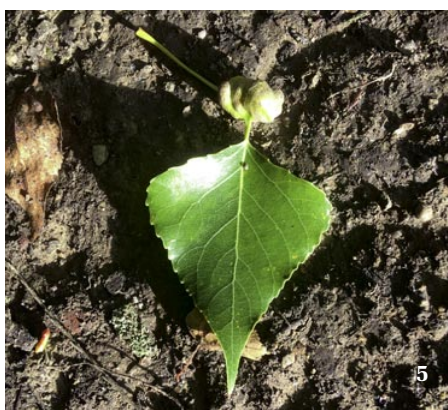
1 Památný strom topolu černého (*Populus nigra*), Dobřejovice u Prahy
2 Řezem upravované topoly černé mohou být efektní solitérou využitelnou i ve veřejné zeleni. Praha, ostrov Štvanice
3 Rozpadlý porost topolu kanadského (*P. ×canadensis*) u Dolanského potoka. Hostouň na Kladensku

4 až 7 Nejvhodnější znaky pro rozlišení topolu černého a t. kanadského jsou charakter kmene a listu. Zatímco topol černý má na bázi kmene u starších stromů boule a často tvoří kmenové výstřelky (obr. 4), borku má načernalou s mnohdy propletenými brázdami a list je menší kosníkovitý s menšími zuby (5), topol kanadský mívá křivý kmen bez boulí a výstřelků, často v horní třetině rozdvojený (6), borku skořicovou až nahnědlou, listy velké srdčité až trojboké (7). Na topolu černém nikdy neparazituje jmelí bílé (*Viscum album*) a na bázi listové čepele poblíž řapíku se nevyskytují žláзки (pro srovnání viz obr. 13). Detailněji v Metodice identifikace topolu černého pomocí DNA markerů (Podrábská a kol. 2024)

8 Dozrávající tobolečky topolu černého

(obr. 15). Zmenšující se populace čelí inbrední depresi – zhoršení kondice jedince následkem příbuzenského křížení (Benetka a kol. 2008, Novotná 2013). Kvůli upřednostňování výsadby nepůvodních mezidruhových hybridních topolů také dochází ke genetické erozi našeho domácího druhu. Topol černý se totiž snadno kříží s introdukovanými druhy ze sekce *Aigeiros* a *Tacamahaca*. Nejčastěji jde o křížence s již zmíněným topolem bavlínkovým a zpětné křížence s hybridním t. kanadským, méně často s t. Maximovičovým (*P. maximowiczii*) a t. chlupatoplodým (*P. trichocarpa*).

Ke zpětnému křížení s topolem kanadským za vzniku životaschopných semenáčků v přírodě dochází hlavně v případě opylení samičího stromu topolu kanadského samčím jedincem t. černého. Riziko spontánního křížení je zjevně značné. I když v Litovelském Pomoraví byla zjištěna introgrese genů topolu bavlínkového jen u 13 % testovaných semenáčků (Pospíšková a Šálková 2006), v okolí řeky Eder v Německu to bylo více než 90 % (Bialozyt a kol. 2012).



V opačném směru (topol černý × t. kanadský) se kříží většinou ojediněle (Benetka a kol. 2002, Vanden Broeck a kol. 2021). Množství spontánních kříženců topolu černého a t. kanadského závisí na podílu a vzdálenosti výskytu samčích jedinců t. kanadského rostoucích v blízkosti samičího t. černého. Významná je rovněž fenologie kvetení jedinců, směr proudění větru, reliéf terénu aj.

Topol černý se s dalšími domácími druhy topolů – topolem bílým (*P. alba*), t. osikou (*P. tremula*) a t. šedým (*P. ×canescens*, přirozeným křížencem *P. alba* × *P. tremula*) – v přírodě samovolně nekříží.

Metody pro odlišení druhu

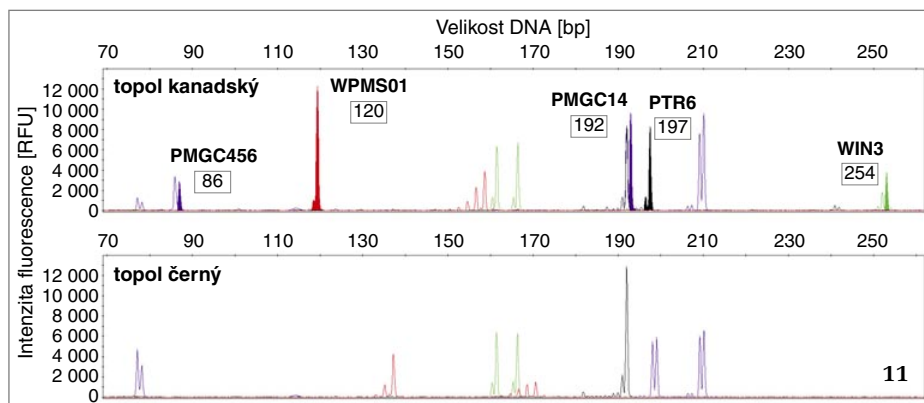
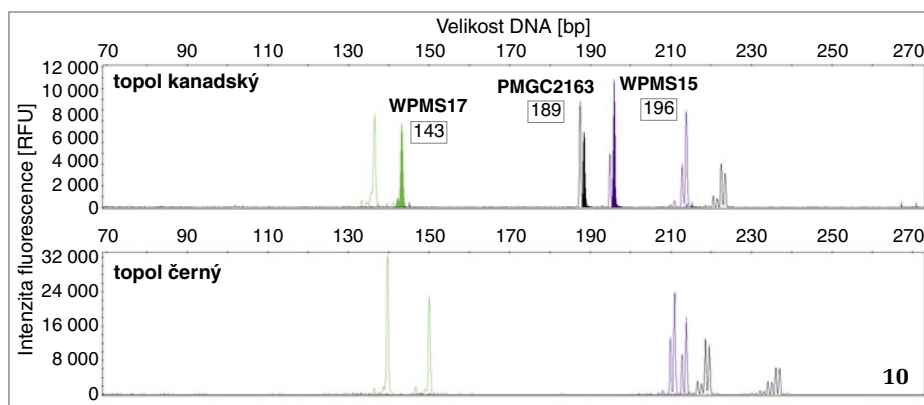
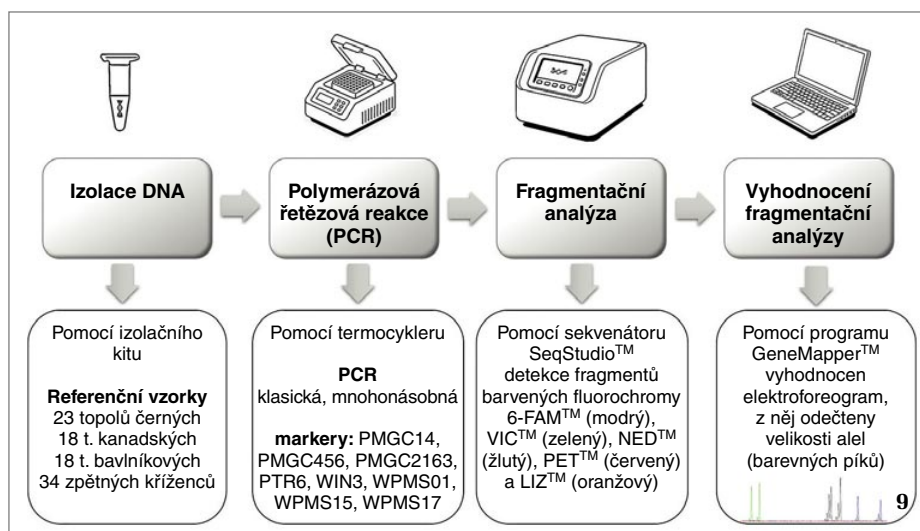
Zkušený odborník dokáže většinou odlišit topol černý od t. kanadského na základě morfologických znaků (obr. 4–8 a 13), ale v případě samovolných kříženců topolu černého a t. kanadského je taková determinace značně náročná a někdy téměř nemožná, neboť tyto potomci mohou zdědit některé typické znaky rodičovských druhů. Navíc zmíněné znaky mohou při termínu hodnocení chybět (záleží na stáří stromu a fenofázi). Proto se začaly pro určení druhů a kříženců topolů používat kromě morfologických znaků molekulární markery (molekulární identifikační znaky).

Nejprve to byly hojně používané, snadno vyhodnotitelné a relativně levné izoenzymové analýzy nebo metoda využívající chloroplastové cpDNA markery děděné pouze po mateřské linii. Následovalo využití dalších úseků DNA, jako jsou STS markery, kodominantní a vysoce polymorfní mikrosatelitní SSR markery nebo SNP markery. Všechny uvedené metody mají různé výhody a zároveň určitá omezení. Bez problémů dokážou rozlišit čisté druhy a mezidruhové křížence první generace. V dalších generacích může u diagnostických markerů nastat s určitou pravděpodobností záměna hybridních jedinců za topol černý. V dnešní době se v přírodě mohou vyskytovat semenáče vzniklé ze zpětného křížení (topol kanadský × t. černý), křížení druhé generace (topol kanadský × t. kanadský) a generací dalších; teoreticky lze předpokládat, že může jít až o čtvrtou generaci. Z tohoto důvodu je nutné pro odlišení jednotlivých mezidruhových kříženců využít větší počet genetických diagnostických znaků, neboť pravděpodobnost správného odlišení topolu černého od mezidruhových hybridů vzrůstá s počtem použitých markerů.

Moderní metoda odlišení topolu černého

Z výše uvedených důvodů byla v rámci projektu s názvem Záchrana populace topolu černého a jeho využití ve vodohospodářství a lesnictví vyvinuta metoda k ověření druhové čistoty topolu černého a jeho odlišení od t. kanadského a jejich kříženců pomocí DNA analýz. Tato metoda je založena na fragmentační analýze mikrosatelitních markerů (mikrosatelit – tandemově se opakující DNA repetice o délce 1–6 párů bází) a následném vyhodnocení přítomnosti nebo nepřítomnosti specifických alel pro topol bavlňkový. Schéma laboratorních postupů znázorňuje obr. 9. Z vybraných 8 markerů byly sestaveny dvě sady pro mnohonásobnou polymerázovou řetězovou reakci (multiplex PCR), při níž se amplifikuje více různých cílových sekvencí DNA.

Obě sady byly ověřeny na referenčních vzorcích topolu černého, t. kanadského a t. bavlňkového z různých míst Evropy a Severní Ameriky a na semenáčích z kontrolovaných zpětných křížení mezi topolem kanadským a t. černým. U topolu kanadského je v každém testovaném lokusu (konkrétním fyzickém umístění zájmové sekvence DNA na chromozomu) přítomna právě jedna specifická alela (jedna z možných verzí zájmové sekvence DNA na určitém lokusu v genomu) pro topol bavlňkový (obr. 10 a 11). Na základě výsledků fragmentačních analýz a analýz hlavních koordi-



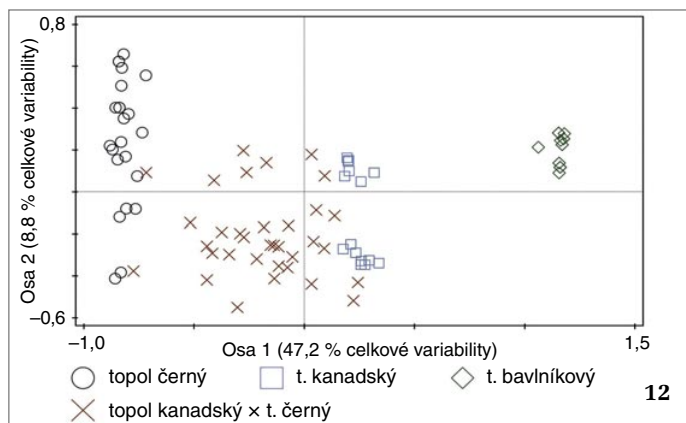
nát (PCoA) se všechny druhy jednoznačně odlišily (obr. 12).

Z kontrolovaného křížení se podařilo uvedenou metodou správně určit 100 % kříženců. U 12 % kříženců byl zaznamenán výskyt specifické alely u 7 z 8 markerů, avšak u 6 % kříženců byla přítomna specifická alela pouze u jednoho markeru. Proto je pro získání správného výsledku vhodné používat obě sady mnohonásobné PCR. Podrobnější data uvádíme v Metodice identifikace topolu černého pomocí DNA markerů (Podrábská a kol. 2024), jejíž plné znění lze nalézt na webové stránce Výzkumného ústavu pro krajinu (www.vukoz.cz).

Přesná identifikace – předpoklad pro návrat mimořádného druhu do krajiny
Jak jsme již psali v úvodu, význam topolu černého, často opomíjené dřeviny, v posledních letech vzrůstá především v lužních lesích, břehových a doprovodných porostech vodních toků. Jde o vhodnou dřevinu do těchto dnes silně poškozených

ekosystémů, kde jsou populace mnohých významných dřevin (jilmů, jasanů a olší) značně a trvale redukovány v důsledku epidemických chorob – grafiozy jilmu, nekrózy jasanu a fytoftorového odumírání olší (Novotná a kol. 2017). Topol černý je jejich přirozenou součástí a obnovení jeho populací by výrazně přispělo ke stabilizaci takových ekosystémů i ke zlepšení plnění jejich funkcí.

Jedním z klíčových bodů pro návrat topolu černého v potřebném množství do krajiny je ochrana a výsadba druhově čistých jedinců. Díky výše zmíněné metodice lze nyní druhovou čistotu spolehlivě ověřit jak u vybraných stromů v přírodě, tak u zdrojů reprodukčního nebo u dodávaného výsadbového materiálu. V dalších krocích je tedy potřeba provést plošný screening populací topolu černého, identifikovat druhově čisté jedince a zbytkové porosty, popsat současný stav, sledovat procesy probíhající v jednotlivých lokálních populacích a určit hlavní faktory



9 Schéma laboratorního postupu a vyhodnocení dat při identifikaci topolů. Fragmentační analýza – metoda genetické analýzy, která zahrnuje soubor technik, při nichž jsou fragmenty DNA fluorescenčně označeny, separovány kapilární elektroforézou a jejich velikost je určena porovnáním s velikostním standardem. Fluorochrom – molekula schopná absorbovat světlo určité vlnové délky a poté světlo emitovat o delší vlnové délce. Tato fluorescenční vlastnost je zásadní v biologickém zobrazování, kde umožňuje např. detekovat molekuly.

10 a 11 Rozpoznání topolu černého od t. kanadského pomocí zvýrazněných specifických alel. Elektroforeogramy topolu kanadského a t. černého pro první sadu markerů mnohonásobné (multiplex) PCR: markery PMGC2163, WPMS15 a WPMS17 (obr. 10) a pro druhou sadu markerů mnohonásobné PCR s markery PMGC14, PMGC456, PTR6, WIN3 a WPMS01 (obr. 11) s vyznačenými specifickými alelami

topolu bavlíkového a jejich velikostmi (bp – páry bází) u jednotlivých barevně odlišených markerů. Elektroforeogram – vizuální zobrazení fragmentů DNA po elektroforéze. RFU (Relative Fluorescence Units) – relativní jednotky fluorescence

12 Odlišení topolu černého od t. kanadského, t. bavlíkového a zpětných kříženců. Analýza hlavních koordinát (PCoA) odlišila jednotlivé druhy topolů, které vytvořily oddělené shluky. Semenáče z křížení mezi topolem kanadským a t. černým se rozptýlily mezi rodičovskými druhy v závislosti na počtu specifických alel zděděných od topolu bavlíkového. Všechny orig. K. Podrábská

13 Žlázky na listu topolu kanadského – znak, který ho odlišuje od t. černého.

14 Solitéra topolu černého. Počedělice na Lounsku. Foto P. Štochlová (obr. 2, 3, 5, 7, 8, 13 a 14)

15 Solitéra topolu černého poškozená hospodařením na poli vedle dálnice. Kostelní Lhota na Nymbursku. Foto K. Novotná (obr. 1, 4, 6 a 15)

ovlivňující změny v populaci. Zároveň je nutné zabezpečit uchování perspektivních genotypů topolu černého pro zajištění vysoké genetické diverzity tohoto ubývajícího druhu i dostupnosti druhově pravého výsadbového materiálu s dostatečnou genetickou variabilitou pro rekonstrukci poškozených břehových a doprovodných porostů. To je jen několik dílčích opatření, která představují nutný předpoklad pro zlepšení situace a pro opětovné rozšíření tohoto druhu.

Spoluautorky: Kateřina Podrábská, Hana Drahošová a Petra Štochlová

Tento článek byl vytvořen s finanční podporou Ministerstva zemědělství, Národní agentury pro zemědělský výzkum v rámci řešení projektu QK22010142.

Použitou literaturu uvádíme na webové stránce Živy. K dalšímu čtení např. Živa 2014, 1: 7–10; 2016, 6: 286–291; 2023, 6: 279–282.

