

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin



Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní
v západních a jižních Čechách

Disertační práce

2011

Autor: Ing. Jan Kaňák

Školitel: doc. Ing. Milan Lstibůrek, MSc., Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci na téma „Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní v západních a jižních Čechách“ vypracoval samostatně s využitím citované literatury.

V Plzni dne 18. května 2011

Ing. Jan Kaňák

Poděkování

Za to, že jsem se do doktorandského studia vůbec pustil, za mimořádné množství cenných profesních rad a podnětů, díky kterým jsem se mohl orientovat v celé šíři studované problematiky a v neposlední řadě za psychickou podporu při studiu bych chtěl na prvním místě poděkovat svému školiteli, doc. Ing. Milanovi Lstibůrkovi, MSc., Ph.D., jakož i všem jeho nejbližším spolupracovníkům z katedry dendrologie a šlechtění lesních dřevin FLD, ČZU v Praze.

Můj dík náleží samozřejmě také celé mé rodině za trpělivost, kterou se mnou po dobu mého studia měli.

Anotace

Borovice lesní je naší druhou nejrozšířenější dřevinou, která zaujímá téměř 17,5% plošného zastoupení lesů v ČR. Často je však velmi problematická genetická kvalita jejich porostů a samozřejmě i kvalita sadebního materiálu. Proto vystupuje do popředí zájmu lesnické praxe větší využití semenných sadů a především jejich transformace na sady vyšší generace. K přechodu k sadům vyšší generace jsou však nezbytné testovací výsadby, které umožňují ověřit, že vlastnosti klonů, vybraných podle fenotypu, jsou geneticky podmíněné. Lesní dřeviny jsou dlouhověké organizmy a právě časové hledisko je zásadním faktorem, ovlivňujícím ekonomickou efektivitu šlechtění. Tato práce vychází z metodického postupu (El-Kassaby et Lstibůrek, 2009), který umožňuje pomocí rekonstrukce rodokmene převést stávající polosesterská potomstva na potomstva plnosesterská, vhodná k selekci klonů pro sady vyšší generace. Oproti klasickému šlechtitelskému postupu se tím založení semenných sadů 2. generace značně urychlí. Práce přináší údaje o fenologii kvetení v semenných sadech a porovnává morfologické, biochemické a molekulární markery při ověřování identity klonů v semenných sadech. Nejdůležitějším praktickým výstupem je pak kompletní vyhodnocení testovacích výsadeb a odhad genetických parametrů, využitelných při selekci klonů pro založení semenných sadů druhé generace. V práci se propojuje teorie šlechtění na bázi kvantitativní genetiky s moderními nástroji molekulární genetiky, vše s aplikačními výstupy pro lesní hospodářství.

Klíčová slova: Semenné sady; borovice lesní; šlechtitelské programy; testy potomstev.

Abstract

Scots pine is commercially the second most-important forest tree species, with the current distribution of 17,5% of the total forest cover in the Czech Republic. Predominantly, genetic quality of pine forest stands is poor, the same holds for the quality of reproductive material. Therefore, seed orchards are becoming progressively more important in the forestry sector, particularly their transformation into advanced generations. Progeny trials provide a functional basis to verify genetic superiority of individual clones. Forest trees are long-lived organisms and time is often considered the critical factor influencing the economical efficiency of breeding. This study is based on methods presented by El-Kassaby and Lstibůrek (2009). Based on pedigree reconstruction, current half-sib progeny trials can be transformed into full-sib trials that are suitable to selection of the second-generation seed orchards. In comparison to traditional breeding strategies, second generation seed orchards can be established much sooner. In this thesis, interesting data on flowering phenology in seed orchards are presented. Morphological, biochemical and molecular markers were compared in their efficiency to verify clonal identity in seed orchards. The most important outcome to applied forestry is the comprehensive evaluation of progeny trials, including the estimation of genetic parameters. These data will be directly utilized in the selection of second-generation seed orchards. Throughout this study, breeding theory (on the basis of quantitative genetics) is interconnected with novel tools in molecular genetics.

Keywords: Seed orchards; Scots pine; breeding programmes; progeny trials.

Obsah

Seznam tabulek	viii
Seznam grafů	ix
1 Úvod - Literární rešerše	1
1.1 Taxonomie rodu a druhu	1
1.2 Popis druhu	5
1.3 Historie rodu <i>Pinus</i> a druhu <i>P. sylvestris</i>	8
1.4 Borovice lesní - výskyt v ČR a ekologie	13
1.5 Proměnlivost borovice lesní	15
1.6 Šlechtění a výzkum borovice lesní ve světě	18
1.6.1 Genetická odezva na selekci, genová diverzita	18
1.6.2 Šlechtění a ekonomika	21
1.6.3 Shrnutí kapitoly	24
1.7 Péče o genofond	26
1.7.1 Shrnutí kapitoly	30
1.8 Genetika a lesnictví	31
1.8.1 Shrnutí kapitoly	34
1.9 Šlechtění a výzkum borovice lesní v ČR	35
1.9.1 Provenienční výzkum	35
1.9.2 Některé zajímavé výsledky provenienčního výzkumu na Sofronce	37
1.9.3 Ověřování uznaných jednotek - ověřovací pokusy	39
1.10 Šlechtitelské programy	41
1.11 Semenné sady	42
1.11.1 Semenné sady a problematika genetické diverzity	43
1.11.2 Rozmístění ramet v semenném sadu	45
1.11.3 Genetická probírka semenného sadu a selektivní sběr osiva	45

1.11.4	Semenné sady v ČR	46
1.11.5	Ověřování a testování uznaných porostů a semenných sadů v ČR	47
1.11.6	Testování semenných sadů za účelem zakládání semenných sadů vyšších generací	49
2	Cíle práce	51
3	Materiál a metodika	52
3.1	Charakteristika semenných sadů	52
3.1.1	Sledování fenologie kvetení v semenném sadu Silov u Nepomuka	53
3.1.2	Metodika sledování fenologie kvetení semenných sadů borovice lesní	54
3.1.3	Verifikace klonů a příslušných ramet v semenných sadech	56
3.2	Charakteristika testovacích výsadeb	61
3.2.1	Typologické charakteristiky testovacích ploch	61
3.2.2	Způsob založení testovacích ploch	63
3.2.3	Měření a hodnocení testovacích ploch	65
3.3	Statistické zpracování biometrických měření	71
4	Výsledky	75
4.1	Fenologie kvetení	75
4.1.1	Výsledky sledování v r. 2009	75
4.1.2	Výsledky sledování v r. 2010	76
4.2	Verifikace klonů v semenných sadech	77
4.2.1	Srovnání verifikačních metod	78
4.3	Biometrická měření	90
4.3.1	Výška a tloušťka	90
4.3.2	Štíhlostní koeficient	97
4.3.3	Tvárnost kmene	97

4.3.4	Mortalita	99
4.3.5	Větvení	100
5	Diskuze	102
5.1	Fenologie kvetení	102
5.2	Verifikace původu	104
5.3	Odhad genetických parametrů	107
5.4	Struktura reziduí	108
5.5	Nástin dalšího postupu	109
5.6	Současné testovací plochy a jejich management	111
5.6.1	Návrh opatření na stávajících testovacích plochách	111
5.6.2	Zakládání nových testovacích ploch	112
6	Závěry	113
	Použitá literatura	115
	Přílohy	133

Seznam tabulek

1	Charakteristiky semenných sadů	52
2	Charakteristiky testovacích ploch	62
3	Typologické charakteristiky - lokalita Skelná Huť	63
4	Typologické charakteristiky - lokalita Nepomuk	64
5	Seznam klonů testovaných na lokalitě Nepomuk	91
5	Seznam klonů testovaných na lokalitě Nepomuk (pokrač.)	92
6	Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť	93
6	Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť (pokrač.)	94
6	Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť (pokrač.)	95
7	Pozdně kvetoucí klony 2009	103
8	Pozdně kvetoucí klony 2010	104

Seznam obrázků

1	Červené prašníky borovice lesní	58
2	Klasifikace tvaru kmene podle Nárovce (Nárovcová et al. 2004)	67
3	Verifikace ramet klonu 2991 analýzou mikrosatelitů	79
4	Fotodokumentace šišek ramet klonu 2353	80
5	Fotodokumentace semen ramet klonu 2353	81
6	Fotodokumentace semen ramet klonu 2353 (pokrač.)	82
7	Fotodokumentace šišek ramet klonů 2991 a 2993	83
8	Fotodokumentace semen ramet klonu 2991	84
9	Fotodokumentace semen ramet klonu 2993	85
10	Fotodokumentace šišek ramet klonů 2981 - 2 řady uprostřed	86
11	Fotodokumentace semen ramet klonu 2981	87
12	Fotodokumentace šišek ramet klonů 2371	88
13	Fotodokumentace semen ramet klonu 2371	89
14	Fotodokumentace semen ramet klonu 2371	90
15	Prostorové uspořádání reziduí - výška (Skelná Huť)	96
16	Prostorové uspořádání reziduí - tloušťka (Skelná Huť)	96
17	Prostorové uspořádání reziduí - výška (Nepomuk)	97
18	Prostorové uspořádání reziduí - tloušťka (Nepomuk)	98
19	Tvárnost kmene na obou testovacích plochách	98
20	Rozsocha kmene v testovacích výsadbách Nepomuk	100

1 Úvod - Literární rešerše

1.1 Taxonomie rodu a druhu

Borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) je jehličnatý druh, systematicky náležející k nahosemenným rostlinám čeledi borovicovitých (*Pinaceae*) a k rodu *Pinus*. Borovice, jakožto nejrozšířenější rod uvedené čeledi je zároveň i rodem, čítajícím nejvíce druhů ze všech jehličnatých dřevin. Vedle borovice lesní bylo popsáno ještě asi dalších 100 až 120 druhů borovic, vyskytující se téměř výlučně na severní polokouli. K druhově nejbohatší územím rodu *Pinus* patří Asie, resp. Čína s přilehlými oblastmi, kde přirozeně roste nebo se pěstuje celkem 39 druhů. Na americkém kontinentu je domácích 30 druhů, což je téměř trojnásobek druhů evropských (11). Celkem uvádí Businský (2008) na světě 116 druhů tohoto rodu. Na území ČR rostou autochtonně tři druhy tohoto rodu, a to *Pinus sylvestris* L. (borovice lesní), *Pinus uncinata* Ramond ex DC. subsp. *uliginosa* (Neumann) Businský (borovice blatka) a *Pinus mugo* Turra (borovice kleč).

První systémové zařazení borovic pochází již z r. 1753 (Carl von Linné), jedno z posledních publikoval ve své monografii o rodu *Pinus* Businský (Businský, 2008). V taxonomii rodu *Pinus* bylo významným předělem vydání monografie napsané Shawem (Shaw, 1914), která je založena na přirozené příbuznosti, evolučních principech a komplexním pohledu na význam, projev a variabilitu znaků. Tato monografie proto představuje počátek moderní klasifikace rodu, zejména pro její přirozené vymezení příbuzenských skupin a pro svoji komplexnost.

Zřejmě nejdokonalejší monografii borovic (Genus *Pinus*) napsal v r. 1967 N. T. Mirov. Jeho přístup k posuzované problematice je opravdu komplexní a např. jenom stať o paleontologii druhů tohoto rodu je popisována na 126 stranách. Jednou z nejdůležitější publikací, zabývající se pouze druhem *Pinus sylvestris* je monografie tohoto druhu ruského dendrologa L. F. Pravdina (Pravdin, 1964).

Z mnoha publikací, které vyšly u nás a zabývají se tímto rodem, stojí podle Busin-

ského (Businský, 2008) za zmínku tři. Jejich autory jsou:

- Novák (1953), popisující celkem 113 druhů, jejichž znakové vymezení je však z dnešního pohledu problematické,
- Pilát (1964), popisující 60 druhů v dnes již zastaralém pojetí,
- Koblížek (2000), zahrnující v klíči 33 taxonů na úrovni druhu, prosperujících v podmínkách České republiky.

Starší dendrologické zpracování rodu *Pinus* Novákem se z těchto publikací poněkud vymyká především svým záměrem monograficky zpracovat všechny v té době známé druhy uvedeného rodu. Nejcennější na této publikaci jsou podrobné popisy druhů a obsáhlá synonymika. Je to dosud nejkompletnější dílo, jaké bylo o borovicích z botanického hlediska napsáno v češtině. Bohužel, vyšlo až 11 let po uvedeném datu jeho zpracování v rámci širšího díla čtyř autorů (Businský, 2008).

Borovice lesní je taxonomicky dobře vyhraněná, má však v rámci svého areálu výrazně odlišené subpopulace (regionální populace, ekotypy, klimatypy atp.), které někteří taxonomové vylišují jako samostatné druhy, poddruhy nebo variety. To souvisí s velkou vnitrodruhovou variabilitou, která souvisí především s jejím obrovským areálem.

Areál borovice lesní je nejrozsáhlejší ze všech stromovitých konifer a zaujímá téměř celou Evropu a severní Asii. Podle Wrighta a Bulla (Wright et Bull, 1963) je tento areál v dnešní podobě starý cca 5 000 let. Od Atlantiku prochází přes celou Evropu a přes celou Sibiř až téměř k Pacifiku, na západě zasahuje až do Skotska, na východě až k Ochotskému moři. Nejjižněji zasahuje ve španělském pohoří Sierra Nevada a v Turecku, nejsevernější výskyt je ve Skandinávii, kde jde až za polární kruh. Neobvykle velké rozšíření borovice lesní souvisí především se skromnými ekologickými nároky na stanoviště a klima. Roste téměř všude, na písčích, hlínách, kamenitých půdách, sutích a skalách bez ohledu na geologický podklad, na půdách zamokřených i extrémně suchých.

Svoboda (1953) při klasifikaci populace druhu *Pinus sylvestris* L. vychází z její postglaciální historie a dělí ji na:

- *Pinus sylvestris septentrionalis*, tzv. borovice severskou, jež se vyvinula v postglaciálu při migraci druhu do prostor uvolněných po ustupujícím ledovci. Hlavní rozšíření tohoto typu je na písčitých půdách, kde vytváří často monokultury s občasnou příměsí břízy a osiky. Na vlhčích hlinitých půdách vytváří směsi s jinými dřevinami: na severu a na východě s břízou a smrkem a na západě s dubem a bukem. V severních oblastech převládá také na rašeliných půdách v porostech s příměsí břízy.
- *Pinus sylvestris montana*, tzv. borovice reliktní, která přežila v různých pohořích jižně od hranice ledu celou dobu ledovou. (Protože hranice ledu naší části Evropy končila na hřebenech severních hraničních hor hercynské kotliny, jsou všechny výskyty borovice v našich oblastech reliktního původu.) Je zastoupená v jižní části hlavního areálu borovice lesní především v horských pásmech střední a jižní Evropy, kde vytváří ostrůvkovité porosty, rostoucí na extrémních stanovištích (suchá a skalnatá stanoviště, balvanité svahy s vápencovým nebo dolomitickým podložím, popř. rašeliny). Její porosty nejsou souvislé, tvoří jen příměs ostatních lesů v madmořských výškách 200 až 2000 m.
- *Pinus sylvestris stepposa*, tzv. borovice stepní, tvořící nesouvislé pásmo ostrůvkovitých nebo také reliktních borů, které lemují jižní část areálu borovice lesní a pronikají do oblasti lesostepi. Výskyty jsou izolované a porosty jsou vázané na křídové půdy, žuly, a písky a vytvářejí tak mnoho edafotypů, které se liší ekologicky i morfologicky. „Stepní borovice“ vytvářejí porosty nejen ve evropské části Ruska, ale také na jižním Uralu a zasahují hluboko na Sibiř až po Altaj. Z hlediska osídlení jsou to nejstarší - reliktní borovice a podobně jako severské a horské, také vytvářejí různé klimatypy.

Také Klika (1953) člení borovici lesní na tzv. plemena a uvádí 24 hlavních zeměpisných plemen, tzv. Klikových fyziologických ekotypů. Pro podmínky ČR uvádí rozšíření tří ekotypů, a to:

1. borovice lesní hercynská - *Pinus sylvestris hercynica* (Münch) Rothm. - Šumava a západní Čechy;
2. borovice lesní česká neboli třeboňská - *Pinus sylvestris bohémica* (Šiman) - Jindřichohradecko, Třeboňsko a Šumava a
3. borovice lesní sarmatská - *Pinus sylvestris sarmatica* (Zapalowicz) - Lysá hora, Horní Slezsko.

Dostál uvádí (Dostál, 1989) pro území ČR jen *Pinus sylvestris* L. subsp. *sylvestris* a její tři variety, a to:

- var. *sylvestris* - typická širokou korunou, kmenem v koruně zprohýbaným, jehlicemi délky 4,5 (2 až 6) cm, rozšířená na písčinách v Čechách a na Moravě;
- var. *hercynica* (Münch) - s korunou úzce kuželovitou, většinou šikmo odstálými jehlicemi, 4 - 6 cm dlouhými, je rozšířená v podhorských a horských lesích v západních Čechách, zvláště na Šumavě a Krušných horách;
- var. *bohémica* (Šiman) - s rovným kmenem, štíhlou, kuželovitou korunou, rozšířená v rašeliništích v jižních Čechách.

Současné literární prameny (Musil et Hamerník 2007) jednak uvádějí na území ČR pouze výskyt nominátní *Pinus sylvestris* L. subsp. *sylvestris*, zahrnující i dřívější subsp. *hercynica*.

Nejnověji také Businský (2008) člení druh *Pinus sylvestris* L. na variety, charakteristické vždy pro určitá území:

- *Pinus sylvestris* var. ***sylvestris*** - Evropa až Dálný Východ;

- *Pinus sylvestris* var. **lapponica** Hartm, 1849 - Skandinávie, Sibiř;
- *Pinus sylvestris* var. **mongolica** Litv., 1905 - Mongolsko, Čína, Sibiř;
- *Pinus sylvestris* var. **hamata** Steven, 1838 - Kavkaz, Arménie, Turecko.

1.2 Popis druhu

Borovice lesní je strom až 40 m, výjimečně až 50 m vysoký, s přímým válcovitým kmenem, který se poměrně záhy čistí od větví, zvláště v porostech s dokonalým zápojem. Ve volnu nebo v uvolněném zápoji vytrvávají i spodní větve na kmeni, síla a koruna se rozrůstá do šířky, mnohdy velmi nepravidelně. Kmen je nahoře kryt tenčí kožovitou, papírovitou žlutou nebo žlutohnědou korou, která u některých jedinců sestupuje hluboko po kmeni. U jiných borovic vystupuje naopak hrubá borka téměř až do korun. Borka vytváří buď úzké šupiny, anebo široké desky a pláty rozdělené vodorovně i svisle u starých stromů tak, že se podobají želvímu krunýři (Mezera, 1952). Musil (2003) uvádí, že koruna borovice lesní je v severní a v severovýchodní části areálu spíše štíhlá s jemným ovětvením, ve střední a jižní části areálu přibývají a posléze i převažují jedinci s klenutou až deštníkovitou korunou se silnými větvemi. Také Mezera (1952) uvádí, že severské borovice a borovice vyrostlé v horách (horských polohách) se habitem podobají smrku. V podmínkách ČR se vyskytují úzké koruny s jemným ovětvením u náhorní varianty borovice lesní, kdežto její pionýrská varianta pahorkatinná (chlumní) má korunu klenutou až deštníkovou se silnými větvemi (Kaňák J., 1985). Kořenový systém je mohutný, většinou se zachovalým křídlovým kořenem, jdoucím 1,5-3 m hluboko (v suchých, písčitých půdách ještě hlouběji); časté jsou i boční kořeny, obracející se posléze dolů; horizontální kořeny rostou ve vrstvě do 20 cm pod povrchem. Na pohyblivých písčích mohou vznikat i chůdovité kořeny. Kořenový systém poměrně dobře kotví nadzemní část v zemi; borovice lesní netrpí vývraty a je proto obvykle považována za zpevňovací dřevinu (Musil, 2003). Pupeny jsou vejčité podlouhlé, na konci

zašpičaté, bez pryskyřice, jsou obaleny četnými, na okraji blanitými až třásnitými šupinami. Bývají sestaveny v přeslenech a výhony z nich vyrůstají v květnu. Jehlice jsou po dvou ve svazečku na brachyblastech, přímé nebo točité, 4-8 cm dlouhé, 1,5-2 mm široké, tuhé a ostré, ne rubu temně zelené, na líci šedozelené, ploché. Na výhonech vytrvávají průměrně 3 roky (na suchých stanovištích v nížinných oblastech 2, v horách a severských lesích 4 i více let) (Mezera, 1952).

Jako solitera dospívá borovice lesní mezi 15. a 20. rokem, v porostním zápoji mezi 30. a 40. rokem. Čím je stanoviště bohatší, vlhčí a úživnější, tím déle dospívá: také až mezi 50. a 60. rokem. Silné semenné roky se opakují po 3 až 4 letech. Samčí (pylové) šištice se vytvářejí v předchozím létě. Vyrůstají na nejvitálnějších výhonech nejčastěji v dolní části koruny. Po jarním rašení se tzv. primordia zvětšují na žlutě (*většinou žlutě, ale občas mohou být i červené - pozn. autor*) zbarvené pylové (*prašňikové*) šištice o délce 5 až 7 mm, které začnou uvolňovat pylová zrna, opatřená vzdušnými vaky. Borovice je větrosnubná a pyl může doletět na velké vzdálenosti. Desítky km jsou poměrně „obvyklou“ vzdáleností, popsány jsou i případy přenosu pylu mnohem vzdálenější, až tisíce km. Samičí šištice jsou kulovité, umístěné většinou po 2 (1-3) ve špičce pupenů. Vyrůstají na nejvitálnějších výhonech, obvykle v horní části koruny nebo v jejích osluněných částech. Během 2 týdnů od začátku rašení se tzv. primordia vyvinou v samičí šištice, připravené k opylení. Období opylení trvá 2 až 3 dny. Doba kvetení se liší u různých proveniencí: např. severské provenience kvetou na stejné lokalitě dříve než jižní (Musil, 2003). Po opylení se u borovice lesní (na rozdíl od borovice blatky) šištice na stopce ohýbají (otáčejí nazpět) a do podzimu - tzv. konelety - dorůstají do velikosti 8 - 12 mm.

Naklíčený pyl zůstává po 12 měsících v klidu (dormantní). Během této doby samičí šištice („konelety“) povyrostou. Teprve po více než 12 měsících po opylení obnovuje klíčící pyl svůj růst a oplodní vajíčko. Krátce na to (v červnu 2. roku) se celý útvar začne rychle zvětšovat a počátkem léta dosahuje konečné velikosti šišky (tj. 3-6 cm délky).

V té době jsou šišky ještě zelené a lesklé. Začátkem října (2. roku) dospívá semeno, šišky dozrávají, ztrácejí lesk a mění barvu na šedohnědou. Je-li příznivé počasí (suchá období se střídají s vlhkými), může ještě v X.-XII. měsíci menší množství semen ze šišky vylétnout. K hlavnímu otevírání šišek však dochází až v předjaří 3. roku (Musil, 2003). Variabilita šišek je obrovská, avšak šišky jednoho stromu (klonu) jsou naprosto stejné a totéž platí o semenech.

Borová semena jsou elipsovitá, 3 až 4 mm dlouhá. Bývají většinou tmavě hnědá až černá, ale mohou být i světlá, světle hnědá nebo kropenatá a po celém obvodu jsou opatřena blanitým křídlem, 12 až 18 mm dlouhým. Hmotnost 1000 semen bývá od 4 do 10 gramů a zvyšuje se směrem od severu k jihu. Kvalita a klíčivost semen klesá s věkem mateřského stromu a samozřejmě také skladováním.

Semena klíčí na jaře a prvním rokem vyrůstají pouze jehlice primární, sazečky jehlic se objevují až od následujícího roku. Růst borovice lesní má většinou monocyklický charakter, trvající cca 2 měsíce, od května do června. Pak dochází ke dřevnatění a vyžívání nových výhonů a tvorbě pupenů. K dicyklickému růstu, tj. k tvorbě jánských (růst hlavního pupenu v červnu), popř. proleptických (růst bočních pupenů v létě) výhonů, dochází zpravidla pouze u mladých kultur (do věku max 10 - 15 let) a jsou z pěstebního hlediska nežádoucí, neboť způsobují křivost kmene. Rytmus růstu je velice variabilní a je závislý především na původu sazenic, o čemž svědčí výsledky všech provenienčních pokusů. Obecně platí, že provenience s klimaxovým charakterem (náhorní varianta borovice lesní) rostou zpočátku pomalu, ale později (okolo 20 let věku) velmi zrychlují svůj růst a dostávají se na první místa v pořadí. Naproti tomu provenience s pionýrským charakterem rostou velmi rychle zpočátku, ale po zhruba 20. roce věku svůj růst zpomalují (Kaňák J., 1994).

Borovice lesní se kříží i s jinými druhy borovic, především s borovicí blatkou a zřídka i s klečí všude tam, kde se setkávají. Existence borovice blatky, která je subendemitem České republiky, je touto introgresí a následnou genetickou erozí přímo ohrožena,

protože z důvodů ekologických změn přechodových rašelinišť, jejího jediného vhodného biotopu, jsou lépe vybaveni pro přežití na sušších stanovištích její hybridní potomstva s borovicí lesní. Další známé mezidruhové křížení borovice lesní je s borovicí černou, borovicí hustokvětou a s čínskou borovicí tabulovitou. Borovice lesní má dobu obmýtí 100 let, může se dožít až 300 let (-584?) (Musil, 2003). Na dobré bonitě dosahuje výnos v době obmýtí až 1,5 m³, $d_{1,3}$ až 1 m. Hmotová produkce je i na nejlepších stanovištích 800 až 900plm/ha, což je méně než u smrku nebo jedle (Mezera, 1952).

1.3 Historie rodu *Pinus* a druhu *P. sylvestris*

Rod *Pinus* je znám už z geologického období Jury, tj. asi před 200 miliony let a geologické stáří našich jehličnatých druhů smrku a borovice v té podobě, jak je známe dnes, je asi 130 miliónů let. Během dalších 70 miliónů let do konce svrchní křídly přežily v podnebí subtropickém, které přetrvalo do období třetihor ještě 26 miliónů let. Teprve potom nastalo postupné ochlazování, trvající 40 miliónů let, až do nástupu ledových dob Pleistocénu v éře čtvrtohor. Tedy po 160 miliónech let v subtropických poměrech došlo k tomu, že borovice byla v našich prostorách odkázána na střídavý život v refugiích v době opakovaného zaledňování severní Evropy (Mirov, 1967).

Mirov (1967) uvádí společné centrum vzniku druhů rodu *Pinus* v oblasti dnešního Wrangelova ostrova severně od Čukotky. Podle tohoto autora odtud začala migrovat potomstva zakladatelské populace několika směry, a to jednak přes Beringovu úžinu a Aljašku na jih, na americkou pevninu podél pobřeží Pacifiku, a jednak na východ, k pobřeží Atlantiku. Opačný proud probíhal během třetihor v prostoru mezi břehem moře Tethys a horským hřebenem, táhnoucím se z východní Asie severně od dnešních Himalájí až do Evropy. Tyto migrace měly za následek diferenciaci jednotlivých druhů a opakovanými změnami prostředí při migraci se projevil, zvláště u některých z druhů tohoto rodu, trend ke zvýšení jejich genetické flexibility.

V paleobotanické kapitole své monografie rodu *Pinus* upozorňuje Mirov (1967),

že není možné popisovat chování druhu v různých geologických obdobích tak, jak se projevuje dnes. Na předky aktuálních druhů působily v geologické minulosti různé a často katastrofické vlivy. Podle toho se měnily jejich adaptace, které přežívají adekvátně k délce období, v němž působily selekční tlaky, jež je vyvolaly.

Prakticky od období svrchní křídy až do období čtvrtohor nastávaly tedy poměrně náhlé změny teploty, které měly za následek katastrofické selekce. Jak ukazují některé grafy (Dansgaard et al., 1989), tyto tepelné změny vyvolávaly zákonitě katastrofické úhyny a tím i změnu frekvence některých genů uvnitř přežívajících zbytků populace druhu.

*Katastrofická selekce se projevuje tzv. „efektem hrdla láhve“ (cf. bottleneck effect, catastrophic selection, Flaschenhals der Population), kdy několik zbylých jedinců, zbylých po katastrofické selekci (Lewis, 1962; Raven, 1964) postižené populace založí v krátké době novou, odolnější populaci (Mayr, 1954: founder effect; Bouvarel, 1960: *P. maritima*; Kaňák, 1987, 1988a: smrk, apod.). VanBuijtenen (1966) popisuje tento jev u druhu *Pinus taeda* jako „lost pines of Texas“: Dva izolované populační ostrůvky borovice kadidlové, vzdálené 100 mil od hlavního areálu druhu, se vyznačují překvapivou odolností vůči žáru a suchu texaské pouště, přestože tento druh pochází z vlhkého povodí Mississippi. K této odolnosti se v procesu „efektu zakladatele“ přidala ještě odolnost vůči rzi borové, která působí velké škody v centrálních populacích tohoto druhu.*

V těchto případech, i v případech, kdy dřeviny migrovaly na velké vzdálenosti v geologicky dlouhých časových rozpětích, se stabilizovaly určité genetické struktury, které se tak projevují dodnes (Kaňák K., 1986, 1992). To platí např. u *Pinus peuce*, *Pinus nigra* a dalších jihoevropských druhů borovic, pocházejících z třetihorní migrace,

stejně jako např. u „našich“ třetihorních klimatypů *P. sylvestris* (Svoboda, 1953 - *Pinus sylvestris relictá*, apod.). Ačkoliv se dnes druh *Pinus sylvestris* většinou pokládá za vysloveně pionýrský, chová se jak v nížinných a pahorkatinných oblastech (cf. Doksy, Týniště n. Orl. a v mnohých jiných lesních celcích), tak i ve vyšších polohách (Šumava 700 - 1100 m n.m.), jako druh klimaxový (Kaňák K., 1983 a 1994; Kaňák J., 1985 a 1994) a vystupuje ve směsích sm-jd-bk-bor v horských ekosystémech a v nižších polohách i s druhy listnatými (Doksy, Týniště n. Orl., Cvilín apod.) ve směsích s db-bř-os-sm. Jako druh vysoce variabilní je schopný současně vystupovat na požářištích a holosecích jako druh pionýrský, podobně jako smrk (Melechov, 1934). *Melechov (1934) totiž popisuje přírodní výskyt smrku na lokalitě, několikrát po sobě postižené požárem a opětovaně přirozeně zalesněné smrkem. Výsledný smrkový porost se vlivem směrované selekce opakovanými požáry „transformoval“ tak, že dnes má klasické pionýrské vlastnosti: zmlazuje se na otevřené pasece po požáru, v mládí roste velmi rychle a má snahu zakrýt obsazený prostor a začíná brzy plodit (tj. fáze vegetativní brzy přechází na fázi generativní).*

Pinus peuce a *Pinus nigra*, patří ke druhům, které byly podrobeny dlouhodobé mezikontinentální migraci z východní Asie do Evropy, při níž nabraly neobyčejnou flexibilitu. První jmenovaná zůstala v oblasti makedonských velehor ve formě ostrůvků u hranice lesa, kde se dá předpokládat zúžení variability příbuzenským křížením jako v refugiích. Přesto, navzdory těmto předpokladům, roste tento druh bez problémů jak daleko na severu v oblasti Lotyšska (Salaspils), tak i v imisní oblasti Krušných hor (Bludná, 1000m, v centru extinkce smrku) a v mnohých i nižších lokalitách se chová jako pionýr, snášejíci všechny stanovištní anomálie. Přesně totéž lze říci i o druhu *Pinus nigra*, který se vyskytuje od kyselých zamokřených půd až po suchá vápencová stanoviště, od 120 do 900 m n.m. (Kaňák K., 1992).

Na vlastnosti dnešních druhů ale neměla vliv jen migrace a adaptace v minulosti. Závažný vliv měly (a v některých případech dodnes mají) i genetické poměry v různých

refugiích, jak na to upozorňují Lagerkranz et Ryman (1990). Při vyhodnocení Langletovy provenienční sbírky smrku z r. 1964-8 zdůrazňují, že v refugiích blízko hranice zalednění v podmínkách arktické stepi, kde je nejsilnějším faktorem přírodního výběru vítr, může dojít jen zřídka k cizosprášení uvnitř refugia.

Uvnitř hercynské kotliny se šířila borovice lesní v postglaciálu velmi rychle a z toho lze usuzovat, že přežila v těchto prostorách v době posledního zalednění zřejmě v četných refugiích např. na osluněných skalách apod. (Firbas, 1949). Po skončení poslední ledové doby se tedy rozšířila z roztroušených refugií v naší hercynské kotlině tak rychle, že už není možné zjistit, kde se ona refugia, v nichž glaciál přežila, vlastně nalézala. Protože u nás existují bez nejmenší pochyby dvě evoluční varianty borovice lesní, jedna pionýrská, podle P. Svobody tzv. *mladší*, vyskytující se i přirozeně v monokulturách na nejchudších půdách, a pak klimaxová, tzv. *reliktní*, v horských polohách ve směsi se smrkem, bukem a jedlí. Lze se právem domnívat, že se jedná právě o varianty různého původu a tím i různého věku.

Na rozdíl od tohoto tvrzení pokládá Šindelář (Šindelář et al., 2005) „možnost existence borových lesů v pozdním glaciálu za nepravděpodobnou až vyloučenou“. Dále uvádí, že „nelze stanovit refugia, z nichž se borovice lesní šířila do oblastí střední Evropy, specificky i do prostoru České republiky a rovněž směry postupu této dřeviny do české kotliny a moravských karpatských oblastí.“ Tento názor pokládá RNDr. Vlasta Jankovská (2011), která se celý život zabývá šířením dřevin v postglaciálu (např. Jankovská 1987, 1992 apod.), za zcela nepodložený a tvrdí, že „*Pinus sylvestris* byla přítomna i na severu střední Evropy v poslední době ledové. Samozřejmě, že byla téměř všude - s menšími výjimkami - rozšířena na území naší republiky. A to v poslední době ledové, v pozdním glaciálu a pochopitelně vždy v holocénu. Snad se ani nedá mluvit o refugiích - v různém zastoupení byla téměř všude. Na bazi rašeliniště Černovír u Olomouce jsem vykopala pařez *P. sylvestris* datovaný do pozdního glaciálu. A v pylových spektrech z poslední doby ledové mám uzavřenou pylovou křivku s vysokými hodno-

tami. Nikdy jsem neuvažovala o tom, že by se *P. sylvestris* měla do našich zeměpisných šířek šířit z jižnějších refugií (Jankovská, 2011 - pers. comm.)". V publikaci stejných autorů vydané o dva roky později je Šindelář et al. (2007) již opatrnější: „S ohledem na chybějící nebo kusé informace, týkající se refugií borovice lesní v pozdní době ledové a směrů jejího následného šíření, nelze však proměnlivost populací podle jejich původu posoudit s takovou spolehlivostí, jako je to možné např. u smrku ztepilého nebo jedle bělokoré.”

První výskyty borovice lesní byly na základě pylových analýz doloženy již z období pozdního glaciálu (13.000 až 8.000 př. n. l.), kdy se v nižších polohách (do cca 400 až 500 m n. m.) během chladnějších období vyskytovala *Pinus cf. sylvestris*, spolu s dalšími dřevinami (bříza, topol, jalovec, smrk, rakytník a chvojník). V teplejších obdobích pozdního glaciálu se borovice s břízou šířily a místy mohly vytvářet i souvislejší lesostepní březoborové porosty. Ve vyšších polohách se v chladnějších obdobích vyskytovaly zakrslé porosty břízy a borovice s tím, že v teplejších obdobích možná borovice dominovala. V prvním období holocénu, preboreálu (8.000 až 7.000 př. n. l.), se rozsah zalesnění zvyšoval, avšak druhové složení dřevin se neměnilo. V boreálu (7.000 až 5.500 př. n. l.) se v nižších polohách nově objevují líska a dub, ve vyšších polohách líska a smrk. V dalších obdobích již borovice ustupovala, v našich podmínkách podle odhadů na 3 až 4% přirozeného zastoupení (Neuhauslová et al., 1998).

Výskyt borovice přetrvával zejména na lokalitách s relativně chudými písčitými půdami a na některých dalších extrémních stanovištích se skeletovitými půdami, kde se dřeviny s vyššími nároky na výživu a zásobování vodou nemohly dostatečně uplatnit. Na ústupu borovice z lesů střední Evropy se podle názoru některých autorů (Firbas, 1949, 1952; Bertsch, 1951) podílely i změny klimatu (zvyšování teplot a srážek). Rozhodujícím faktorem, který v posledních dvou stoletích ovlivnil zastoupení borovice lesní ve středoevropských lesích, se však stal člověk v souvislosti se vznikem organizovaného lesního hospodářství (Šindelář et al., 2007).

1.4 Borovice lesní - výskyt v ČR a ekologie

Autochtonní borovice lesní se u nás nyní vyskytuje jen ostrůvkovitě na extrémních reliktních stanovištích, např. ve světlých lesích na skalnatých ostrožnách, na balvanitých svazích, na sutích, stěrcích, píscích a na některých písečných přesypech, na lokalitách často suchých a mělkých - ale i na vlhkých lemech rašelinišť. Nejníže se nachází v doubravách Polabí na nízkých terasách s akumulací chudých vátých písků. Dále roste na hadcích Slavkovského lesa a Českomoravské vrchoviny, na balvanitých svazích a sutích Šumavy, na píscích a zrašelinělých půdách Třeboňska, na pískovcových skalách a ve skalních městech s. a sv. Čech, na skalnatých výspách a příkrých stráních zaříznutých údolí řek Jihlavy, Oslavy, Rokytne, Dyje; vyskytuje se také na výspách Dražanské vrchoviny, na sutích Hrubého Jeseníku a na vápencových skalách j. části Moravy. Tyto autochtonní výskyty označujeme jako reliktní bory (Musil, 2003).

Borovice lesní je ve větší či menší míře zastoupena téměř ve všech lesních oblastech ČR a celkový podíl v lesích ČR činí okolo 18%. Její hojnější výskyt je lokalizován v některých více méně ekologicky vyhraněných oblastech, kde vznikly specifické regionální populace, např. borovice třeboňská, západočeská, východočeská, severočeská, apod.

Směrnice pro uznávání a zabezpečení zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin a pro jeho přenos z r. 1988 rozeznávají borovici pahorkatin a borovici horskou. Borovice pahorkatin roste ve vegetačním lesním stupni 1 až 4, je citlivá ke sněhovým polomům, trpí námrazou a ledovkou, je odolná k suchu. Hrubá borka zasahuje pouze spodní část kmene, koruna je zpravidla rozložitější a brzy se zaobljuje. Borovice horská roste ve vegetačních stupních 5 až 7, snáší horské klima, je citlivá na dlouho trvající sucho, je značně proměnlivá, kmen je rovný, ve vyšších polohách v oddenkové části svalcovitý, borka tmavá, šupinatá, často jdoucí v této formě až do koruny. Koruna je úzká, delší, různě hustá, sloupovitá až kuželovitá, jehlice relativně krátké (Šindelář, 1991).

Podle Mirova (1967) tvořila borovice lesní před nástupem pleistocénu koncem třetího tisíciletí příměs v bohatých listnatých lesních společenstvech. Z toho lze usuzovat, že

v té době šlo o druh klimaxové povahy. Minulou i současnou lesnickou veřejností je však borovice lesní chápána jako typický pionýrský druh, pěstovaný v pahorkatinách v monokulturách, bez ohledu na její varianty, např. náhorní, s typickou klimaxovou povahou. Přitom již Langlet (1934) vypracoval mapu německých oblastí borovice lesní, v nichž se vyskytují její různé ekologické varianty. V této mapě je použitý termín „náhorní borovice“, v Německu již delší dobu používaný. Její území na Langletově mapě obklopuje západní hranici našeho státu, sousedící s Německem.

Náhorní varianta borovice lesní má především velký význam při zpevnění horských porostů zvláště smrku, a dále při zvýšení druhové diverzity hercynské směsi smrk-jedle-buk, kam neodmyslitelně vždycky patřila (Reinhold, 1944; Hiltzer 1932). Navíc dosahuje v těchto klimaxových směsích vysoké produkce při vynikajícím tvaru kmene s převážně úzkou korunou a slabými větvemi. Tato problematika byla na bývalém pracovišti VÚLHM v Plzni-Bolevci již dříve rozpracována při provenienčním výzkumu s borovicí lesní (Kaňák J., 1985, 1994). Také pro praktické potřeby pracovníků, uznávající tehdy tzv. výběrové stromy, zpracoval autor v rámci trvalého pověření VÚLHM „Záchrana genových zdrojů“ manuál jako přílohu k uznávacím listům, kde byla borovice lesní rozdělena do 2 variant (ekotypů) na variantu horskou (klimaxovou) a chlumní (pionýrskou). V této příloze byl také uveden stručný popis jejich fenotypových vlastností.

Také Critchfield (1980) ve svojí monografii borovice pokroucené upozornil na případ, kdy v populaci téhož druhu vystupují v různých částech jeho areálu různé evoluční varianty. Pobřežní subsp. *contorta* (Shore pine, pobřeží států Washington, Oregon a Kalifornie) spolu se subsp. *murrayana* (Murray pine, pohoří washingtonských a oregonských Kaskád a kalifornských Sierr) tvoří typ pionýrský, pod vlivem dodnes činných vulkánů. Zmlazuje se na popeli a pemze (Hansen, 1942, 1943) a připravuje prostředí pro sukcesně pokročilejší druhy smrku, borovice a jedle. A naopak subsp. *latifolia* (Lodgepole pine, borovice tyčová) se chová jako druh klimaxový a vytváří na území Skalistých hor s dalšími tamními klimaxovými druhy závěrečné stadium evoluce lesního ekosys-

tému.

Kaňák K. (1998, 2002) se domnívá, že pojetí ekologie našich hlavních druhů dřevin (borovice lesní a smrku) je dosud příliš statické. Ignorování migrací v dobách změn klimatu a tak vzniklých adaptací považuje za škodlivé přehlížení evolučních změn těchto druhů, jež mohou být vyvolány kdykoliv, kdy se druh dostane do odlišných podmínek a jeho populace „kopíruje“ změněné prostředí prostřednictvím směrované selekce.

Borovice lesní je výrazně světlomilnou dřevinou, která je velmi citlivá k jakémukoliv zastínění. Jinak je adaptována téměř na jakékoliv stanoviště, jak po stránce pedologické, tak klimatické. Odolává jak silným mrazům, tak vysokým teplotám a přímým slunečním paprskům. Proti požáru je na rozdíl od smrku a jedle chráněna silnou borkou. Vyskytuje se na chudých kyselých písčitých půdách, ale i na vápencích, hadcích, na velmi suchých stanovištích, ale i na rašelinách. Na bohatých půdách, kde roste velmi dobře, však bývá vytlačena konkurencí jiných dřevin. Její pionýrská varianta se přirozeně nejlépe obnovuje na holinách nebo na nezastíněném stanovišti na minerální půdě, náhorní varianta se zmlazuje lépe pod řídkým porostem. Vzhledem k tomu, že je borovice lesní výrazně odolnější vůči imisím než např. smrk, doporučuje Kaňák, aby v horských imisních oblastech (např. Krušné hory) byla její místní provenience vysazována ve větším zastoupení, než je obvyklé (Kaňák K., 1987).

1.5 Proměnlivost borovice lesní

Proměnlivost borovice lesní je prakticky ve všech sledovaných znacích velmi vysoká. Souvisí to nepochybně s tím, že její areál rozšíření je ve srovnání s jinými druhy velmi rozsáhlý. Proměnlivost borovice lesní byla studována především v provenienčních pokusech, které potvrdily velké rozdíly především mezi proveniencemi, tedy diverzitu způsobenou jednak zeměpisným původem zkoumaných vzorků populace a jednak jejich stanovištěm. S tím souvisí i velký důraz, kladený na využívání tzv. regionálních populací i v provozním lesnictví, především v semenářství a školkařství a zásady při

přenosu osiva a sazenic, které jsou *de facto* výsledkem provenienčních pokusů.

Znalost proměnlivosti populací jednotlivých druhů lesních dřevin je jedním ze základních předpokladů racionálního lesního hospodářství. Dostatek informací o variabilitě druhů je základem pro volbu pěstební techniky, zejména pak pro výběr vhodného reprodukčního materiálu a jeho používání v souvislosti s umělou obnovou lesních porostů (Šindelář et al., 2007).

Ke studiu problematiky proměnlivosti borovice lesní Šindelář et al. (2005) uvádějí: „Problematice proměnlivosti borovice lesní se v lesnickém výzkumu věnuje pozornost již téměř celé století a do současnosti bylo o tomto tématu publikováno velké množství prací. Pozornost byla věnována morfologickým znakům, jako jsou např. utváření a velikost šišek, tvárnost kmene, postavení větví, typ větvení nebo utváření koruny. V souvislosti s analýzami byly z praktického hlediska sledovány vztahy k některým významným charakteristikám, jako jsou úroveň objemové i jakostní produkce, odolnost ke sněhovému tlaku, námraze aj.” Ke klasickým pracím v tomto oboru patří především studie Schotte (1910) a Langlet (1936/37) o fyziologické variabilitě borovice lesní ve vztahu ke klimatu. Tyto práce se vztahují na populace borovice lesní ve Skandinávii. Významné informace přineslo mimo jiné zhodnocení výzkumných ploch s borovicí lesní série IUFRO, které byly synteticky zpracovány (např. Geirtych, 1979, 1986).

V rámci první provenienční série IUFRO s borovicí lesní založil G. Vincent se spolupracovníky 3 výzkumné provenienční plochy (1939-40) a to na školním polesí Hůrka lesnické školy v Písku a dále na Třeboňsku na lokalitách Zámecký a Mláka (Mimra, 1950). Práce orientované na problematiku genetiky a šlechtění rodu *Pinus* započal v padesátých letech 20. století v ČR K. Kaňák. Výsledkem těchto aktivit je mimo jiné založení sbírky sortimentu druhů a dílčích populací rodu *Pinus* (Arboretum Sofronka v Plzni - Bolevci) a též výsadba řady provenienčních výzkumných ploch s borovicí lesní. Jde jednak o plochy v rámci objektu Sofronka, a dále o paralelní plochy v oblasti Týniště nad Orlicí, Mláka u Třeboně, Brandýsa nad Labem aj. Na plochách je soustře-

děň soubor proveniencí z různých zemí Evropy včetně proveniencí z České republiky. Specifickou sbírku představují potomstva populací z řady oblastí bývalého SSSR, které jsou ve výsadbě zastoupené ve značném počtu. Podrobný přehled o historii provenienčního výzkumu borovice lesní v souvislosti s územím ČR podal Kaňák K. (1974, 1979, 1980, 1982, 1983). Zhodnocení proveniencí borovice lesní z různých zemí Evropy a z ČR zastoupených na provenienčních plochách založených v ČR poskytuje informace o obecných tendencích proměnlivosti této dřeviny ve spektru ekologických podmínek České republiky. Plochy s borovicí lesní jsou doplněny experimentálními výsadbami řady dalších druhů rodu *Pinus* nejen v arboretu Sofronka, ale i na mnoha dalších lokalitách v ČR, mimo jiné např. v imisních oblastech Krušných hor (Kaňák K., 1984). V posledních letech se zejména v souvislosti s aktivitami výzkumného pracoviště VÚLHM Plzeň-Bolevec uskutečnily další výsadby s potomstvy borovice lesní, sledující některé specifické cíle (ověřování porostů uznaných ke sklizni semenného materiálu, ověřování semenných sadů testy potomstev, ověřování rodičovských stromů). Výsadby některých cizokrajných druhů rodu *Pinus* sledují možnosti využití zejména v oblastech s výraznou imisní zátěží (Kaňák K., 1986, 1987, 1988a, 1988b, 1990 a 1993).

Zhodnocení výzkumných provenienčních ploch s borovicí lesní z různých zemí Evropy i ČR poskytuje celkové informace o obecných tendencích proměnlivosti, především pokud jde o výškový a tloušťkový růst, objemovou produkci, jakost (tvárnost) kmene a utváření koruny. Provenience z ČR zastoupené (v relativně malém počtu) v mezinárodních pokusech se chovají zejména z hlediska rychlosti růstu a velikosti objemové produkce většinou intermediárně. V posledním období se studiem proměnlivosti rodu *Pinus* včetně borovice lesní zabývá především J. Kaňák; např. Kaňák et Nárovcová (2004 a 2005) (Šindelář, 2007).

1.6 Šlechtění a výzkum borovice lesní ve světě

1.6.1 Genetická odezva na selekci, genová diverzita

Dag Lindgren a jeho spolupracovníci se obsáhle věnovali studiu důsledků selekce na genetickou diverzitu v generaci potomstev. U produkčních populací lesních dřevin je maximální důraz kladen na maximalizaci odezvy na selekci. Na rozdíl od toho, požadavek na aditivní genetický rozptyl a omezený stupeň příbuznosti je vysoký ve šlechtitelských populacích.

Kjær et Wellendorff (1998) uvedli odhady efektivní velikosti populace (Status Number) u semenného sadu s devíti klony v Dánsku. Produkce šišek byla zaznamenávána od začátku jeho plodnosti v r. 1956 až do r. 1977. Efektivní velikost byla nižší v průběhu časné fáze produkce šišek, ale dosáhla vysoké úrovně, když byl sad plně produkční.

Olsson et al. (2000) provedli hypotetickou selekci 20 stromů mezi 4960 stromy v pokusu s plnosesterskými potomstvy ve stáří 26. Byly srovnávány dva typy selekce:

- GMS (Group merit selection) (Lindgren et Mullin, 1997) - maximalizace genetického zisku při zachované požadované genetické diverzitě,
- RN (Restricted number of selections per parent) - selekce s předem stanoveným počtem jedinců v potomstvu (totožným pro všechna potomstva).

Při GMS dochází k hledání optimálního poměru mezi genetickým ziskem a genovou diverzitou, tj. nejčastěji jde o maximalizaci odezvy na selekci bez vysokého stupně příbuznosti. Selekcce více než jednoho stromu stejného rodiče způsobuje zvýšení stupně příbuznosti.

Selekce podle RN znamená, že každý rodič může být selektován pouze násobkem dané sady. V této studii byla $RN = 3$. Schéma křížení (tzv. Kempthorne a Curnow schéma) zahrnovalo 8 kříženců rodičů. Průměrná výška byla 7.06 metrů, aditivní (genetický) rozptyl byl 29.6 a neaditivní (genetický) rozptyl byl 15.4. GMS dovoluje selekci

4 stromů ze tří rodičů s nejvyššími šlechtitelskými hodnotami, zatímco podle RN metody by mohly být selektovány jen 3. Toto je jeden z důvodů, proč je GMS efektivnější ve šlechtění než RN. Mělo by se vzít v úvahu, že rodiče 14-17 a 19 nebyli vůbec zahrnuti. Jedním z důvodů možná je to, že schema křížení zahrnovalo každého rodiče 8x, tedy v tomto pokusu potomstev neexistuje potenciálně dobré křížení. I když GMS je dokonalejší než RN metoda, rozdíl není podstatný. Šlechtitelská hodnota po selekci se odhadovala na 8.59 dm pro GMS a 8.26 dm pro RN.

Hlavními předpoklady selekce klonů s nejvyšší šlechtitelskou hodnotou pro založení nového semenného sadu se zabýval Lindgren et al. (2004). Cíl pro semenný sad byl formulován následujícím způsobem: bohatá produkce osiva vysoké genetické kvality bez nadměrného úbytku genetické diverzity.

Byly analyzovány 4 alternativy:

- maximalizace užitku semenného sadu (100),
- prahový přínos klonu (Clone benefit truncation) (87),
- prahová šlechtitelská hodnota (86),
- lineární zastoupení (76).

Přínos z klonového semenného sadu je autory definován jako:

$$B_i = p_i s_i (g_i - g_o) \quad (1)$$

kde p_i je procentické zastoupení klonů v semenném sadu, s_i je plodnost, $g_i - g_o$ je rozdíl v kvalitě semen.

Lineární rozmístění znamená, že počet ramet klonu je lineární funkcí k jeho šlechtitelské hodnotě. Byly analyzovány údaje o plodnosti a šlechtitelské hodnotě ze semenného sadu s 41 klony. Výsledky výpočtů jsou uvedeny v závorkách nahoře s hodnotou 100 pro maximalizaci sadového užitku. Bylo neočekávané, že lineární zastoupení je nejslabší alternativou (Lindgren et al. (2004)).

Použitý příklad lineárního zastoupení popsal Fries et al. (2008). 28 klonů bylo vybráno na základě šlechtitelských hodnot a proměnlivosti v kvetení a semenný sad byl založen v 1991. V roce 2007 bylo 16,1% roubovanců uhynulých a 0,9% roubovanců bylo potlačeno přerostlou podnoží. Toto schéma dobře ilustruje význam lineárního zastoupení s podílem klonů se shodnou šlechtitelskou hodnotou a beroucím v úvahu kvetení. Úhyn a náhrady přerostlých podnoží neměly velký vliv na proporce, jak je vidět z vysoké hodnoty R^2 . Po selekci 20 klonů s nejvyšší šlechtitelskou hodnotou by byla šlechtitelská hodnota navýšena o 1.6% oproti původnímu zastoupení klonů. Zvýšení věku na 16 let by znamenalo další navýšení o 6.2% jestliže by byl naplněn původní záměr lineárního zastoupení. Tato hodnota se současnou klonovou stavbou snížila na 5,7%. Tento použitý příklad ukazuje výhody lineárního zastoupení.

Fedorkov et al. (2005) použil pro selekci údaje o výšce desetiletých stromů (potomstva z volného sprášení) sdružených v testovací výsadbě. Průměrná výška byla 3.2 metrů a selekce na prahovou hodnotu byla uskutečněna v intervalech po 0,1 m v intervalu od 2 do 3,5 m. Byl započítáván počet potomstev a stromů v každém intervalu. Podobně byly započteny: početní stav, genetická diverzita, koeficient inbreedingu, rozlišovací selekce a genetický zisk. Heritabilita byla odhadnuta na 0,18 a genetický zisk v procentech se pohyboval mezi 1,9 a 10% nad studovanou prahovou hodnotou. Nedošlo k dramatické ztrátě potomstev z osmi prvních selekčních hladin (intervalů) 2.0-2.7. Jen 14 potomstev bylo vyřazeno na selekční hladině 2,7 m. V důsledku toho většina vyřazení se uskutečnila v rámci potomstev, což ve výsledku mělo také vliv na omezené ztráty početního stavu v nižších selekčních hladinách (intervalech). Fedorkov et al. (2005) také poukázali na to, že koeficient inbreedingu zůstává konstantní nad největším rozsahem započítávaných genetických zisků, jen na dvou nejvyšších úrovních zisku koeficient osciluje kolem konstantní hodnoty 0,0015.

1.6.2 Šlechtění a ekonomika

El-Kassaby et al. (2007c) vyvinuli program k optimalizaci semenné produkce se zřetelem na:

1. velikost semenného sadu,
2. spon,
3. náklady na založení a vedení semenného sadu,
4. náklady na sklizeň a luštění šišek,
5. roční genetický zisk generovaný šlechtitelskou populací a dostupný pro nové semenné sady,
6. vliv pylové kontaminace,
7. hodnota osiva vyjádřená jako funkce jeho genetické kvality,
8. první a poslední rok provozu semenného sadu.

Ve své kalkulaci zisku započítávali sklizeň šišek, začínající od 8. nebo 15. roku věku, se 400 a 600 roubovanci na hektar. Počátek sklizně u sadů ve věku 8 let byl lepší než počátek ve stáří sadu 15 let. Tato vyšší kvalita s věkem poněkud klesala. Maximum zisku bylo dosaženo ve věku semenného sadu 25 let (u sadu s počátkem plodnosti ve věku 8 let) a ve věku 30 let (u sadu s počátkem plodnosti v 15 letech). Zisk byl jen okrajově ovlivněn počtem roubovanců na hektar (400 nebo 600).

Lindgren et Prescher (2005) vyvinuli model k maximalizaci jakostních měřítek pro zakládání semenných sadů s testovanými klony, do kterého začlenili 10 odlišných proměnných pokrývajících většinu důležitých faktorů pro zakládání sadů, jako je: plodnost, samoopylení, genetická diverzita, korelace mezi vybraným znakem a cílovým znakem

apod. Našli poměrně široké optimum kolem 16 klonů. Tento počet je založen na stejném rozmístění klonů, což podle autorů nemusí být optimální. Dále autoři zmiňují, že vyšší počet klonů je opodstatněný jako pojistka proti uhynutí roubovanců a také proti pozdějšímu nástupu plodnosti některých klonů.

Podle výsledků 66 testů v 17 sériích potomstev v jižním Švédsku provedl Hannrup et al. (2007) srovnání ekonomického zisku, který může být získán ze dvou typů testování potomstev a fenotypové selekce. Byly stanoveny dva typy testování potomstev, základní testování a intenzivní testování. Některá opatření se vyskytují pouze u jednoho typu selekce. Pěstování potomstev ve velkých nádobách se aplikuje pouze při intenzivní selekci. Základní vzorec užívaný pro kalkulaci ročního zisku, APr , je:

$$APr = (DTm - C)/L \quad (2)$$

kde DTm je výnos z použití šlechtěného materiálu, DT je změna vlastností (znaků) šlechtěním, m je koeficientem vyjadřujícím přeměnu hodnoty zisku do měnových jednotek, C jsou náklady na šlechtění (výdaje), L je výtěžek šlechtitelského cyklu.

Tento zdánlivě jednoduchý vzorec závisí na poměrně složitém odvození genetického zisku, založeného na výsledcích 66 testů potomstev, právě tak jako na ocenění jednotlivých činností. Použité modelování odhalilo, že fenotypová selekce přináší nejvyšší maximum ročního zisku. Vyšší selekční intenzita může být použita ve fenotypové selekci spíše než ve dvou alternativních typech testování potomstev. Kratší generační přeměna šlechtitelské populace u fenotypové selekce je dalším faktorem přispívajícím k jejím přednostem. Tyto faktory převážily méně důležitou přesnost výběru ve fenotypové selekci než v alternativních typech testování potomstev. Maxima ročního zisku ve vztahu k ročním investicím bylo dosaženo na nižší úrovni fenotypové selekce (4.800,- Euro) než ve dvou alternativních typech testování potomstev. Intenzivní alternativa testování potomstev dosáhla nejlepších výsledků při nejvyšší investiční úrovni. Je na místě podotknout, že vztah mezi ročním ziskem a investiční úrovní byl velmi podobný

u všech tří možností.

Byla porovnávána optima roční investiční úrovně s níže uvedenými proměnnými:

- počet kandidátů z plnosesterských potomstev,
- počet potomstev z kandidátů a testovaná lokalita,
- počet testovaných lokalit.

V obou variantách testování potomstev byl rovnoměrný nárůst počtu kandidátů z potomstev se vzrůstající investiční úrovní. Nárůst byl strmější v základní alternativě testování potomstev jako důsledek nižších nákladů na kandidáta v této alternativě. Podobný vývoj byl shledán v počtu testovaných lokalit oproti roční investiční úrovni. Základní stupeň (úroveň) testování potomstev měla za následek lehce strmý vzrůst počtu testovaných lokalit než intenzivní alternativa. Počet potomků na kandidáta klesl do spodního pásma ročních investic, přibližně 10.000 Euro v intenzivní alternativě a 5.000 Euro v základní alternativě. Na vyšších investičních úrovních byl velmi pomalý pokles optimálního počtu potomků na kandidáta. Závěr této studie je, že *fenotypová selekce může být efektivnější testovací metodou než testování potomstev borovice lesní v jižním Švédsku.*

Je zcela evidentní, že úroda semen určitého semenného sadu je optimální pouze pro určitá stanoviště, na kterých je produkce biomasy jedinců z tohoto osiva maximalizována. Lindgren et Ying (2000) vyvinuli model ke zhodnocení potenciální ztráty v lokalitách s rozdílnými vzdálenostmi od tohoto optima, který tuto ztrátu kvantifikuje. Tento model byl testován na údajích z provenienčních pokusů v severním Švédsku. Jak se ukázalo na dalších místech, oba přenosy, šířkový i výškový ovlivnily populační výkonnost. K odhadu vzdálenosti použili autoři stejnou zeměpisnou šířku, která v sobě zahrnovala výškový transfer. Dochází k procentuální ztrátě na okraji semenné oblasti, stejně jako v celé oblasti. Tato ztráta je významná ve větších vzdálenostech od optima

a to negativně ovlivňuje produkci v celé oblasti. Hannerz et Ericsson (2008) představili počítačový program, který dovede vlastníky lesů k výběru vhodného materiálu ke znovuzalesnění.

1.6.3 Shrnutí kapitoly

Výsledky, pokud jde o genetické odchylky v produkci samičích a samčích šištic, kolísají od nulových odchylek k vysloveným rozdílům. A podobně, korelace mezi samičími a samčími šišticemi je značně proměnlivá. V jednom semenném sadu byl rovnoměrný nárůst samičích šištic do věku 30 let a věková korelace byla vysoká od věku 15 let. Plánování kvetení v semenném sadu založené na odhadech z výběrových stromů nebo klonových archivů nebylo úspěšné. Nebyl zjištěn žádný vztah mezi pylovou produkcí a podílem nevyvinutých šišek. Korelace mezi růstem na jedné straně a produkcí samičích a samčích šištic byla v některých případech vysoká. Pylové směsi s různým procentuálním zastoupením samoopylení měly za následek velké odchylky v počtu nevyvinutých semen. Stejněměrný byl nárůst se zvyšováním procentuálního zastoupení samoopylení, od 27% při křížení do 72% při samoopylení.

Odhad zárodečných úmrtí navozuje různé problémy, například aborci podmíněnou životními podmínkami. Více než jedna zygota ve vajíčku způsobuje embryonální konkurenci. Metoda, která byla vyvinuta, bere v úvahu tyto předpoklady, které vyúsťují v poněkud nižší odhady embryonálních úmrtí než je tomu u jiných metod. Podíl vzdáleného křížení v klonových semenných sadech byl obecně vyšší, více než 90%. Kvetení po stimulaci gebereliny 4 a 7 bylo významně vyšší než v kontrolním vzorku. Roubování zvýšilo četnost samičího i samčího kvetení. Simultánní ošetření gebereliny zlepšilo významně samičí kvetení. Odhady pylové kontaminace v semenných sadech značně kolísají, ale většina odhadů je vysoká: 50% nebo více. Byla zjištěna středně vysoká korelace mezi fenologií kvetení a kontaminací s nevyšší kontaminací ve většině pokročilých stadiích. Pylová klíčivost zůstávala docela dobrá do 48 hodin po UV ozáření.

Dopad pylu (záchyt) významně klesal z 5 m od zdroje do 35 m, kdy se přiblížil k nule.

Výsledky zohledňující doplňkové hromadné opylení nejsou pro aplikaci ve šlechtění příliš povzbudivé. Celkové očekávané zhodnocení mýtních stromů při jejich zpracování musí být mnohem vyšší, aby ospravedlňovalo mimořádné výlohy na pylovou extrakci, stejně tak jako na SMP (dodatečné hromadné sprášení semenného sadu pylem). Přijatelné by mohlo být pouze použití pylu z extrémně výtečných klonů ke zvýšení hodnoty semenné úrody v semenných sadech.

Diskuse o ideotypovém pojetí selekce ve šlechtění se uskutečnila ohledně finské borovice (Kanerva pine) s úzkou korunou a kolmými úhly větví, dosahující dobré produkce. Závěr této studie byl, že selekce tohoto ideotypu může zvýšit šlechtitelský zisk.

Šlechtění je ve většině případů uskutečňováno podle systému tzv. „*Multiple Population Breeding*” se subpopulacemi rozmístěnými dle významných gradientů životního prostředí nebo dle specifických cílů selekce. Očekávané významné zisky předpokládají založení a provedení testů potomstev. Ve dvou zprávách byl studován průměrný rozdíl mezi potomstvem semenného sadu a kontrolní výsadbou ve věku 9-33 let v 11 sériích testů potomstev. Hodnota zisku u potomstev semenných sadů byla odhadována na přibližně 20%. Významné zjištění, vyplývající z této studie je, že nebyl zaznamenán žádný rozdíl v přežívání sazenic mezi potomstvy výběrových stromů a kontrolními potomstvy.

Během nedávných let bylo z rozsáhlého švédského šlechtitelského programu získáno několik slibných výsledků. Pro severní Švédsko se ukázalo, že potomstva výběrových stromů neměly horší ujímání sazenic než potomstva lesních porostů. Navíc se ukázala velká přednost selektovaného materiálu ve výškovém růstu. Fenotypový výběr poskytoval větší roční zisk než testování potomstev v jižním Švédsku při stejných investicích.

To se připisuje vyšší intenzitě selekce a kratší generační přeměně (generační, vývojové změně), jestliže je aplikován fenotypový výběr. Byla zjištěna vysoká korelace mezi časnou výškou stromů ve stáří 10 let a objemem jedinců v testech na parcele o velikosti 6×6 stromů přibližně ve věku 30 let.

Skupina lesnických genetiků z univerzity v Umeå, pod vedením prof. Daga Lindgrena, věnovala mnoho času několika faktorům důležitosti před výběrem klonů pro novou generaci semenných sadů. Na základě údajů z existujících testů potomstev byly v různých studiích zahrnuty různé druhy selekce, lineárního zastoupení, GMS selekce, omezený počet výběru rodičů, stupeň příbuznosti a produkce semen. Ačkoliv aplikované šlechtění může výtěžit z těchto studií mnoho užitečných informací, prezentovat z nich nějaké obecné výsledky není možné.

1.7 Péče o genofond

Není mnoho prací, které se věnují praktickým problémům při péči o genofond borovice lesní (Ennos, 1991; Pliura et Eriksson, 1997; Ennos et al., 1998; Rusanen et al., 2004). Důvodem je pravděpodobně její značné rozšíření a rozsáhlá vnitropopulační i mezipopulační variabilita. V této souvislosti je důležité zmínit tzv. „Multiple Population Breeding System” (MPBS), vyvinutý Gene Namkoongem a jeho spolupracovníky, který kombinuje ochranu genofondu a šlechtění v rámci komplexního programu péče o genofond (Namkoong et al., 1992).

Souhrnné diskuse o této metodě publikoval Eriksson et al. (1993). Podstatou této koncepce je, že genové populační zdroje jsou dále rozděleny do přibližně 20 subpopulací, každá nejméně s 50 stromy, přispívajícími k další reprodukci. Subpopulace by měly být rozmístěny vyváženě na lokalitách se všemi stanovištními podmínkami. To by mělo vést ke zvýšení rozdílů mezi subpopulacemi v průběhu jednotlivých šlechtitelských cyklů. S efektivní velikostí populace 50 stromů bude pokles aditivního genetického rozptylu přibližně 1% za generaci, což se považuje za uspokojivě nízké a do velké míry lze očekávat saturaci této redukce přirozeným mutačním tlakem v populaci. Hlavní výhodou MPBS je to, že se zde kumuluje celková genetická variabilita populací. Rozdělením na jednotlivé subpopulace je možné zajistit diferencovanou adaptaci zdrojových populací na řadu změn v životním prostředí. Tyto dílčí populace poskytují reprodukční materiál

pro obnovu lesa v zájmovém území, kde je možné dále dynamicky reflektovat požadavky lesních hospodářství, ochrany přírody atd. Další výhodou je, že rychlost evoluce je v tomto systému rychlejší než ve velké (nestrukturované) populaci.

Pliura et Eriksson (1997) argumentovali pro dynamický program péče o genofond *Pinus sylvestris* v Litvě podle MPBS metody. Litva je malá země, ale nachází se tam šest přírodních lesních oblastí. Autoři zmiňují nestejněměrné rozšíření stromů ve šlechtitelské populaci, což znamená, že dodatečná selekce musí být uskutečněna jen v některých z těchto oblastí. Pro budoucí péči o genofond bylo navrženo, aby v každé ze šesti šlechtitelských zón byly založeny dvě testovací výsadby. Měly by být přednostně lokalizovány na místech s různými stanovištními podmínkami uvnitř každého regionu. Syntetičtí kříženci mezi 50 stromy uvnitř každé subpopulace budou použiti k vytvoření nové subpopulace z kombinovaného křížení a genové konzervace. Pro péči o genofond doprovodných dřevin, tj. dřevin, které jsou svou existencí závislé na *P. sylvestris* bylo navrženo, aby šlechtitelsko-konzervační populace byla doplněna o 200-300 hektarů zdrojové genové populace. Podle Pliury et Erikssona (1997) *by tyto zdrojové genové populace měly být vybrané a řízené tak, aby byla maximalizována diverzita uvnitř populací i mezi nimi*. Tedy různé věkové třídy a různorodá stanoviště by měly být cílem u každé velké populace. Vyjma velkých živočichů by tyto velké populace měly vyhovovat péči o genofond většiny skupinových druhů.

Ve své práci uvedli Rosvall et al. (2002), že jedním z cílů šlechtění ve Švédsku je zachovat a reprodukovat existující genetickou variabilitu. Šlechtitelský program je prováděn podle MPBS systému. Eriksson et al. (2006) rozdělili péči o genofond mezi různé druhy stromů v závislosti na jejich rozšíření, genetické proměnlivosti a jednotlivých šlechtitelských cílech. Použili *P. sylvestris* jako příklad druhu dřeviny, která je objektem intenzivního šlechtění a jako příklad druhu, u kterého dobře známe jeho genetickou strukturu. Bylo uvedeno, že daný MPBS bude zahrnovat většinu genetických odchylek druhu. *Komplementace (případně začlenění genofondu ze sousedních popu-*

lací) s populacemi v okrajových oblastech, nezahrnutými do šlechtitelských aktivit by mohla být odůvodněná i prakticky realizovatelná.

Rusanen et al. (2004) prezentovali finský program péče o genofond. Pro druhy dřevin s velkým areálem rozšíření a rozsáhlými populacemi se doporučuje rozloha nejméně 100 hektarů pro každou zdrojovou genovou populaci. Zdrojová genová populace by neměla být situována blízko uvedené populace cílového druhu. Pro 24 genových základů *P. sylvestris* pokrývajících klimatické oblasti ve Finsku jsou cílem plochy o celkové rozloze 5.200 hektarů. Taková objemná zdrojová genová populace by měla zaručovat opylení hlavně uvnitř zdrojové populace. Každá populace by měla přednostně obsahovat různé věkové třídy a je v ní doporučena přirozená obnova. V roce 2004 bylo založeno dvacet dva zdrojových genových populací o celkové rozloze 4700 hektarů. Koski, který vyvinul uvedenou strategii ve Finsku ve své hlavní práci z roku 1996 (Koski, 1996) zdůraznil, že tento druh ochrany genofondu se příliš neliší od tradiční péče o lesy. Navíc zdůraznil, že přirozená obnova ve zdrojové genové populaci je naléhavá.

Borovice lesní se ve Skotsku vyskytuje v rozptýlené populaci na přibližně 11.000 hektarech (Ennos, 1991). S poměrně velkými klimatickými rozdíly mezi západním a východním Skotskem není překvapující, že jsou zde velké mezipopulační rozdíly, pokud se týká růstu a tolerance k chorobám (Ennos, 1991). Ennos (1991) usuzoval, že zdejší borovice má původ v nejméně dvou odlišných genofondech. Navzdory velké redukci jejího počtu bylo konstatováno, že nedávná těžba neměla vliv na její genetickou variabilitu v markerech nebo v systému křížení (*mating pattern*). Uvažovalo se, že síla selektivního těžebního zásahu by mohla mít vliv na kvantitativní vlastnosti. Tok genů z výsadeb by mohl mít vliv na genetickou strukturu malých populací. Na základě těchto faktů a spekulací bylo rozhodnuto, že k tvorbě nové zdrojové genové populace by měla být použita vždy populace místního původu. Jedním z cílů obnovy těchto nových populací genových zdrojů je zvýšení jejich počtu. Problémem je, pokud jde o ochranu genofondu, že místní populace často rostou blízko výsadeb, které mohou pocházet z

lokalit často neznámého původu. Článek byl uzavřen konstatováním, že výzkum by měl provést identifikaci výsadeb populací stejně tak, jako odhadnout tok genů z populací původních. Navrhovaná konzervace je typem MPBS konzervace, ale bez jakýchkoli upřesnění počtu subpopulací, potřebných pro ochranu skotské *Pinus sylvestris*.

Forrest et Fletcher (1995) publikovali spíše polemickou práci o ochraně genofondu, založené na zkušenosti s ochranou domácí borovice *Pinus sylvestris* ve Skotsku. Především zdůraznili, že dynamická povaha původních populací a tím i „genetická integrita“, na kterou jsou zaměřeni mnozí navrhovatelé ochranných strategií je bezvýznamná díky dynamice v přírodě. Připomněli, že malá populace nemá pro záchranu genofondu žádný význam kvůli možnému inbreedingu v minulosti. Tento typ populace byl některými ochránci přírody považován za „nedotknutelný“. Spíše než nákladné množení každého stromu v takové malé populaci Forrest et Fletcher (1995) navrhuji *obohacení* genofondu. Zdůrazňují, že genový tok z ostatních populací do těchto malých populací může být žádoucí, protože bude zlepšovat možnosti takovéto populace v případě změn životního prostředí v budoucnu. Nenavrhují žádnou specifickou strategii, ale uvádějí, že strategie péče o genofond by měla zohledňovat základní genetické principy.

Ennos et al. (1998) důkladně probírali ochranu genofondu původních druhů ve Skotsku. Tato diskuse zahrnovala management a legislativní otázky a o obojích se pojednává dále v této práci. Spíše než jasné formulace cílů ochrany byly vzneseny nové otázky:

- Jaké populačně-genetické jednotky jsou vhodným cílem pro péči o genofond?
- V jakém rozsahu jsou skotské lokální provenience adaptovány na místní podmínky?
- Jaký je vliv lidských aktivit na genofond?
- Jaké jsou výhody a náklady spojené s ochranou genofondu v různých lesních typech?

Zdá se, že *Pinus sylvestris* je jediný původní druh dřeviny ve Skotsku, který byl geneticky studován v celém rozsahu. Autoři v opozici Forrestovi et Fletcherovi (1995) nabízejí důvody, proč se zaměřit se na ochranu skotské populace. To je docela evidentní z následující věty:

„Nicméně není potřeba odstraňovat nepůvodní materiál, který se jeví jako dobře adaptovaný, vyjma toho, kdy je záchrana genofondu základním cílem hospodaření“.

Argumentem k tomu bylo přesvědčení, že původní populace byly dlouhodobě vystaveny podmínkám životního prostředí ve Skotsku a tím se staly lépe adaptovanými než cizí (nepůvodní) populace. V souladu s tím autoři uvádějí, že nepůvodní populace jsou zpravidla méněcennější než populace původní. To potvrzují i provenienční pokusy, obvykle zahrnující populace původem z různorodých klimatických podmínek. Avšak možná hybridizace by se měla zaměřit na ty populace, které jsou lepší než původní a ne na všechny populace z celého areálu druhu. Podle Ennose et al. (1998) může být oprávněně povoleno hybridizaci s cizími populacemi pouze v případech významných genetických rozdílů ve zdrojové genové populaci. Podobně, když je cizí (nepůvodní) materiál lépe adaptovaný na budoucí klimatické podmínky, mohl by být zahrnutý do programu ochrany genofondu. Autoři uvádějí, že genetická odchylka by mohla být důležitá, jestliže počet šlechtitelských stromů by byl menší než 50 pro mnoho generací a když uvnitř populace bude nedostatečný tok genů. Šlechtění *P. sylvestris* ve Skotsku dále nepokračuje, tudíž péče o genofond populací *in situ* v rozdílných podmínkách životního prostředí je pouze metodou doporučenou.

1.7.1 Shrnutí kapitoly

Ochrana genofondu *Pinus sylvestris* v Litvě a ve Švédsku je uskutečňována v kombinaci se šlechtěním. Byl doporučen systém MPBS s malou efektivní velikostí populace o rozsahu 50 stromů v každé z klimatických zón. Pro oblasti, ve kterých není uskutečňováno šlechtění, musí být ustavena dodatečná (*pomocná*) zdrojová genová populace.

Aby bylo vyhověno cílům ochrany genofondu „doprovodných“ druhů, měly by být vybrány trochu větší zdrojové genové populace. Zmiňovaný finský program může být také označen jako MPBS, ale v tomto případě by každá subpopulace měla být alespoň 100 hektarů. Důvodem proto je hypotéza, že existující místní domácí populace jsou dobře adaptované na podmínky prostředí a jejich kontaminací z cizích zdrojů se bude redukovat stávající adaptabilita. Podobně odůvodňují stejný názor někteří skotští vědci a v ochraně genofondu se soustřeďují na domácí populace. Avšak jiní skotští vědci jsou nakloněni k začlenění cizích populací, aby se snížila pravděpodobnost genetického driftu. Ve většině programů bylo patřičně zdůrazněno, že obnova zdrojových genových populací je nezbytná. Metody ochrany genofondu by měly odpovídat cílům, které jsou často nejasné. Nedostatek jasně formulovaných cílů v péči o genofond lesních dřevin v některých případech značně komplikuje výběr vhodné praktické strategie.

1.8 Genetika a lesnictví

Ackzell (1993) a Ackzell et Lindgren (1994 a, b) studovali ujímání a růst sazenic z odlišných semenných zdrojů, přičemž sledovali výsev nebo výsadbu lesního porostu pod semennými stromy a na sousední pasece. Důvodem bylo studovat, jakou roli hraje genetika při zalesňování drsných oblastí severního Švédska. Autoři hodnotili ztrátu (úbytek) sazenic od počátku experimentu do věku 11 let procentem přežívajících, stejně tak jako procenta plochy $2 \times 2 \text{ m}^2$ bez přežívajících sazenic. Z jejich práce mohou být koncipovány následující závěry:

- výsadba vede k nižší mortalitě než výsev,
- mortalita je vyšší pod semennými stromy než na pasekách ,
- lokální semenné zdroje nejsou to nejlepší z hlediska ujímání sazenic,
- hodnocení genetických údajů (vstupů) je stejné pro oba způsoby studia ujímání sazenic.

Procento mortality po výsevu bylo kolem 90% a tudíž vyšší než po výsadbě, kde mortalita kolísala v rozsahu 9-64%. Potomstva jižních semenných sadů měla nejvyšší mortalitu, což se „díky přenosu na sever“ očekávalo. Potomstvo původem ze severských semenných stromů mělo nižší mortalitu díky svému původu (ze severu, vyšší nadmořská výška). Je třeba zmínit, že mortalita v uvedené sledované lokalitě může pokračovat dalších deset let.

Z výzkumu je jasné, že výsadba ve srovnání s výsevem vede ke kvalitnějšímu růstu stromů. Kromě toho je růst lepší na pasece než pod porostem semenných stromů. Je třeba zdůraznit, že nebylo dostatek informací o výsadbách pod porostem semenných stromů ze severních semenných sadů. Podobně i růstová data severních lesních porostů byla udávána jen pro paseky.

Byl proveden individuální sběr semen z 20 volně opylovaných semenných stromů. Tato semena byla použita ve dvou opakováních a koeficient pro aditivní odchylku pro výšku byl odhadnut na 1.4% a vliv rodičovského stromu (*family effect*) nebyl signifikantní (Ackzell et Lindgren, 1994b).

Wennström et al. (2007) studovali na pěti testovacích plochách v severním Švédsku (64.25-64.30°N) a pěti testovacích plochách jižního Švédska (60.90-61.22°N) rozdíly v založení výsadby výsevem semen z lesních porostů a z úrody semenných sadů. Osivo semenných sadů bylo získané ze šesti severních a šesti jižních sadů. Pro srovnání bylo použito i osivo ze šesti severních a pěti jižních lesních porostů. Výsevy byly prováděny po dobu pěti po sobě následujících let. S ohledem na založené kultury ve věku 1 a 4 roky, největší výšku sazenice a přežití narašených sazenic bylo osivo ze semenných sadů lepší ve srovnání s osivem z lesních porostů. Také ve výsadbách byly lepší sazenice ze semenných sadů, které měly převahu ve výšce okolo 9%. Ačkoliv přežití sazenic bylo posuzováno v mladém věku, výsledky pro šlechtění jsou slibné.

Finské srovnání dvou výnosů, ze semenných lesních porostů a pěti úrod ze semenných sadů s ohledem na založení výsadeb a růst po výsadbě, neukazuje žádné rozdíly

v založení, ale ve věku 3 let mají kvalitnější růst sazenice původem ze semenných sadů (Ruotsalainen, 2008).

Vliv váhy semen a vliv původu semen (semenné sady nebo porosty) na růst sazenic po výsevu ve školce studoval Wenstrom et al. (2002). Sazenice ze semenných sadů byly o 2% vyšší a o 17-29% těžší než sazenice z lesních porostů po korekci hmotnosti semen ve školce. Bez této korekce byly sazenice ze semenných sadů přibližně o 7-13% vyšší a o 38-71% těžší. Také ve volné půdě se u sazenic původem ze semenných sadů projevoval vyšší růst, výška sazenic o 20-21% vyšší a objem kmínků o 44-95% větší.

Savolainen et Yazdani (1991) shrnuli údaje ze srovnávání mezi přírodními porosty a jejich uměle obnoveným potomstvem pomocí izoenzymů. První pár zahrnoval tři přírodní porosty a semenné sady ze severního Švédska. Pouze v páru číslo 2 byl rozdíl mezi umělou obnovou. V tomto případě byla embrya srovnávána s dospělými stromy. Když byly dospělé stromy srovnávány s 10-20 let starými stromy ve stejném porostu, nebyly shledány žádné rozdíly. Pár číslo 3 sestával ze sazenic vypěstovaných ve školce nebo z pozdější přirozené obnovy ve stejném porostu. Nakonec, pár číslo 4 sestával z osiva tří přirozených porostů a dvou semenných sadů. Savolainen a Yazdani uvedli, že absence rozdílů mezi uměle a přirozeně obnovenými populacemi byly předpokládány, protože použité izoenzymové markery byly podle očekávání neutrální.

Pomocí izoenzymových markerů (alel ve velmi nízkých frekvencích), studovali Yazdani et Lindgren (1992) alely rozptýlené v porostech semenných stromů s velmi nízkou hustotou, 18 stromů na hektar. Porost se nacházel na 65.48°N a 400 m n.m., což je drsná lokalita v severním Švédsku. Hypoteticky je možné předpokládat, že obnova v takovém porostu by mohla být problematická. Pět stromů obsahovalo jednu z následujících tří vzácných alel GOT-A1, LAP-A1 a LAP-B1. Všechny sazenice byly rozříděné v soustředných kružnicích o radiusu 5, 10 a 15 m. Z celkového počtu 431 sazenic pouze šest „neslo“ shodnou alelu. Kvůli tak nízkému počtu není možné s jistotou odhadnout rozptyl. Dodatečné studium bylo provedeno s dalším markerem, GOT-B1, který se

vyskytuje ve vyšší frekvenci než tři vzácně se vyskytující alely. Tyto alely se vyskytovaly u pěti stromů. U všech stromů vyjma jednoho je pokles v procentech s rostoucí vzdáleností od samičího rodičovského stromu (provedena genotypizace). Podle určitých předpokladů byl odhadovaný přínos potomstvu uvnitř kruhu o poloměru 5 metrů 25%. Uvnitř kruhu o poloměru 15 metrů tak nebylo předpokládáno více než 10% alel pocházejících z uvedeného rodičovského stromu. Je na místě podotknout, že odhady založené na nevzácných alelách jsou celkem problematické, protože pyl z velkých vzdáleností, přinášející GOT-B1 alelu, je těžké oddělit od GOT-B1 alely. Autoři také uvádějí, že velká část genů v obnově nepochází ze semenných stromů zastoupených v porostech. V půdě může existovat „semenná banka“, obsahující semena z již pokácených stromů původního porostu, která je zdrojem reprodukčního materiálu pro založení nového porostu.

Korshikov et al. (2007) udávali u jedné okrajové populace na Ukrajině vyšší heterozygotnost v rostlinách než v embryích.

1.8.1 Shrnutí kapitoly

V porovnání obnovních metod, výsevy oproti sázení, na pasekách a pod porosty semenných stromů bylo odhaleno, že sázení vede k nižší mortalitě než setí. Mortalita je vyšší pod porosty semenných stromů než na pasekách. Lokální semenné zdroje nejsou nejlepší z hlediska ujímání sazenic v tak drsných podmínkách, jaké byly na použitých výzkumných plochách.

Studie ukázaly, že osivo ze semenných sadů je lepší než osivo ze zakládaných porostů a výsadeb.

Na základě analýzy izoenzymů byly pozorovány nepatrné rozdíly mezi přirozeně a uměle obnovovaným rostlinným materiálem. Studie zabývající se obnovou v řídkých porostech semenných stromů (s nízkou denzitou) napovídá, že přibližně 25% sazenic v pětmetrovém kruhu kolem rodičovského stromu mělo svůj původ v tomto stromu.

Rozptýl alel klesá významně ve větších vzdálenostech, více než 5 metrů od rodičovského stromu.

1.9 Šlechtění a výzkum borovice lesní v ČR

První šlechtitelsko-výzkumné pokusy s borovicí lesní byly zaměřené na zvyšování produkce a jakosti a byly prováděny formou provenienčních pokusů. Jejich cílem bylo zjistit, jaké provenience mají nejvyšší produkci a kvalitu.

1.9.1 Provenienční výzkum

Provenienční výzkum byl od počátku zaměřen jako podklad pro pěstování lesů a vznikl jako přímý důsledek neúspěchu některých kultur, založených z importovaného osiva. Původní cíl provenienčního výzkumu, tj. zjistit, odkud se dá dovážet osivo bez rizika hospodářských ztrát na výnosu takto založených kultur, bylo pevně spjato s principy obchodu a zisku (Kaňák K., 1982).

První pokusy na našem území, v textu již zmiňované a zkoumající proměnlivost borovice lesní formou provenienčních pokusů, se datují na počátek minulého století a založil je výzkumný lesnický ústav ve Vídni - Mariabrunnu. Později, v letech 1938 až 1940, byly na území ČSR (v jižních Čechách na lokalitách Hůrka, Zámecký a Mláka) založeny pod vedením G. Vincenta tři dlouhodobé výzkumné plochy (Vincent et Polnar, 1953) v rámci mezinárodního provenienčního pokusu IUFRO.

Po 2. světové válce se význam provenienčních pokusů pro pěstování lesa pozvolna rozšířil o nové aspekty. Po mezinárodní konferenci o odrůdách lesních dřevin v ČSR v roce 1959, založení pracovní skupiny IUFRO pro provenienční výzkum a testování v roce 1961, sestavení mezinárodně dohodnuté metodiky provenienčních pokusů v Pont-á-Mousson v roce 1965 a po jejím schválení na kongresu IUFRO 1967 v Mnichově, se rozvinuly mezinárodně i individuálně organizované celoareálové sbírky vzorků osiva, k nimž daly nemalý podnět i spory o typ proměnlivosti borovice (Langlet, 1959; Tures-

son, 1936; Wright et Bull, 1963) a provenienční studie se pomalu rozšířily na studie genekologické a fyto geografické. Ty odhalují okolnosti vývoje areálů v postglaciálu, migrace, dotyky a introgrese s příbuznými druhy, vývoj ekotypů a speciace v izolovaných a marginálních subpopulacích druhů. Výsledkem těchto studií je v první řadě stanovení semenářské rajonizace, ale i objasnění evoluce druhu, jeho areálu a jeho pěstebně a průmyslově významných vlastností. Přitom se nahlíží na druh jako na součást ekosystému, což znamená uvažovat nejen nad vlivy půdy a klimatu, ale i podílem ostatních účastníků rostlinného společenstva na jeho evoluci.

V těchto případech už někdy nevystačíme s klasickými formami uspořádání provenienčních pokusů s monokulturami jednotlivých vzorků lokálních populací, vypreparovaných jak z jejich původního specifického prostředí, tak i z přírodního rostlinného společenstva, jehož horní patro a rostlinná pokrývka půdy mají zpravidla rozhodující vliv na utváření místního ekotypu studované dřeviny, proces jeho reprodukce i obnovy na místě.

Přesto, nemáme-li lepších možností, představují pro nás provenienční pokusy nebo výsadby v klasické podobě zatím jedinou formu, jejímž prostřednictvím je možné studovat blíže biologii populací hospodářsky i průmyslově významných druhů, hlavně z hlediska jejich růstových zákonitostí, ekologie, okolností evoluce a druhové strategie. Všechny tyto znalosti bezprostředně směřují k provoznímu využití v optimalizaci pěstební technologie a rozšiřují obzor vědomostí lesního hospodáře a šlechtitele o dřevinách, s nimiž pracuje. Nejpodstatnější jsou otázky, jak rychle působí přírodní výběr a křížení s okolními místními populacemi na adaptační populace v novém prostředí, jaké vlivy má dovezená populace na svoje okolí, ale i trendy růstu a jiných projevů a znaků jednotlivých stromů v populaci s přibývajícím věkem a další vnitřní zákonitosti populace (Kaňák K., 1982).

Vedle působnosti G. Vincenta v letech dvacátých až čtyřicátých (dobrovolná kontrola původu lesního osiva a sazenic, založení (již zmiňovaného) prvního mezinárodního

provenienčního pokusu s borovicí lesní série IUFRO v roce 1940) je výzkum borovice lesní a dalších druhů rodu *Pinus* spojen zejména se jménem K. Kaňáka. Tento autor navázal činnost v rámci výzkumného ústavu, v prvních letech jako pracovník výzkumné stanice v Opočně, na dřívější aktivity na lesnické fakultě v Praze a orientoval se v prvních etapách na problematiku zeměpisné proměnlivosti borovice lesní v České republice. Vedle hodnocení produkce a jakosti (tvárnosti kmene a koruny) byly získávány informace o fenologické proměnlivosti, variabilitě anatomických charakteristik jehlic. Po stránce metodické představovaly ve výzkumu v tehdejší Československé republice nový směr analýzy monoterpenů, které měly podat některé základní informace o geneticky podmíněné proměnlivosti populací i jednotlivých stromů borovice lesní. Dalším z významných výsledků studií o variabilitě borovice lesní byly návrhy tohoto autora na třídění lesních porostů podle fenotypových znaků do 4 kategorií. Tato koncepce byla později společně s dalšími informacemi využita pro zpracování návrhů na klasifikaci lesních porostů především pro semenářské účely (kategorie A, B, C, D) (Šindelář, 1992).

1.9.2 Některé zajímavé výsledky provenienčního výzkumu na Sofronce

Výzkumné práce s borovicí lesní na někdejší pracovišti VÚLHM v Plzni - Bolevci (Arboretum Sofronka) vycházely především z hodnocení provenienčních pokusů celo-areálové sbírky tohoto druhu na Sofronce a porovnáváním na paralelních plochách ve východních a jižních Čechách, které přinesly mnoho zajímavých výsledků. Jedním z nich je například objev center, odkud pocházely vzorky populací borovice lesní velmi rychle rostoucí i v paralelách provenienčních pokusů, založených i v jiných oblastech. Tato centra se totiž nachází v oblastech výskytu glaciálních refugií borovice lesní a podle dalších dokladů jsou příčinou vzniku jejich sekundárních vývojových center v postglaciálu.

Zajímavé výsledky byly získány při studiu náhorní až horské varianty borovice lesní,

jež je součástí klimaxových lesních společenstev v jižnějších krajinách (Balkán, Alpy, Pyreneje, Východní Kazachstán). Podle Mirova (1967) *Pinus sylvestris* v Evropě, právě tak jako *Pinus contorta* v Sev. Americe tvořily na konci třetihor řídkou příměs v bohatých listnatých společenstvech. Proto se u nás, v hercynské kotlině, kde přežila *P. sylvestris* v glaciálních refugích a po skončení glaciálu se rychle rozšířila do okolí, chová „zvláště v horských lesních společenstvech“ jako druh klimaxový (Kaňák K., 1999a).

Další zajímavé výsledky přinesly i práce zkoumající rytmus růstu populací různého původu. Hodnocení provenienčního souboru IUFRO 1938 ukázalo (Kaňák K., 1983), jaké jsou rozdíly mezi přírůsty v různém věku u nížinných a horských proveniencí a bylo konstatováno, že rytmus růstu horských typů „v mládí pomalu, později rychleji“ je u typů z nížin a pahorkatin právě opačný. To potvrdilo i poslední měření Kantora (Kantor, 1982) 3 ploch série IUFRO 1938 v jižních Čechách, kde pyrenejská provenience La Matte des Angles a místní provenience z Třeboně patřily po dlouhou sérii měření výškových hodnot v různém věku mezi poslední v pořadí, zatímco ve věku 44 let se obě společně objevily na prvních dvou místech (Kaňák K., 1999b).

Výsledky těchto výzkumů jasně prokazují, že posuzováním kvality sazenic podle jejich velikosti, tedy podle rychlosti růstu v mladém věku, se dopouštíme omylu, který nás bude stát ztráty na produkci v budoucnu. Nechtěně preferujeme totiž tu část populace, která má pionýrský charakter (tzn. rychlý růst v mládí, brzké ukončení růstu a časná fruktifikace, ale především nižší produkce), na úkor populace klimaxového charakteru (pomalejší růst v mládí, ale růst dlouhodobý, znamenající vyšší produkci). Tato selekce probíhá bohužel už ve školkách při třídění sazenic před jejich prodejem.

Zkoumáním rytmu růstu s věkem byla sledována také diference různých anomálií v různých souvislostech. Výsledkem měření výšek u různých proveniencí v různém věku byly diagramy, názorně ukazující, k jakým změnám může docházet uvnitř jednoho vzorku populace v rozmezí věku od 9 do 23 let (Kaňák J., 1994). Pohled na tuto nečekanou diverzitu může zpochybňovat i umělé výchovné zásahy do kultur v tomto

věku. I s hlediska přirozených vlastností dřevin se zdá, že naše dobře míněné zásahy do mlazin a tyčovin mohou být mnohdy až naivní a lesnickým cílovým záměrům dokonce škodlivé.

1.9.3 Ověřování uznaných jednotek - ověřovací pokusy

Také J. Šindelář založil v roce 1972 výzkumné plochy s borovicí lesní, ale jednalo se o sérii pěti ověřovacích ploch s potomstvy uznaných porostů borovice lesní původem z dnešních ČR a Slovenska. Podle něj představuje tento pokus „specifickou etapu prací ve výzkumu problematiky borovice lesní, neboť představuje ověření hospodářské hodnoty a adaptační schopnosti vybraných uznaných jednotek kategorie A” (Šindelář, 1981). To se však zdá být problematické, neboť ve vyhodnocení tohoto pokusu v r. 2005 se autor přiznává: „Pro ověřovací výsadby byly voleny většinou vybrané uznané jednotky fenotypové třídy B s ohledem na to, že osivo z porostů fenotypové třídy A (v dnešní terminologii) tehdy nebylo k dispozici, mimo jiné zčásti i proto, že v době přípravy pokusných výsadeb nebyly porosty této třídy většinou ještě vylišeny a uznány” (Šindelář et al., 2005).

Základem tohoto projektu bylo tedy založení pěti ověřovacích ploch s potomstvy 126 jednotek z celé tehdejší Československé republiky od západních oblastí v Čechách až po východní Slovensko a výsledky byly interpretovány ve věku kultur 17 let. Cílem výzkumu bylo rozšíření a zpřesnění dosavadních poznatků o proměnlivosti borovice lesní především na území ČR. Výzkum má přinést poznatky významné z hlediska volby základních souborů výchozích zdrojů reprodukčního materiálu, jeho rajonizace a zpřesnění koncepce šlechtitelských programů. Disponibilní materiál, který představují výsledky měření a hodnocení pěti výzkumných ploch s potomstvy 126 porostů (většinou uznaných jednotek ke sklizni semenného materiálu), je hodnocen z hledisek historického původu a proměnlivosti populací, šíření borovice lesní a jejího ústupu v poledové době, proměnlivosti na základě fyto geografických regionů evropských lesů

(Rubner et Reinhold, 1953), variability na základě regionálních populací (ekotypů) podle Svobody (1953). Dále byla hodnocena potomstva jednotek místního původu se zřetelem k místům výsadby, proměnlivost borovice lesní ve vztahu k přírodním lesním oblastem, lesním vegetačním stupňům stanovišť mateřských porostů a nadmořské výšce stanovišť mateřských porostů.

Pokud jde o výsledky šetření na výzkumných plochách na základě pěti charakteristik posuzovaných na základě regionů, oblastí a podoblastí evropských lesů, lze říci, že proměnlivost je ve všech zkoumaných znacích zřetelná, zvláště výrazná pak u tloušťkového a výškového růstu. Méně patrná je variabilita u znaků kvalitativních, posuzovaných okulárním hodnocením. Získané informace na základě regionů, oblastí a podoblastí evropských lesů mají spíše teoretický charakter a význam pro posouzení borovice lesní z hlediska proměnlivosti v rámci evropské části areálu této dřeviny. Aplikační význam z hlediska prakticky orientovaného lesního hospodářství v České republice mohou mít spíše poznatky o variabilitě na základě předpokládaných ekotypů, přírodních lesních oblastí a lesních vegetačních stupňů.

Tzv. regionální populace, které se někdy vyznačují určitými typickými vlastnostmi lze v některých případech s ohledem na původ (i když většinou neznámý) a adaptaci na místní podmínky prostředí označit jako nezáměrně vzniklé kulturní odrůdy (např. borovice třeboňská, heraltická, rohatecká). Pokud jde o proměnlivost průměrných veličin vypočtených pro jednotlivé regionální populace, je variabilita mezi soubory jak v kvantitativních veličinách, tj. výškách a výčetních tloušťkách, tak v okulárně hodnocených kvalitativních ukazatelích, relativně malá. Pokud bychom měli na základě sledovaných znaků hodnotit jednotlivé regionální populace, pak v kvantitativních i kvalitativních ukazatelích vyniká soubor jednotek borovice 1 - jihočeské (třeboňské). V sestupném pořadí lze dále řadit potomstva borovice 2 - šumavské, 3 - západočeské, atd., nejnižší výkonnost z hlediska kvantitativních znaků vykazují soubory dílčích populací ze střední a východní Moravy, tj. tzv. borovice 6 - svratecká, 11 - středomoravská a 12 - karpatská.

Podobné pořadí lze registrovat i u kvalitativních charakteristik (Šindelář et al., 2005).

Dále autoři naznačují, že proměnlivost ověřovaných a hodnocených dílčích populací borovice lesní, resp. jejich potomstev, odpovídá tomu, že se z největší části jedná o potomstva kulturního, vesměs rozmanitého a neznámého původu. A protože podle nich tyto výsledky naznačují, že dosavadní postupy rajonizace reprodukčního materiálu borovice lesní mohou v lesnické praxi vést k relativně značně proměnlivým výsledkům, doporučují ověřování (testování) vybraných dílčích populací, selekci nejhodnotnějších potomstev, jejich zařazení do kategorie jednotek ověřených a přednostní využívání reprodukčního materiálu z těchto populací v lesnické praxi. Domnívají se, že tento postup lze posuzovat jako metodu prakticky orientovaného šlechtění lesních dřevin a že může přispět ke zvýšení stability a produkce lesních porostů.

Autoři také upozorňují na to, že teoretický předpoklad toho, že potomstva „místního“ původu by měla se zřetelem na adaptaci na místní podmínky prostředí vykazovat optimální zdravotní a růstové charakteristiky, nebylo možno pozorováním ve věku 17 let jednoznačně prokázat. Podle našich zkušeností z hodnocení provenienčních pokusů v Plzni - Bolevci je třeba výsledky do stáří kultur 20 let brát pouze jako orientační. Jak je ale zřejmé z textu, ani původ osiva neodpovídá zadání v metodice této práce. Autoři konstatují, že vzhledem ke „kulturnímu původu“ ověřovaných uznaných jednotek a značné proměnlivosti potomstev bude nutné orientovat další práce výzkumu na jednotlivé vhodně vybrané dílčí populace. Teprve jejich ověření formou srovnávacích výsadeb a dalšími metodami může přinést spolehlivější poznatky o geneticky podmíněné hodnotě těchto jednotek a o možnostech jejich dalšího využívání jako zdrojů ověřených pro potřebu lesnické praxe.

1.10 Šlechtitelské programy

Pro potřeby koncepce šlechtění konkrétních druhů dřevin se v lesním hospodářství začaly vytvářet tzv. šlechtitelské programy. (Na Slovensku pro borovici lesní např.

Bruchánek (2001). Tyto programy pracují postupně se třemi typy populací:

1. populace zdrojová (*skládá se z jedinců, vybraných fenotypovou selekcí v lesních porostech a její rozsah je dán účelem šlechtitelského programu a charakterem cílové oblasti využití*),
2. populace šlechtitelská (*křížení jedinců kandidátské populace a jejich testování*),
3. populace produkční (*slouží k transferu genetického zisku vygenerovaného ve šlechtitelském programu do provozních hospodářských výsadeb*).

Hlavními produkčními výsadbami jsou **semenné sady** a pro klonové programy **matečnice** (Paule, 1992).

Úspěch šlechtitelského programu závisí již na pečlivosti výběru jedinců do kandidátské populace. Výběr by měl vycházet nejen z fenotypového projevu, ale i z postavení daného jedince v porostu vzhledem ke konkurenčním vazbám okolních jedinců (Hynek et al., 1997).

Efektivita šlechtitelských programů je závislá na četnosti realizovaných šlechtitelských cyklů. Již po prvním cyklu šlechtění je možné u řady hospodářských znaků generovat genetický zisk kolem 12% a po druhém cyklu dokonce kolem 25% (Li et al., 2000).

1.11 Semenné sady

Semenné sady jsou účelovými výsadbami, které slouží ke sběru reprodukčního materiálu. Rozlišujeme sady semenného původu a vegetativního původu. Při zakládání semenných sadů se dodržují určitá stanovená kritéria, která vycházejí z konkrétního šlechtitelského programu. Účelem zakládání semenných sadů je především dostatečná a snadno dostupná úroda geneticky hodnotného a vhodného reprodukčního materiálu, zejména osiva.

Semenné sady v lesním hospodářství mají mimo svůj základní cíl, tj. naplňování ustanovení § 31 lesního zákona, i nesporný význam při záchraně a využívání genofondu ohrožených populací lesních dřevin. Zároveň jsou zdrojem šlechtěného reprodukčního materiálu lesních dřevin tím, že plní úlohu šlechtitelských populací. Význam semenných sadů pro záchranu a využití genofondu získává na váze především v poslední době v kontextu se změnami klimatu a poškozování životního prostředí (Kaňák J. et al., 2008). Podle Pauleho je cílem semenných sadů vyprodukovat kvalitnější semeno jako výsledek vzájemného opylení výběrových (tj. rodičovských) stromů a dále pak přispění všemi způsoby k urychlené a zvýšené produkci v porovnání s mateřskými stromy (Paule, 1992) .

1.11.1 Semenné sady a problematika genetické diverzity

Určitě nejsledovanějším genetickým parametrem, zvažovaným ve šlechtitelských programech a strategiích, tedy včetně semenných sadů, je genetická diverzita. Její dostatečná šíře, u semenných sadů nejčastěji prezentovaná zastoupením klonů, přispívá ke stabilitě porostů (resp. potomstev) a odolnosti vůči biotickým a abiotickým činitelům. Genetickou diverzitu je možné vyjádřit vztahem:

$$GD = 1 - \Theta \quad (3)$$

kde Θ představuje tzv. „group coancestry“, která je definována jako průměrný koeficient příbuznosti mezi jedinci v populaci (Cockerham, 1967).

Mezi komplexní kritéria genetické diverzity s obecnější platností patří Shannonův index H (Magurran, 2004) a Rao-index kvadratické entropie R (Botta-Dukát, 2005), kdy výhodou druhého z nich je robustnost, tj. nízká citlivost dosaženého výsledku k počtu srovnávaných lokusů. Genetickou diverzitu je možné sledovat z více aspektů, např. jako alelickou diverzitu popisovanou počtem polymorfních lokusů, počtem alel na lokus, podílem heterozygotních lokusů nebo jako genovou diverzitu definovanou prav-

děpodobností, že alely na sledovaném lokusu nejsou totožné svým původem (Rosvall, 1999).

Genetická diverzita je ve šlechtění lesních dřevin vhodně aproximována efektivní velikostí populace N_e , která je definována jako počet neinbredních, nepříbuzných jedinců, ekvivalentní velikosti ideální populace (Lindgren et al., 1997).

Koeficienty příbuznosti jsou definovány pravděpodobností, s jakou získáme v potomstvu jedince s lokusem obsazeným alelami, které jsou svým původem identické (Malecot, 1948). Takto definované „group coancestry” zároveň stanovují inbreedingový koeficient v generaci potomstev, která vzejde křížením jedinců zahrnutých ve výpočtu „group coancestry”.

V rámci šlechtění lesních dřevin je kontrola inbreedingu, tj. stupně příbuzenského křížení stěžejní pro celkový úspěch programu. Vysoký podíl příbuzenského křížení může vyústit v inbreedingovou depresi. Z dlouhodobých experimentů s inbredním materiálem je možné pozorovat změny ve vývoji průměrů potomstev v čase. Potomstva, projevující se jako méně produktivní v časném období jsou naopak nejproduktivnější v pozdějších letech. Celkově ovšem inbrední potomstva nikdy nedosáhnou produkčních kvalit potomstev z volného sprášení (Eriksson et al., 1973).

Intenzita projevu inbreedingové deprese přímo závisí na počtu škodlivých alel nejen v populaci, ale i zvláště u každého jedince, což je závislé na historii vývoje genetické struktury populace. Tyto důsledky snižují efektivitu semenných sadů v množství produkovaného osiva i v jeho kvalitě a redukuje tím realizovaný genetický zisk (Skrøppa, 1996; Andersson et al., 1974).

Olsson et al. (2001) se zabývali vyvážeností mezi genetickým ziskem a příbuzenským křížením (inbreedingem) v semenných sadech. Tradiční způsob, jak se vyhnout inbreedingu a následnému snížení schopnosti reprodukce, resp. fitness, spočívá ve **využívání pouze takových klonů při zakládání semenných sadů, které nejsou vzájemně příbuzné**. S tím, jak šlechtitelské programy směřují k sadům vyšších gene-

rací, se příbuzenský vztah mezi kandidáty pro selekci stává pravděpodobnějším. Autoři referují o tradiční metodě omezené selekce jedinců (restricted selection, RS) s vysokou šlechtitelskou hodnotou a se současným vyloučením příbuzenského vztahu mezi nimi a navrhují dále alternativní selekční metodu GMS (Group Merit Selection), založenou na selekci klonových skupin, které maximalizují očekávanou genetickou hodnotu, tj. genetický zisk.

Důležitou informací ohledně počtu klonů a problémem inbreedingu v semenném sadu borovice lesní uvádějí Giertych et al. (1991). Na základě izoenzymových analýz zjistili, že frekvence semen ze samooplození v semenném sadu klesá ve většině případů na přijatelně nízkou úroveň již při zastoupení 50 klonů, přičemž další navyšování počtu klonů již není pro další pokles významné.

1.11.2 Rozmístění ramet v semenném sadu

Rozmístění ramet v semenném sadu by mělo splňovat především taková kritéria, která zajistí rovnoměrné sprášení pylem po celé ploše sadu s maximálním počtem kombinací, což zajistí maximální genetickou proměnlivost a minimalizuje inbreeding. Pro rozmístění ramet se dnes používají počítačové programy, které navrhují systematické rozmístění ramet jednotlivých klonů v rámci pravoúhlých, trojúhelníkových a hexagonálních parcel podle předem stanovených požadavků (Chakravarty et Bagchi, 1993; Bell et Fletcher, 1978). V současné době je snaha vytvořit návrhy rozmístění jedinců na základě optimalizačních algoritmů, které jsou založeny na minimalizaci pravděpodobnosti příbuzenského křížení. Tyto programy umožňují naopak obrovskou variabilitu v nastavení vstupních parametrů (Lstibůrek et El-Kassaby, 2010).

1.11.3 Genetická probírka semenného sadu a selektivní sběr osiva

Semenné sady 1. generace jsou zpravidla navrhovány se stejným nebo porovnatelným počtem ramet od všech zastoupených klonů, protože selekce vybraných klonů pro-

bíhá pouze na základě jejich fenotypového projevu, tedy bez dostupných informací o jejich genetické kvalitě. V případě, že jsou dostupné informace o genetické kvalitě jedinců z testů potomstev, je možné management semenného sadu upravit se zřetelem na tyto informace. Jedním z klasických opatření, reflektujících tyto nové informace, je tzv. **genetická probírka**, kterou je možné provést např. na základě strategie lineárního zastoupení klonů (Lindgren et Matheson, 1986), kdy počet jedinců po probírce je přímo úměrný šlechtitelské hodnotě daného jedince. Nevýhodou tohoto postupu jsou jednak další ekonomické náklady na likvidaci ramet neověřených klonů a jednak především ztráta produkce osiva, která je z ekonomického hlediska mnohem větší než příjmy z dodatečného zvýšení genetického zisku. Z tohoto důvodu je výhodnější nahradit genetickou probírku tzv. **selektivním sběrem osiva**, kdy osivo ze semenného sadu je sbíráno samostatně z jednotlivých klonů a poté je vytvořena směs osiva podle optimálního složení podle „genetické kvality“ jednotlivých klonů (Funda et al., 2009). Tento postup sice není z hlediska genetického zisku tak efektivní jako genetická probírka, avšak udržuje genetickou diverzitu na podstatně vyšší úrovni. Jako optimální řešení dodatečného navýšení genetického zisku se jeví kombinace obou těchto postupů, kdy se provede mírná genetická probírka s následnou intenzivnější selekcí jedinců pro selektivní sběr osiva (Kang et al., 2005).

1.11.4 Semenné sady v ČR

Převážná většina semenných sadů v ČR jsou klonové semenné sady, založené z roubovanců (ramet) vybraných klonů (ortetů) podle jejich fenotypových vlastností. Kritéria pro výběr stromů do semenných sadů mohou být různá a závisí na šlechtitelském záměru (programu), se kterým je semenný sad zakládán. Kaňák et al. (2008) uvádí jako aktuální důvody pro zakládání semenných sadů především tyto dva:

1. sleduje se ekonomický přínos ve vztahu ke kvalitě a množství produkce dřevní hmoty budoucích porostů (semenný sad hospodářsky významné dřeviny, její re-

gionální populace, jako zdroj geneticky hodnotného reprodukčního materiálu, cílem šlechtění je vyšší produkce a kvalita),

2. záchrana a reprodukce ohrožené populace (semenný sad ohrožené populace dřeviny jako zdroj reprodukčního materiálu sloužící přednostně pro záchranu ohroženého genofondu konkrétní populace).

Tyto dva způsoby se mohou vzájemně kombinovat.

Nejstarší semenné sady v naší republice, zakládáné v 70. letech minulého století jsou v současné době zralé na rekonstrukci, a to především z toho důvodu, že se při jejich projektování příliš neřešil původ všech použitých klonů, zastoupených v sadu. Tak se stalo, že např. v semenném sadu Zbiroh jsou vedle místních populací borovice lesní zastoupeny klony rodičovských stromů původem z Českého Švýcarska, Plzeňska, jižních Čech apod., přesně podle toho, jaké roubovance měl projektant sadu k dispozici v době jeho zakládání. Použití osiva z těchto ramet ve svém důsledku znamená legalizaci nepovoleného přenosu osiva do jiných semenářských oblastí. Teprve od 80. let minulého století se začalo dbát o čistotu původu potomstev ze semenných sadů a semenné sady začaly svým složením reprezentovat konkrétní regionální populace (Kaňák et al. 2008).

1.11.5 Ověřování a testování uznaných porostů a semenných sadů v ČR

Cílem ověřování zdrojů reprodukčního materiálu, zejména uznaných porostů a semenných sadů je získat informace o genetické proměnlivosti hospodářsky významných znaků a vlastností těchto dílčích populací. Ověřování je základem pro následnou selekci zkoumaných jednotek na genetické úrovni a pro formulaci návrhů na zařazení nejhodnotnějších variant do kategorie testovaných zdrojů reprodukčního materiálu. Tato kategorie je součástí příslušné legislativy EU (zejména Směrnice rady 1999/105/ES ze dne 22. 12. 1999 o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin) i nově přijatého zákona č. 149/2003 Sb. v rámci přizpůsobování legislativních opatření České repub-

liky předpisům Evropské unie, který tuto kategorii rovněž zahrnuje (Frýdl et Šindelář, 2006).

Podobně jako u smrku ztepilého a modřínu opadavého se výzkum v oboru genetiky a šlechtění borovice lesní v první polovině devadesátých let minulého století nadále orientoval na problematiku ověřování vybraných porostů uznaných ke sklizni osiva. Vedle výsadeb s potomstvy uznaných porostů byly založeny i plochy s potomstvy vybraných semenných sadů. V roce 1994 bylo autorem této práce založeno (v rámci VÚLHM) celkem 10 výzkumných ploch s potomstvy porostů kategorie „A” a semenných sadů borovice lesní na různých lokalitách v Čechách a na Moravě, které byly pravidelně sledovány a hodnoceny. Dosavadní výsledky měření a hodnocení mají zatím předběžný, orientační charakter, avšak předpokládaný výsledek, tedy návrh na zařazení nejhodnotnějších jednotek populací (mateřských porostů a semenných sadů) do kategorie „ověřených” je alespoň u potomstev semenných sadů vzhledem k metodice založení přinejmenším diskutabilní.

Metodika těchto pokusných ploch byla navržena Ing. Šindelářem (Šindelář, 1992b) a schválena Ministerstvem zemědělství ČR v r. 1992 (Řešátko, 1992). Bohužel, výzkumní pracovníci, kteří měli tuto metodiku realizovat (pro borovici lesní) neměli možnost ji ani oponovat ani se k ní vyjádřit. V celém navrženém rozsahu ani nemohla být realizována pro vysoké nároky na finanční náklady a nereálný rozsah pokusných ploch. Již v první výroční zprávě prvního roku řešení tohoto výzkumného úkolu v r. 1992 autor (tehdy řešitel) konstatoval: „S ohledem na nákladnost celého projektu, pracnost jeho vyhodnocování a diskutabilní úroveň a použitelnost výstupů doporučuje řešitel zvážit realizaci tohoto úkolu podle navržené metodiky.”

Problematická byla především metodika založení testovacích ploch potomstev semenných sadů. Šlo o to, že z každého semenného sadu byl sebrán směsný vzorek osiva ze všech klonů dohromady a ten byl vysázen (porovnáván) na testovací ploše se vzorky z jiných semenných sadů. Taková testovací výsadba nám rozhodně nepomůže k před-

pokládané selekci klonů a k založení semenného sadu 2. generace. Odpoví nám pouze na otázku, jak kvalitní byla potomstva určitých semenných sadů v roce sběru osiva a umožní nám jejich vzájemné porovnání. A to je vzhledem k nákladům trochu málo.

V té době jsme však již metodicky spolupracovali s Ing. Hrdličkou (LČR, OI Plzeň) na přípravě testovacích výsadeb semenných sadů Silov u Nepomuka a Doubrava u Plas, kde jsme doporučili, aby šišky pro výsevy k založení testovacích ploch byly sbírány podle jednotlivých klonů (Silov), resp. podle jednotlivých ramet (Doubrava). Jednotlivé partie sebraných šišek byly na Sofronce velmi pečlivě vylušťeny a vzorky semen byly předány za účelem výsevů do příslušných školek. Díky tomu lze dnes tyto testovací výsadby a jejich výsledky, zpracovávané v této dizertační práci, použít jako východisko pro založení semenného sadu 2. generace.

1.11.6 Testování semenných sadů za účelem zakládání semenných sadů vyšších generací

Ekonomická hodnota semenných sadů narůstá s počtem šlechtitelských generací. S realizací každého šlechtitelského cyklu je tak spojen nárůst genetického zisku v lesních porostech zakládaných z osiva původem ze semenných sadů (Kobliha et Lstibůrek, 2006).

Jak již bylo zmíněno, semenné sady 1. generace jsou složeny pouze z klonů, které byly selektovány podle vlastností fenotypu, nikoliv genotypu. Z tohoto důvodu je žádoucí, ověřit testováním potomstev těchto klonů, zda vlastnosti, kvůli kterým byli vybráni, jsou geneticky podmíněné. Pozitivně testované klony jsou pak základem k založení semenného sadu vyšší generace. Testování klonů semenného sadu prostřednictvím hodnocení jejich potomstev za účelem založení semenného sadu vyšší generace je možné dvěma způsoby:

1. potomstva jednotlivých klonů se získají kontrolovaným křížením vybraných klonů, známe tedy oba rodiče - jedná se o plnosesterská potomstva,

2. potomstva jednotlivých klonů resp. ramet se získají z osiva jednotlivých ramet, známe tedy pouze matku - jedná se o polosesterská potomstva.

V případě testování plnosesterských potomstev je možné z pozitivně testovaných potomstev zakládat sady vyšší generace. V případě testů polosesterských potomstev (z volného sprášení) je možné odstranit geneticky nevhodné jedince - rodičovské stromy (genetická probírka) ze sadu 1. generace (Kaňák et al., 2008), případně se nabízí možnost rekonstrukce rodokmene (převedení polosesterských potomstev na potomstva plnosesterská) a následné založení sadů 2. generace. Nechceme-li přijít odstraněním méně vhodných klonů o část úrody, můžeme provádět selektovaný sběr šišek (semen) podle jednotlivých klonů a z ověřených a vhodných klonů vytvořit směs osiva vyšší kvality.

2 Cíle práce

Tato práce je 1. částí realizace projektu zakládání semenných sadů s využitím postupu „Breeding Without Breeding“. Na 2. části, která se věnuje analýzám DNA za účelem vlastní rekonstrukce rodokmene, pracuje doktorand Ing. Jiří Korecký. Na základě obou těchto částí budou založeny semenné sady 2. generace.

Specificky byly pro tuto práci stanoveny následující cíle:

1. studium fenologie kvetení v semenném sadu,
2. verifikace klonů a příslušných ramet v semenném sadu,
3. biometrické hodnocení polosesterských potomstev (podklad pro selekci).

3 Materiál a metodika

3.1 Charakteristika semenných sadů

Do uvedeného hodnocení (Kaňák et al., 2009) byla zahrnuta potomstva dvou západočeských semenných sadů (Tabulka 1), svým složením téměř identických a dvě k nim příslušné testovací plochy. Oba semenné sady jsou v majetku LČR, s.p. Semenný sad Doubrava (LS Plasy) byl založen v r. 1980, o 5 let později než sad Silov u Nepomuka (LS Klatovy) a na rozloze téměř 3 × větší (6,5 ha). Na obou semenných sadech jsou zastoupeny výhradně ramety klonů původem ze západních Čech. Plánky semenných sadů jsou uvedeny v přílohách 3 a 4.

Tabulka 1: Charakteristiky semenných sadů

Semenný sad:	Nepomuk	Silov
Evidenční číslo	79	43
LČR, lesní správa	Plasy	Klatovy
GPS	49°54'31.034"N, 13°26'33.605"E	49°28'52.587"N, 13°31'41.536"E
PLO	6	6
SLT	3I	4S
Hospodářský soubor	8241	451
Počet klonů	87	45
Počet ramet	1165	410
Spon [m]	6 × 6	6 × 6
Celková plocha /ha/	6,48	2,24
Rok založení	1980	1975
LVS	2	4
Nadmořská výška [m n.m.]	380	480-500
Testován na ploše:	Skelná Huť	Nepomuk

Semenný sad Doubrava je téměř na rovině, obklopen většinou smíšeným lesem, pouze v horní části jsou mladší borové kultury, které bude třeba co nejdříve rekon-

struovat a nahradit výsadbou jiných druhů, aby nekontaminovaly pylem semenný sad. Dospělé borové porosty se v okruhu 1 km od semenného sadu nevyskytují.

Semenný sad Silov u Nepomuka je umístěn na nepříliš vhodné lokalitě. Na svahu mrazové kotliny, s převýšením cca 20 m je na společné ploše s ním umístěn i semenný sad modřínu, který zde obzvláště trpí a jeho spodní část prakticky neplodí. Efekt mrazové kotliny je ještě umocněn soustavou rybníčků na dně kotliny, v těsném sousedství hranice sadu. Ramety borovice sice mrazy netrpí, ale podle fenologického pozorování kvetení tohoto sadu dochází k posunu kvetení níže položených ramet až o 3 - 5 dní. To může v některých letech znamenat, že dojde k faktickému rozdělení semenného sadu na dvě autonomní části: na horní, brzy kvetoucí a spodní, pozdě kvetoucí část. Obě části tak budou opyleny pouze omezeným počtem ramet, což může mít za následek sníženou variabilitu potomstev. Co se týká borových kultur nebo borových výstavek, ve vzdálenosti do 1 km od semenného sadu se nevyskytují.

3.1.1 Sledování fenologie kvetení v semenném sadu Silov u Nepomuka

Synchronizace kvetení semenného sadu s místními okolními porosty téhož druhu může do jisté míry znamenat problém kontaminace semenného sadu pylem z okolí. Odhady pylové kontaminace v semenných sadech značně kolísají, ale většinou jsou poměrně vysoké, často 50% i více. S ohledem na to, že borový pyl může v ideálních podmínkách doletět až desítky kilometrů, zdají se být opatření pro zabránění kontaminace z okolí zbytečná (vzdálenost od okolních porostů, izolační pásy jiných druhů dřevin apod.). Je však více než pravděpodobné, že právě vzdálenost pylového producenta a jeho receptora je pro úspěšné opylení zásadní a rozhodující. Dopad pylu (záchyt) významně klesá ve vzdálenosti řádu několika metrů až desítek metrů od zdroje (Ivanek et al., 2009).

Analýza frekvence kvetení a distribuce pylu jednotlivých klonů resp. ramet v semenném sadu u nás nebyla dosud zkoumána. Podle zahraničních pramenů (např. Misiorny et Chalupka, 2006) se však podílí na opylení semenného sadu překvapivě pouze malá

část klonů resp. ramet, a to méně než 40%. Z tohoto důvodu bylo provedeno sledování fenologie kvetení semenného sadu. Protože nebylo v našich silách provést sledování celého semenného sadu Doubrava (LS Plasy, 6,5 ha) a sledování náhodného výběru pouze některých klonů resp. ramet by mohlo být neobjektivní, rozhodli jsme se provést kompletní šetření všech klonů a ramet v semenném sadu Silov u Nepomuka (2,2 ha).

Sledování fenologie kvetení probíhalo dva roky po sobě, v roce 2009 a 2010 podle metodiky autora.

3.1.2 Metodika sledování fenologie kvetení semenných sadů borovice lesní

Prašníky (samčí květenství) jsou označené jako „P“, šištice (samičí květenství) jako „S“.

Vývoj kvetení je popsán následovně:

- 0 - prašníky nebo šištice dosud málo vyvinuté a kryté obaly,
- 1 - butonizace: prašníky i šištice již patrné (vyvinuté), nekryté obaly, avšak uzavřené,
- 2 - 10% zralých (pyl práší nebo šištice „otevřené“),
- 3 - 50% zralých (pyl práší nebo šištice „otevřené“),
- 4 - 100% zralých (pyl práší nebo šištice „otevřené“),
- 5 - odkvět 100% (prašníky prázdné, začínají opadávat, šištice uzavřené a zřetelně se odklánějí od osy prýtu).

Pozn.: Butonizace je fenologická růstová fáze u rostlin v období od vzniku poupat zakrytých děložními lístky po již dorostlá poupata.

Denzita květenství je popsána:

0 - květenství chybí,

A - málo četné,

B - středně četné,

C - četné,

D - mimořádně četné.

Pozn.: Veškerá pozorování denzity se vztahují na relativní množství, tzn. posuzují možnosti každého konkrétního stromu (ramety) zvlášť.

Barva prašníků je buď žlutá (z) nebo červená (c).

Příklad zápisu pro jednu rametu:

P 2A(z), S 1B

P 3C(c), S 2B

Sledování je zapisováno přímo do plánku sadu do políčka příslušné ramety. Každý plánek je tedy opatřen datem měření. Pozorování by mělo být zahájeno nejdéle ve stadiu butonizace u většiny ramet a mělo by být opakováno minimálně 1x týdně do doby úplného odkvětu většiny ramet.

První sledování v roce 2009 bylo prováděno ve třech termínech, vždy po 10 dnech a to: 5. května, 15. května a 25. května. Byl sledován stav samčích a samičích květenství (prašníků a šištic) a denzita květenství na jednotlivých rametách podle metodiky, vytvořené pro tento účel autorem a zpřesněné během sledování.

Na každé rametě byl sledován zvlášť stav samčích a zvlášť stav samičích šištic. U prašníků byla také sledována barva prašníků, a protože byla převážně žlutá, byla evidována pouze barva červená.

3.1.3 Verifikace klonů a příslušných ramet v semenných sadech

Pokud se se semennými sady pracuje v rámci šlechtitelských programů, je velmi žádoucí provést ověření genetické identity používaného rostlinného materiálu. Pro identifikaci tohoto materiálu je potřeba zjistit, zda (1) každý jedinec má genotyp odpovídající jeho deklarované identitě a zda (2) je jeho genotyp shodný s genotypem ostatních jedinců, příslušejících k danému klonu (Ivanek et Procházková, 2006 a 2008).

Aby byli dva jedinci považováni za ramety jednoho klonu, musí být jejich genotypy identické, což přísně vzato by vyžadovalo znalost kompletního genomu. Avšak ani kompletní shoda dvou jedinců ve všech sledovaných genových lokusech nemůže úplně zaručit, že patří ke stejnému klonu. Statisticky lze pouze kvantifikovat pravděpodobnost, že oba jedinci s vysokou pravděpodobností přísluší ke stejnému klonu (Ivanek et al., 2009). Naopak, pokud se dva jedinci neshodují byť v jediném lokusu, lze s jistotou vyloučit jejich příslušnost ke stejnému klonu (Cheliak et Pitel, 1984).

Verifikace jednotlivých klonů, resp. ramet v semenném sadu 1. generace je v případě, že chceme testovat potomstva tohoto sadu, naprosto zásadní. Problémem je, vybrat vhodnou a ekonomicky přijatelnou metodu. Po našich zkušenostech je v současné době jediná vhodná metoda na bázi DNA markerů, přestože je ekonomicky nejnáročnější. V případech, kdy chceme zkontrolovat pouze ramety jednoho klonu, vystačíme si s jednoduchými metodami porovnáváním morfologických znaků šišek, resp. semen.

Morfologické markery

- *Morfologie šišek*

Při sběrech šišek a sledování plodnosti v provenienčních pokusech s borovicí lesní a později i u jiných druhů dřevin jsem si všiml, že šišky jednoho stromu mají svůj osobitý vzhled, stejné znaky (včetně deformací), a to i v různých letech sběru. Přestože se mohou lišit velikostí, což je patrně vlivem vlhkosti a vláhy v době jejich růstu, jejich morfologické znaky, např. celkový tvar, tvar umbra, šupin apod.

zůstávají stejné. Je tedy nepochybné, že jde o znaky geneticky podmíněné. V r. 2009 jsem odebral šišky z ramet některých klonů, a to jak v semenném sadu Doubrava, tak i v sadu Silov u Nepomuka. Jako názornou ukázkou uvádím na Obr. 4, 7, 10, a 12 fotografie ramet některých klonů, označené číslem klonu a umístěním ramety v sadu. V některých případech je verifikace podle šišek natolik jednoznačná, že můžeme bez problémů označit ramety, které danému klonu nepřísluší.

- *Morfologie semen*

Také při luštění šišek podle jednotlivých klonů (pro založení testovacích výsadeb, které jsou hodnoceny v této práci) jsme si všimli stejných znaků u semen, ať šlo o jejich barvu (černé, hnědé, světlé, kropenaté apod.) a tvar, nebo barvu a tvar jejich křídla. Také tyto charakteristiky se pravidelně každoročně opakují a jsou geneticky podmíněné. Při příležitosti luštění šišek a extrakci semen za účelem založení hodnocených testovacích ploch vznikla sbírka semen podle jednotlivých klonů, které jsme pro tuto práci fotograficky zdokumentovali a jako názornou ukázkou uvádím na Obr. 5, 6, 8, 9, 11, 13 a 14 semena stejných klonů, jako u fotodokumentace šišek. I v tomto případě, stejně jako u morfologických znaků šišek, můžeme pomocí morfologických znaků semen potvrdit nebo vyvrátit příslušnost k určitému klonu. Kombinace těchto dvou metod by mohla být velice vhodným a ekonomicky dostupným nástrojem pro verifikaci ramet určitého klonu v provozních podmínkách. V případě nesrovnalostí a nejistoty je možné využít sofistikovaných (ovšem značně nákladných) postupů.

- *Zbarvení prašníků*

Odhadem více než 95% klonů borovice lesní má žluté pylové prašníky, zvyšující část populace tohoto druhu má prašníky červené. I barva prašníků je geneticky podmíněná, podobně jako barva šišek u některých jehličnanů (*chlorocarpa* × *ery-*

trocarpa) a může nám signalizovat chybu v označení klonu u ramety, jestliže má barvu prašníků červenou a ostatní ramety barvu žlutou (Obrázek 1).

Rozsah vzorků u morfologických markerů odpovídal rozsahu verifikace, tj. konkrétní klony a ramety, u biochemických a molekulárních markerů.



Obrázek 1: Červené prašníky borovice lesní

Biochemické markery - Izoenzymy Analýzy izoenzymů byly prováděny O. Ivanekem na pracovišti VÚLHM (Jíloviště-Strnady) a nebyly součástí řešení tohoto projektu. Nicméně, vzhledem k tomu, že autor použil identický materiál a výstupy byly publikované v závěrečné zprávě (Ivanek et al., 2009), považuji za velmi vhodné jeho výstupy

srovnat s pozorováním v této práci, tj. srovnání s morfologickými a molekulárními markery.

V období vegetačního klidu, tj. v březnu až dubnu v letech 2008 a 2009, byly z vybraných ramet v semenném sadu č. 79 - Doubrava provedeny odběry vzorků větví borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) s dormantními pupeny, odpovídajících celkem 691 rametám z celkového množství 1.165 v sadu. Dále bylo odebráno 24 vzorků z rodičovských stromů (ortet). Větve byly uskladněny v plastických sáčcích při teplotě -20°C do doby zpracování (Ivanek et al., 2009).

Vzorky odebraných pupenů (1-2 vzrostné vrcholy) byly v r. 2008 podrobeny extrakci enzymů homogenizací 5-10 mg rostlinného pletiva s 40-60 ml extrakčního pufru. Izoenzymy byly děleny jednorozměrnou horizontální elektroforézou na škrobovém gelu (hydrolyzovaný škrob Sigma-Aldrich pro elektroforézu) při 3°C s použitím Tris-citrátového puфраčnického systému. Dělení izoenzymů probíhalo na elektroforetické lince Multiphor II Pharmacia Biotech. Izoenzymové analýzy byly provedeny pro glukózo -6- fosfátdehydrogenázu (G-6-PDH), šikimátdehydrogenázu (SDH), 6- fosfoglukonátdehydrogenázu (6-PGDH), fosfoglukomutázu (PGM), malátdehydrogenázu (MDH), leucina-aminopeptidázu (LAP), aspartátaminotransferázu syn. glutamát oxaloacetáttransferázu (AAT syn. GOT) a fosfoglucoizomerázu (PGI). Bylo použito modifikovaných postupů izoenzymové extrakce, elektroforézy a barvicích postupů podle Pasteura et al. (1988). V zájmu porovnatelnosti výsledků byla u reprezentativního modelového souboru 20 vzorků pro enzymatické systémy SDH, 6-PGDH, PGM, MDH a PGI provedena opakovaná kontrolní měření na gelech s využitím hydrolyzovaného škrobu Gerbu a Biomol, s využitím Tris-citrátového a borátového puфраčnického systému (Ivanek et al., 2009).

Molekulární markery - mikrosatelity Mikrosatelity patří mezi typy markerů, pomocí kterých lze naprosto průkazně verifikovat konkrétní klon, resp. jeho rametu, ale především je lze využít k rekonstrukci rodokmene. V současné době se pracuje hlavně

na bázi metody PCR (Polymerase Chain Reaction, tj. polymerázová řetězová reakce) a jejích modifikací (RAPD, STS apod.). Tyto genové markery se používají pro různé populační studie, což se netýká přímo šlechtitelských programů, ovšem je tendence je používat v dnešní době právě také pro šlechtitelské aplikace. Sem lze zařadit ověřování geografického a genetického původu porostů a stromů, ověřování úrovně genetické diverzity zdrojových populací a identifikaci alel odpovědných za konkrétní projevy hospodářsky významných znaků a vlastností (Kobliha et Funda, 2004).

K výzkumným účelům byl použit rostlinný materiál z uvedených semenných sadů (všechny zastoupené klony). Pro izolaci DNA byl použit izolační kit DNeasy Plant Mini Kit. DNA byla vyizolována z dormantních pupenů borovic. Navážka jednoho vzorku určeného pro izolaci byla přibližně 100 mg. Pupy byly rozdrceny pomocí tekutého dusíku v třecích miskách. Dále se postupovalo dle protokolu izolačního kitu. Úspěšnost vyizolování DNA vzorků byla detekována po proběhlé elektroforéze na 0,8% agarózovém gelu. Agarózový gel se připravil navážením 1,6 g agarózy (Agarose SERVA for DNA), která byla ve 200 ml roztoku 0,5% TBE (Tris borate EDTA pufr) při zahřívání rozpuštěna. Do vychladlého stále tekutého čirého roztoku byly přidány 3 μ l ethidium bromidu. Na gel v horizontální elektroforetické aparatuře se do slotu nanášelo 5 μ l vzorku vyizolované DNA a 5 μ l loading buffer (Sigma). Doba trvání elektroforézy byla 30 min při napětí 40 V a poté 90 minut při napětí 90 V. DNA byla vizualizována pomocí ethidium bromidu pod UV zářením. Vzorky vyizolované DNA se zamrazily na -20°C .

Pro sledování genetické variability vzorků borovice lesní byla použita technika PCR-RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA - polymorfismus náhodně amplifikované DNA). Při této technice je použit jako primer krátký oligonukleotid o délce 10 nukleotidů s nahodilou sekvencí. Při této délce je značná pravděpodobnost, že v genomu bude mnoho míst homologních k použitému oligonukleotidu a některá z nich budou dostatečně blízko u sebe, aby v úseku mezi nimi při využití PCR docházelo k am-

plifikaci DNA. Výsledkem je velká skupina amplifikovaných fragmentů, které se pak rozdělí elektroforeticky. Genomy příbuzných, ale často i vzdálenějších druhů jsou velmi shodně organizovány. Většina proužků bývá shodná, proto je třeba vyhledat primer, který vykazuje různou polohu proužků i u velmi příbuzných organismů pro studium polymorfismu. Soubor několika takových primerů charakterizuje např. odrůdu velmi přesně (Čurn et Sáková, 1997). Pro borovici lesní byly testovány primery Operon Biotechnologie GmbH ze sad OPE a OPR pro vyhledání primerů ukazujících polymorfismus sledovaných klonů a potvrzujících totožnost ramet v rámci jednoho klonu. Při užití polymerázy Takary Taq (TAKARA Biotechnology, CO., LTD.) se amplifikační reakce pro jeden vzorek připravovala v objemu 25 μ l. RAPD reakce probíhala v termocykleru Perkin Elmer 2400 a Bioer XP cycler. Amplifikační produkty byly analyzovány elektroforézou na 1,5% agarózových gelech v 0,5% TBE pufru a vizualizovány pomocí ethidium bromidu pod UV zářením. Gely byly dokumentovány pomocí kamerového systému Discovery 10gD.

3.2 Charakteristika testovacích výsadeb

Biometrická měření a hodnocení testovacích výsadeb byla prováděna na již zmiňovaných dvou testovacích plochách, založených v 90. letech pracovníkem LČR, s.p., Ing. Oldřichem Hrdličkou - viz. Tabulka 2.

3.2.1 Typologické charakteristiky testovacích ploch

Abychom vyloučili pochybnosti o vhodnosti či nevhodnosti lokalit, kde byly testovací plochy založeny, bylo provedeno nové typologické posouzení obou lokalit. V rámci tohoto typologického posouzení proběhlo v měsíci květnu 2010 terénní šetření dotčených lokalit (plocha Skelná Huť a plocha Nepomuk) pracovníkem ÚHÚL (Bc. Radim Bartoň) a zjištěn částečný nesoulad mezi skutečným stavem a typologickou mapou v základním měřítku 1 : 10 000 (Tabulky 3 a 4). Typologická mapa byla zrevidována a nový stav

Tabulka 2: Charakteristiky testovacích ploch

Plocha:	Skelná Huť	Nepomuk
GPS	49°55'53.489"N, 13°6'43.268"E	49°29'40.735"N, 13°33'5.702"E
Lesní správa	Plasy	Klatovy
Číslo porostu	157 E 1	358 J 1c
Bonita pro borovici	5	2
SLT	5K5	3S1
Hospodářský soubor	133	453
Počet potomstev	85 klonů, 320 ramet	38 klonů
Počet parcel	960 + (7 kontroly)	163 + (3+3 kontroly)
Počet opakování	3 (potomstev ramet)	4 (potomstev klonů)
Celková plocha /ha/	1,23	0,81
Rok založení	1994	1991
LVS	5	3
Nadmořská výška [m n.m.]	615	490
Testuje semenný sad:	Plasy - Doubrava	Nepomuk - Silov

dotčených lokalit je součástí mapových příloh (Přílohy 1 a 2).

Odlíšné výsledky typologického průzkumu obou ploch jsou pro posuzování výsledků testovacích výsadeb paradoxně velmi přínosné. Z hlediska použití osiva semenného sadu je pro nás totiž výhodnější osivo těch klonů, které mají nadprůměrné výsledky na různých lokalitách a jejichž použití bude tedy více univerzální, než vyhraněné klony, dosahující sice ve zvláštních případech (na některých stanovištích) vynikajících výsledků, ale na jiných jsou jejich výsledky podprůměrné. Právě z těchto důvodů by bylo vhodné zakládat paralelní testovací plochy na různých stanovištích, pro danou dřevinu však musí být samozřejmě typologicky vhodná.

Testovací plocha Skelná Huť (LS Plasy, plánek viz. Příloha 5), testuje semenný sad č. 79 - Doubrava (LS Plasy) a testovací plocha Nepomuk (LS Klatovy, Plánek viz. Příloha 6), testuje semenný sad č. 43 - Silov u Nepomuka. Oba tyto sady mají ale převážnou část

Tabulka 3: Typologické charakteristiky - lokalita Skelná Huť

porostní skupina	157 E 1
nadmořská výška	615 m n.m.
expozice	mírný SV pravidelný svah
lesní typ	4Q1 chudá dubová jedlina borůvková
podloží	karbonské sedimenty
půdní typ	pseudoglej planický PGp
humusová forma	mor typický
acidita	velmi silně kyselá
půdní druh	písčitohlinitá, vlhká, ulehlá
hloubka půdy	středně hluboká až hluboká
PLO (přírodní lesní oblast)	06 Západočeská pahorkatina
CHS (cílový hosp. soubor)	27 oglejená chudá stanoviště
LVS (lesní vegetační stupeň)	4

klonů společných, takže jsou na obou plochách testována potomstva stejných klonů. Pro tuto práci bylo rozhodující měření testovací plochy Skelná Huť, neboť jsou na této ploše vysázena potomstva jednotlivých ramet každého klonu. Testovací plocha Nepomuk byla brána jako orientační v případě nejednoznačných výsledků testovaných potomstev na ploše Skelná Huť.

3.2.2 Způsob založení testovacích ploch

Sběr šišek pro získání osiva pro obě testovací plochy byl prováděn osobně Ing. Hrdličkou a jednotlivé partie šišek byly dovezeny na pracoviště VÚLHM v Plzni - Bolevci, kde byly separovaně vyluštěny a uskladněny do doby jarního výsevu. Výsev a pěstování sazenic byl prováděn identickým způsobem v identických podmínkách: potomstva sadu Silov u Nepomuka - výsev ve školce na Krkavci (Plzeň) a školkování ve školce Zelená Hora, potomstva ze sadu Doubrava (Plasy) - výsev i školkování ve školce Olejná.

V semenném sadu Doubrava byl proveden sběr šišek podle jednotlivých ramet a od

Tabulka 4: Typologické charakteristiky - lokalita Nepomuk

porostní skupina	358 J 1c
nadmořská výška	490 m n.m.
expozice	mírný JV pravidelný svah
podloží	hrubozrnná biotitická žula
Východní část porostní skupiny	
lesní typ	3S1 svěží dubová bučina šťavelová
půdní typ	kambizem modální oligo/mesotrofní KAm ^d /m ^r
humusová forma	moder typický
acidita	středně kyselá
půdní druh	písčitohlinitá, čerstvě vlhká
CHS (cílový hosp. soubor)	45 živná stanoviště střed. poloh
Západní část porostní skupiny	
lesní typ	3O6 jedlodubová bučina šťavelová
půdní typ	pseudoglej modální mesotrofní PGmm ^r
humusová forma	mulový moder
acidita	středně kyselá
půdní druh	písčitohlinitá, vlhká
hloubka půdy	hluboká
CHS (cílový hosp. soubor)	47 oglej. stanoviště střed. poloh
PLO (přírodní lesní oblast)	06 Západočeská pahorkatina
LVS (lesní vegetační stupeň)	3

každého klonu byla testována potomstva cca 5 ramet. Na testovací plochu (Sklaná Huť) bylo sázeno každé potomstvo ve 3 opakováních. Každé opakování bylo reprezentováno 10 sazenicemi ve sloupci po 0,7 m, jednotlivé sloupce byly od sebe 1,40 m, tedy klasický spon, používaný v lesnickém provozu při borových výsadbách, 10.000 ks/ha.

V semenném sadu Nepomuk-Silov byly sbírány šišky pouze jako směsný vzorek jednotlivých klonů, tedy ne podle jednotlivých ramet. Výsadba testovací plochy (Nepomuk) byla prováděna opět ve sponu 0,7 × 1,4 m, ale na rozdíl od předešlé testovací

plochy Skelná Huť však na parcelách po 50 sazenicích (5 × 10 řad) ve 4 opakováních.

3.2.3 Měření a hodnocení testovacích ploch

Před samotným měřením byly obě testovací plochy posouzeny z hlediska homogenity a možnosti ovlivnění výsadeb nebo jejich částí stanovištěm (okrajem porostu, expozicí, reliéfem, půdním horizontem, vláhou apod.).

Plocha ve Skelné Huti byla částečně založena v místě bývalé lesní školky. Paradoxně právě tato část musela být z hodnocení vypuštěna pro vysoké ztráty, zaviněné dovezeným nevhodným substrátem (viz. Příloha 5). Zbývající část plochy byla posouzena jako homogenní a byla zařazena do měření. Přestože část plochy byla z hodnocení vypuštěna, neovlivnilo to kvantitativní ani kvalitativní parametry měřené části plochy.

Plocha u Nepomuku, umístěná na počátku rozsáhlejšího lesního komplexu, ale s dostatečnou izolační vzdáleností, byla uznána jako vhodná pro měření a hodnocení celá. Velmi důležitá byla i obnova stabilizace obou ploch, neboť u každého posuzovaného stromu musela být naprostá jistota jeho původu. Proto byla věnována přípravě ploch na měření náležitá pozornost.

Biometrické měření těchto ploch probíhalo již v r. 2000 (VÚLHM) a jednak v letech 2007 a 2008 (VÚLHM a FLD ČZU). Pro tuto práci bylo využito pouze měření, které probíhalo v letech 2007-8.

Kvantitativní znaky

1. Výška

U všech stromů na obou plochách byla měřena výška. Na ploše Skelná Huť, kde se pohybovaly výšky stromků mezi 4 až 8 metry, byla měřena teleskopickou výškoměrnou latí zn. Sokkia s přesností na 1 cm. Na ploše Nepomuk, která je o 3 roky starší a stromky jsou vyšší (cca 8-12 m), byl použit výškoměr Vertex III, měřící s přesností na 10 cm.

Pro velký objem prací bylo měření na ploše Skelná Huť započato již v roce 2007 na podzim a výška byla měřena na vrchol terminálního výhonu. Měření výšek zde pak pokračovalo po vegetačním období v r. 2008 (srpen - říjen) a aby byly výšky porovnatelné, měřily se k poslednímu přeslenu. Všechny naměřené hodnoty tedy odpovídají výšce potomstev na podzim roku 2007 resp. na jaře roku 2008 do rašení.

2. Tloušťka ($d_{1,3}$)

U všech stromů na obou plochách byla měřena tloušťka ve výšce 1,30 m. Pro větší přesnost byl měřen obvod kmínku, který byl přepočítaný na průměr s přesností 0,5 cm. V případě, že vycházelo místo měření tloušťky (ve výšce 1,30 m) do místa přeslenu, měřili jsme obvod 10 cm pod a 10 cm nad přeslenem a průměr těchto dvou hodnot jsme uvažovali jako měřenou tloušťku. Veškerá měření tloušťky (resp. obvodu) na obou plochách byla prováděná na podzim r. 2008.

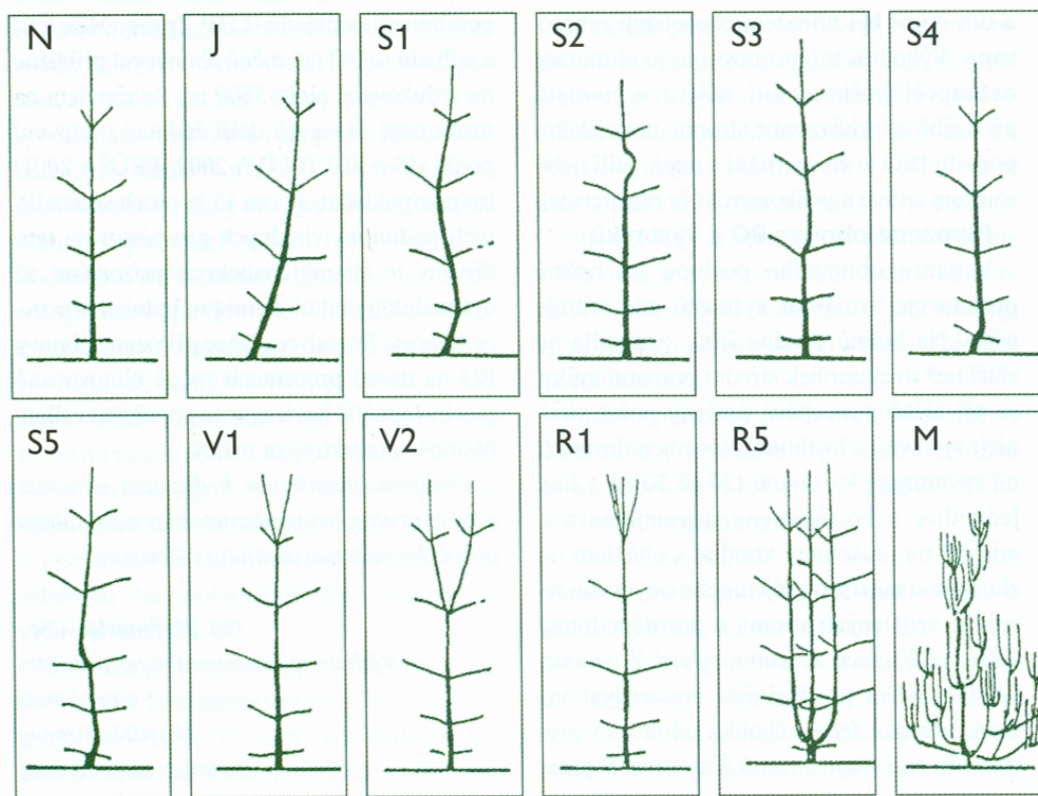
3. Štíhlostní koeficient

Štíhlostní koeficient, definovaný jako poměr mezi výškou a tloušťkou byl dodatečně vypočítaný a jeho hodnota byla jedním z ukazatelů výběru nadějných jedinců.

Kvalitativní znaky

1. **Tvar kmene** Při hodnocení tvaru kmene, který jsme si stanovili jako hlavní kvalitativní kritérium výběru nadějných potomků, jsme vycházeli ze zjednodušené klasifikace tvaru kmene podle Nárovce (1999).

Hlavním nežádoucím jevem v současných nejmladších borových porostech je značný podíl jedinců s neprůběžným kmínkem (hlavní osou) a různé typy tvarových deformací habitus borovic. Tvarové deformace borovic jsou různého typu (zakřivení hlavní osy, tvorba dvojáků či rozsoch apod.) a vyskytují se zpravidla



Obrázek 2: Klasifikace tvaru kmene podle Nárovce (Nárovcová et al. 2004)

(v průměru) u více než 60% jedinců v mladých kulturách. Převažují deformace průběžnosti kmene typu esovitého zakřivení hlavní osy (66%), jednostranného prohnutí hlavní osy (6%) či tvorba mnohočetných vrcholů (28%). Dominujícím faktorem, podmiňujícím vznik tvarových deformací a odchylek průběžnosti svislé osy, je dicyklický růst proleptických výhonů (u 2/3 tvarově deformovaných jedinců). U mladých borovic má tento fenomén (letní růst výhonů) společně se zmnožováním počtu pupenů na vrcholových prýtech specifický časový průběh (největší podíl jedinců s proleptickými výhonky vykazuje kultury ve věku 3 a 4 let po založení; v kulturách tohoto věku se průměrný podíl borovic s proleptickými výhonky zpravidla pohybuje v rozpětí od 15 do 20%, avšak v jednotlivých les-

ních kulturách bývá situace velmi proměnlivá). Rozmanitost podmínek, za nichž u borovice lesní jednotlivé tvarové odchylky vznikají, naznačila, že tento proces (jev) nelze posuzovat z hlediska jednoho příčinného faktoru. V zásadě dosud z našich i zahraničních výzkumných šetření vyplývají čtyři základní okruhy faktorů, jež vznik tvarových odchylek vzájemně podmiňují. Jde především o vrozené dispozice (genetické vlivy) včetně morfologické a fyziologické kvality používaného sadebního materiálu borovice lesní, o klimatické podmínky (zejména teplotní a srážkové poměry), půdní podmínky (včetně opatření řízené výživy rostlin) a světelné podmínky (např. délka dne v některých regionech na stanovišti výsadby (Kaňák et Nárovec, 1999; Nárovec, 2000).

U všech stromků byl tedy jako kvalitativní znak sledován tvar kmene podle zjednodušené klasifikace Nárovce (VÚLHM VS Opočno):

- rovný vzpřímený kmen bez deformací byl značen „N” (normální),
- tvary deformací pak jako „J” (jednostranně prohnutý),
- „S” dvoustranně prohnutý,
- „V” vidličnatost kmene,
- „R” rozsocha.

Z této klasifikace nebyly posuzovány (rozlišovány) deformace S1-5, V1-2, R1-2 a tvary M a K, které můžeme doložit pouze maximálně do věku 6 až 8 let. Naopak, tvary J a S byly doplněny buď písmenem „a” v případě mírné deformace, způsobené např. bujným růstem, poraněním apod., resp. písmenem „z” v případě silné deformace, kde se jednalo o nezvratnou deformaci, patrnou i v budoucnu a zřejmě i geneticky podmíněnou. U deformací typu „V” a „R” byl kladen důraz na jejich správné posouzení, tzn., jestli nebylo příčinou primární poškození biotickými (např. obaleč prýtový, ptáci apod.) nebo abiotickými činiteli (vítr, kroupy,

námraza apod.). Tyto případy se však daly naštěstí poměrně dobře rozlišit: u geneticky podmíněných deformací mají totiž tendenci se pravidelně v určité periodicitě opakovat. Navíc deformace, způsobené pouze vnějšími činiteli, mají velmi rychlou tendenci k nápravě. Silně vyvinutý negativní geotropismus upřednostňuje většinou jen jeden postranní pupen či výhon k převzetí funkce poškozeného terminálu. U těchto poškození se zpravidla po 3 až 5 letech deformace vyrovnává a nemá tak trvalé následky.

V hodnocení tvaru kmene bylo stanoveno toto pořadí podle závažnosti: N, Ja, Sa, Jz, Sz, V a R. Stromy s deformacemi typu Jz, Sz, V a R byly označeny jako nevyhovující a klony, v jejichž potomstvech se vyskytovaly, jsme označili za neperspektivní a jsou z dalšího šlechtění vyřazeny. Při hodnocení tvarových deformací na obou testovacích plochách v r. 2000 bylo konstatováno, že obdobně jako u jiných srovnatelných výsadeb nebyla ani zde potvrzena výchozí hypotéza o dominantním vlivu zeměpisného původu na četnost letního růstu výhonů u borovice lesní a s tím souvisejícími tvarovými deformacemi stromků v mladých borových kulturách. Podle dosud provedených šetření se jeví charakter (vliv) stanoviště (obecně jeho úživnost a klimatická charakteristika, vyplývající z nadmořské výšky) jako daleko významnější faktor iniciace množování počtu pupenů na koncových letorostech a letního růstu výhonů než je samotný vliv původu (provenience) borových kultur (Kaňák et Nárovec, 1999; Kaňák et Nárovcová, 2004). Právě zmnožení počtu pupenů na koncových letorostech a letní růst výhonů má za následek růstové deformace (tvaru S, V, R) u mladých borových kultur. Tyto tvarové deformace se však vyskytují u drtivé většiny stromků pouze dočasně (max. do 8-10 let) a ve vyšším věku již nebývají patrné. Vyskytují-li se však periodicky nadále i ve vyšším věku, jde s největší pravděpodobností o genetickou zátěž a tyto genotypy je třeba z dalšího šlechtění vyřadit.

2. **Mortalita** Na obou plochách byla sledována a evidována mortalita. Ta je čás-

tečně, ale nepodstatně zkreslená, protože byla na obou testovacích plochách v minulosti provedena slabá probírka, zaměřená především na zpřístupnění ploch pro měření odstraněním nalétnutých dřevin a suchých popř. výrazně ustupujících jedinců. Také v průběhu našeho měření a hodnocení byly evidentně slabé a ustupující (výrazně podúrovňové) stromky též z hodnocení a měření vynechány.

3. Větvení (množství, tloušťka a charakter)

Sledování a hodnocení této charakteristiky nebylo v první fázi hodnocení prováděno, ale bylo podle plánu realizováno až v další fázi, ve fázi selekce, kterou představovalo dodatečné a opakované posuzování a okulární hodnocení již vybraných perspektivních jedinců v potomstvech pro založení sadu vyšší generace před odběrem vzorků na DNA. U každého vybraného jedince bylo znovu prováděno okulární hodnocení celkového habitu právě s ohledem na poměr mezi silou větví a tloušťkou kmene a úhel nasazení větví vzhledem k ose kmene.

Původní metodická představa hodnocení spočívala v posouzení velikosti úhlu nasazení větví a průměrné síly větví u každého stromu, tedy posuzování následujících hodnot:

Úhel nasazení větví

- kolmý nebo téměř kolmý ke kmeni - 1. stupeň,
- cca 60 až 90 stupňů - 2. stupeň,
- cca 45 až 60 stupňů - 3. stupeň,
- významně ostřejší úhel (0 až 45) - 4. stupeň.

Síla větví (posuzovaná relativně k tloušťce kmene):

- tenké,

- střední,
- silné.

Po venkovním šetření bylo rozhodnuto posuzovat pouze 4. stupeň, tedy významě ostrý úhel nasazení větví 0 - 45 stupňů, neboť v těchto případech oprávněně hrozí vidličnatost kmene. Navíc bylo zjištěno, že hodnocení úhlu větví je velmi problematické: úhel větví je totiž různý nejen v průběhu věku (čím starší, tím kolmější ke kmeni, čím mladší, tím ostřejší úhel), ale mnohdy i v jednom přeslenu.

U síly větví bylo rozhodnuto vyznačovat pouze případy relativně silných větví vzhledem k průměru kmene. Síla větví je ve zřejmé korelaci k průměru kmene, a proto jsou kategorie tenké - střední - silné velmi zavádějící. Byly tedy označeny pouze stromy s takovou silou větví, která se (s ohledem na průměr kmene) již nedala tolerovat a ty byly z výběru vyloučeny. Je na uvážení, jestli při hodnocení dalších testovacích ploch tuto charakteristiku nesledovat již v 1. fázi měření a hodnocení s tím, že bychom uvedenou metodiku přizpůsobili metodice, používané např. ve Švédsku, kde je tato charakteristika sledována a klasifikována.

Veškeré naměřené a posuzované charakteristiky byly dále statisticky zpracovány.

3.3 Statistické zpracování biometrických měření

Cílem zvažované selekce v semenném sadu, tj. převod stávajících sadů první generace na sady 1,5. generace, je navýšení genetického zisku u sledovaných znaků. Genetický zisk bude realizován v provozních podmínkách při využití reprodukčního materiálu původem z těchto sadů.

U zvažovaných znaků v tomto projektu převažuje aditivní složka genetického rozptylu, navíc se empiricky předpokládá dominantní podíl genů s malým účinkem. Budeme tedy předpokládat (a ověřovat) normalitu rozdělení studovaných znaků. Při přenosu specifické alely (funkční formy genu) z rodiče na potomka je tedy důraz kladen

na její aditivní účinek s ohledem na proměnlivost sledovaného znaku. Prostý součet aditivních účinků všech těchto alel pak označujeme jako tzv. šlechtitelskou hodnotu jedince. Odhad šlechtitelské hodnoty se pak uplatňuje jako selekční kritérium (v případě více znaků je kritériem selekční index, ve kterém jsou přiřazeny ekonomické váhy jednotlivým znakům).

Pro odhad šlechtitelských hodnot bylo využito smíšených lineárních modelů. V obecné rovině můžeme deklarovat závislost

$$y = c_1b_1 + c_2b_2 + \dots + c_nb_n \quad (4)$$

kde c_i jsou konstanty a b_i jsou neznámé parametry. Předmětem statistické analýzy je odhad (označujeme \hat{y}) výše uvedené parametrické funkce. Obvykle předpokládáme lineární vztah mezi parametry této funkce. Z velkého počtu řešení (neustranných lineárních odhadů) pak vybíráme takové, které vykazuje minimální rozptyl. Odhady šlechtitelských hodnot pak často označujeme jako tzv. BLUP hodnoty (jsou nejlepším neustranným lineárním odhadem skutečných šlechtitelských hodnot).

Uvedenou lineární závislost (model) je možné aplikovat při hodnocení testovacích výsadeb. Při analýze byl využit následující model:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{e} \quad (5)$$

kde \mathbf{y} je vektorem ($n \times 1$) naměřených hodnot u sledovaného znaku (n je počet měření), \mathbf{b} je vektorem ($p \times 1$) veličin s fixním účinkem (p je počet úrovní dané veličiny), \mathbf{a} je vektorem ($q \times 1$) veličin s náhodným účinkem (q je počet úrovní dané veličiny), \mathbf{e} je vektorem ($n \times 1$) chyb (reziduí), \mathbf{X} je maticí ($n \times p$) propojující \mathbf{y} s \mathbf{b} , a \mathbf{Z} je maticí ($n \times q$) propojující \mathbf{y} s \mathbf{a} .

Předpokládá se, že střední hodnota $E(\mathbf{y}) = \mathbf{X}\mathbf{b}$ a $E(\mathbf{a}) = E(\mathbf{e}) = 0$. Chyby, které zahrnují náhodné vlivy prostředí a neaditivní genetické účinky, jsou nezávislými náhodnými veličinami, každá z nich má rozdělení $N(0, \sigma_e^2)$, kde σ_e^2 je neznámým parame-

trem. Následně je možné vyjádřit $\sigma^2(e) = \mathbf{I}\sigma_e^2 = \mathbf{R}$, $\sigma^2(a) = \mathbf{A}\sigma_A^2 = \mathbf{G}$ a kovariance $\sigma(a, e) = 0$, kde \mathbf{A} je aditivní příbuzenskou maticí vypočítanou z rodokmene. Dále platí, že $\sigma^2(y) = \mathbf{Z}\mathbf{G}\mathbf{Z}' + \mathbf{R}$.

Odhad výše uvedené parametrické funkce se provede vyřešením následující soustavy (Mrode, 1996):

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \mathbf{A}^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{a} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \end{bmatrix} \quad (6)$$

kde $\alpha = \sigma_e^2/\sigma_a^2 \Leftrightarrow (1 - h^2)/h^2$.

Hodnoty rozptylu a kovariancí (matice \mathbf{R} a \mathbf{G}) se odhadují z dat modifikovanou metodou maximální věrohodnosti (restricted maximum likelihood, REML). Dále jsme vycházeli z původního schématu výsadby, resp. náhodného uspořádání potomstev v rámci dané lokality. Zvažovali jsme fixní účinek lokality a náhodný účinek aditivní genetické hodnoty na sledovaných znacích. V základním modelu jsme nezvažovali vliv konkurence sousedních jedinců na měřeného jedince. V tomto modelu jsme matici \mathbf{R} modelovali pomocí jednotkové matice \mathbf{I} :

$$\mathbf{R} = \sigma_e^2\mathbf{I} \quad (7)$$

kde jednotková matice \mathbf{I} je definována jako:

$$\mathbf{I} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & 1 & 0 & \dots & \vdots \\ 0 & 0 & 1 & \dots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & \dots & \dots & 1 \end{bmatrix} \quad (8)$$

Následně jsme použili vícekriteriální model zvažující průměr ve výčetní tloušťce a celkovou výšku za účelem získání genetické korelace mezi těmito znaky. V tomto případě je použit výše uvedený obecný lineární model:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{e} \quad (9)$$

kde v tomto případě \mathbf{y} je $n \times t$ vektor pozorování na t znacích, $\mathbf{b}(p \times t)$ je vektorem veličin s fixním účinkem (p je počet úrovní dané veličiny), $\mathbf{a}(q \times t)$ je vektorem veličin s náhodným účinkem (q je počet úrovní dané veličiny), \mathbf{e} je vektorem ($n \times t$) chyb (reziduí), \mathbf{X} je maticí ($n \times p$) propojující \mathbf{y} s \mathbf{b} , a \mathbf{Z} je maticí ($n \times p$) propojující \mathbf{y} s \mathbf{a} . Náhodné proměnné \mathbf{a} a \mathbf{e} jsou předpokládány jako proměnné s vícerozměrným rozdělením:

$$\mathbf{a} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{G}) \quad (10)$$

kde $\mathbf{G} = \mathbf{G}_0 \otimes \mathbf{A}$

$$\mathbf{G}_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{g1}^2 & \sigma_{g2,g1} & \sigma_{g3,g1} & \cdots & \sigma_{gt,g1} \\ \sigma_{g1,g2} & \sigma_{g2}^2 & \sigma_{g3,g2} & \cdots & \vdots \\ \sigma_{g1,g3} & \sigma_{g2,g3} & \sigma_{g3}^2 & \cdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \sigma_{g1,gt} & \cdots & \cdots & \cdots & \sigma_{gt}^2 \end{bmatrix} \quad (11)$$

a matice \mathbf{A} je aditivní matice příbuznosti vypočtená z informací z rodokmene.

$$\mathbf{e} \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{R}) \quad (12)$$

kde $\mathbf{R} = \mathbf{E}_0 \otimes \mathbf{I}$.

Výše uvedené analýzy (REML, BLUP) byly provedeny s využitím software ASReml (Gilmour et al., 2006).

4 Výsledky

4.1 Fenologie kvetení

4.1.1 Výsledky sledování v r. 2009

Jaro v roce 2009 bylo velmi atypické: teplé a suché a zvláště duben byl mimořádně teplý. To mělo zcela zásadní vliv na rašení a kvetení všech druhů dřevin i bylin a samozřejmě i borovice lesní. Podle dlouholetých fenologických sledování (podle ČHMÚ) bylo její rašení (včetně kvetení) urychlené o 1 až 2 týdny. Tato klimatická anomálie měla za následek to, že ramety všech klonů bez ohledu na polohu vykvetly ve stejnou dobu.

Podle výsledků, uvedených v přílohách 7 a 8 (stav kvetení 5. a 15. 5. 2009) je tedy patrné, že převážná část klonů (resp. ramet) kvetla současně a teoreticky se tedy mohly „setkat“ a vzájemně opylit. Tento atypický průběh počasí na jaře 2009 (kontinuálně přetrvávající teplé počasí) měl také za následek to, že ve třetím termínu sledování (25. 5.) jsme mohli už jen konstatovat, že vývoj kvetení u všech ramet je na stupni 5, což znamená, že veškerá samčí i samičí květenství u všech ramet jsou již odkvetlá.

Ukázalo se tedy, že interval 10 dnů pro opakování sledování je příliš dlouhý a je třeba jej zkrátit maximálně na 7 dní.

Výsledky sledování fenologie kvetení uvedeného semenného sadu byly tedy ovlivněny průběhem počasí počátkem roku a v první polovině roku 2009 a zřejmě i polohou semenného sadu, umístěného na svahu a v jehož spodní části je mrazová kotlina. Zajímavé, ale logické je, že vývoj kvetení u všech ramet téhož klonu byl téměř identický a nebyl ani příliš ovlivněn jejich polohou v sadu.

Z uvedených výsledků vyplývá, že téměř všechny ramety, a tedy i klony, se na jaře roku 2009 mohly zúčastnit opylování a plození. Nebyla tedy potvrzena obava, že některé klony ve sledovaném semenném sadu mají posunutou fenologii kvetení do takové míry, že by se při kvetení nemusely „setkat“. Je však evidentní, že ve sledovaném období (jaro 2009) byly výjimečné klimatické podmínky, které s největší pravděpodobností

tuto uniformitu kvetení vyprovokovaly.

Z těchto důvodů bylo navrženo, aby se minimálně pro vybrané perspektivní klony pro semenný sad 2. generace zopakovalo sledování fenologie kvetení. K tomuto doplňujícímu sledování byl vhodnější semenný sad Doubrava (LS Plasy), jehož poloha, na rozdíl od hodnoceného semenného sadu Silov u Nepomuka, eliminuje mikroklimatické rozdíly stanoviště jednotlivých ramet, které by mohly nástup a průběh kvetení ovlivnit, ale je na celkové hodnocení příliš rozsáhlý (více než 6 ha).

4.1.2 Výsledky sledování v r. 2010

V porovnání s jinými roky bylo jarní období roku 2010 z klimatického hlediska normální. To mělo paradoxně nepříznivý dopad na kvetení semenného sadu v Silově u Nepomuka: na rozdíl od r. 2009, kdy byl velmi markantní rychlý nástup jarního období, byl tentokrát tento nástup „normální“, tedy pozvolný. To však u zmíněného semenného sadu znamenalo především to, že ramety, umístěné v horní části sadu, vykvetly podstatně dříve než ty, které byly vysázeny v dolní části sadu v mrazové kotlině.

Oproti roku 2009 byla fenologie kvetení sledována v kratších časových intervalech, a to 10., 17. a 24. května 2010. Poslední sledování bylo prováděno 4. června 2010, kdy bylo však závěrem konstatováno, že všechny šišťice i prašníky jsou již odkvetlé. Z tohoto důvodu nebyl ani prováděn zápis sledování. V r. 2010 byla také vyhodnocena denzita kvetení (Příloha 12 a 13).

Z příloh 9, 10 a 11 je patrné, že se v r. 2010 ramety některých klonů při kvetení patrně „nemohly setkat“ a z tohoto důvodu byla funkčnost uvedeného semenného sadu v r. 2010 omezená.

Z uvedených sledování vyplývá, že semenný sad borovice lesní Silov u Nepomuka má paradoxně při „normálním průběhu počasí“ do určité míry omezenou funkčnost v tom slova smyslu, že ramety v horní části sadu a v dolní části sadu jsou víceméně autonomní a nemohou se navzájem opylovat z důvodu klimatické bariéry kvetení. V

období dlouhé zimy a rychlého a časného nástupu jara se tento semenný sad chová zcela standardně.

4.2 Verifikace klonů v semenných sadech

Součástí této práce byla verifikace klonů a jim příslušných ramet pomocí jednak analýzou na bázi mikrosatelitů DNA a jednak pomocí metod na bázi morfologických markerů. Tyto metody, v této práci označené jako „terénní metody“, jsou postavené na shodě morfologických znaků šišek, resp. semen u stejných genotypů.

Paralelně s řešením této práce probíhalo šetření pracovníků VÚLHM (Ivanek et al., 2009) s obdobnou pracovní náplní, jejímž cílem byla verifikace téhož souboru klonů pomocí izoenzymů. To nám poskytlo možnost porovnat tyto metody u společně verifikovaných klonů a jejich ramet. Výsledky tohoto srovnání jsou uvedeny v Příloze 14 a nevyznívají pro izoenzymy příliš lichotivě: výsledky této metody jsou mnohdy nejednoznačné a to si v našem případě nemůžeme dovolit.

Mimo verifikace klonů a ramet v semenném sadu porovnávali Ivanek et al. (2009) i klony přímo s rodičovskými stromy. Závěrem svého hodnocení uvádějí, že vyhodnocení izoenzymových analýz 14 rodičovských stromů potvrdilo jejich příslušnost k deklarovanému klonu ve 13 případech. U rodičovského stromu označeného jako klon 2975 byl zjištěn rozdíl oproti rametám téhož označení klonu v sadu č. 79 - Doubrava (homogenní klon). Jednalo se o rozdíl v zastoupení alel u lokusu 6-PGDH-B.

Pracovníci LČR sebrali dále 10, pro zhotovitele anonymních vzorků, označených A, B, C, ..., I, aby měli kontrolu spolehlivosti této metody. V případě 10 anonymizovaných rodičovských stromů byly odpovídajícím klonům jednoznačně přiřazeny jedinci s označením F a J, tedy pouze ve dvou případech. Další dva vzorky odpovídaly dvěma možnostem a 6 vzorků nebylo možné přiřadit vůbec, vzhledem k tomu, že jejich alelické kombinace jsou ve sledovaném sadu zastoupeny velkým počtem (31) klonů (Ivanek et al. 2009).

Z tohoto závěru jasně vyplývá, že tato metoda, nebo její „použité nastavení“ je zřejmě pro exaktní a jednoznačné určení příslušnosti jednotlivých stromů a klonů nevhodná. Jestliže nám na jednoznačně položenou otázku o příslušnosti rodičovského stromu ke konkrétnímu klonu nabízí ve dvou případech dvě možnosti, resp. 6 stromů nedokáže vůbec přiřadit, protože „jejich alelické kombinace jsou ve sledovaném sadu zastoupeny velkým počtem (31) klonů“, postrádá v uvedeném případě její využití smysl.

4.2.1 Srovnání verifikačních metod

Jak už bylo uvedeno, výsledky izoenzymových analýz byly srovnány s analýzou na bázi mikrosatelitů DNA (Příloha 14). Na základě vyhodnocení se prokázalo, že metoda izoenzymů je pro verifikaci klonů resp. jejich ramet nejednoznačná (hodnotíme zde konkrétní výsledky, nikoli metodu jako takovou). Velmi průkazné je to např. právě u ramet klonu 2991, které vyšly jako jednoznačně homogenní na rozdíl od hodnocení pomocí izoenzymů. Také porovnání šišek ostatních ramet klonu 2991 s rametou K 4, která je označená u izoenzymů jako odlišná od ostatních, vyznívá přesvědčivě pro tentýž klon. Homogenitu všech ramet tohoto klonu nakonec jednoznačně ukázala analýza DNA (viz. Obr. 3). Zajímavé a zároveň velmi nadějně je, že tzv. terénní metody verifikace pomocí morfologických markerů (šišek - viz. Obr. 7 nebo semen - viz. Obr. 8) jsou v souladu s metodou mikrosatelitů DNA.

Klon	SO		ID	rodíč	BOR1		BOR2		BOR3		BOR7		BOR10		BOR11		BOR13		BOR15		BOR16		BOR20
	loc	SPAC 11.4			SPAC 11.6	SPAC 12.5	LOF 1	PTIX 2146	PTIX 3025	PTIX 3107	PTIX 4001	PTIX 4011	SPRP_05_64										
2991		P-133	V69	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-518	V73	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-620	V80	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-U58	V89	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-T40	V99	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-F45	V100	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-D31	V110	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-A51	V112	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-S30	V114	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-I54	V117	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-I26	V123	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-M19	V125	4	10	30	30	8	15.1	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-C5	V129	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-O25	V195	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-B26	V213	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-R55	V221	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-C14	V228	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-R46	V233	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-K4	V243	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
		P-J13	V254	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3
	P-R12	V258	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3	
	P-T3	V260	4	10	30	30	8	16	2	4	14	16	1	1	1	4	9	10	2	2	3	3	

Obrázek 3: Verifikace ramet klonu 2991 analýzou mikrosatelitů



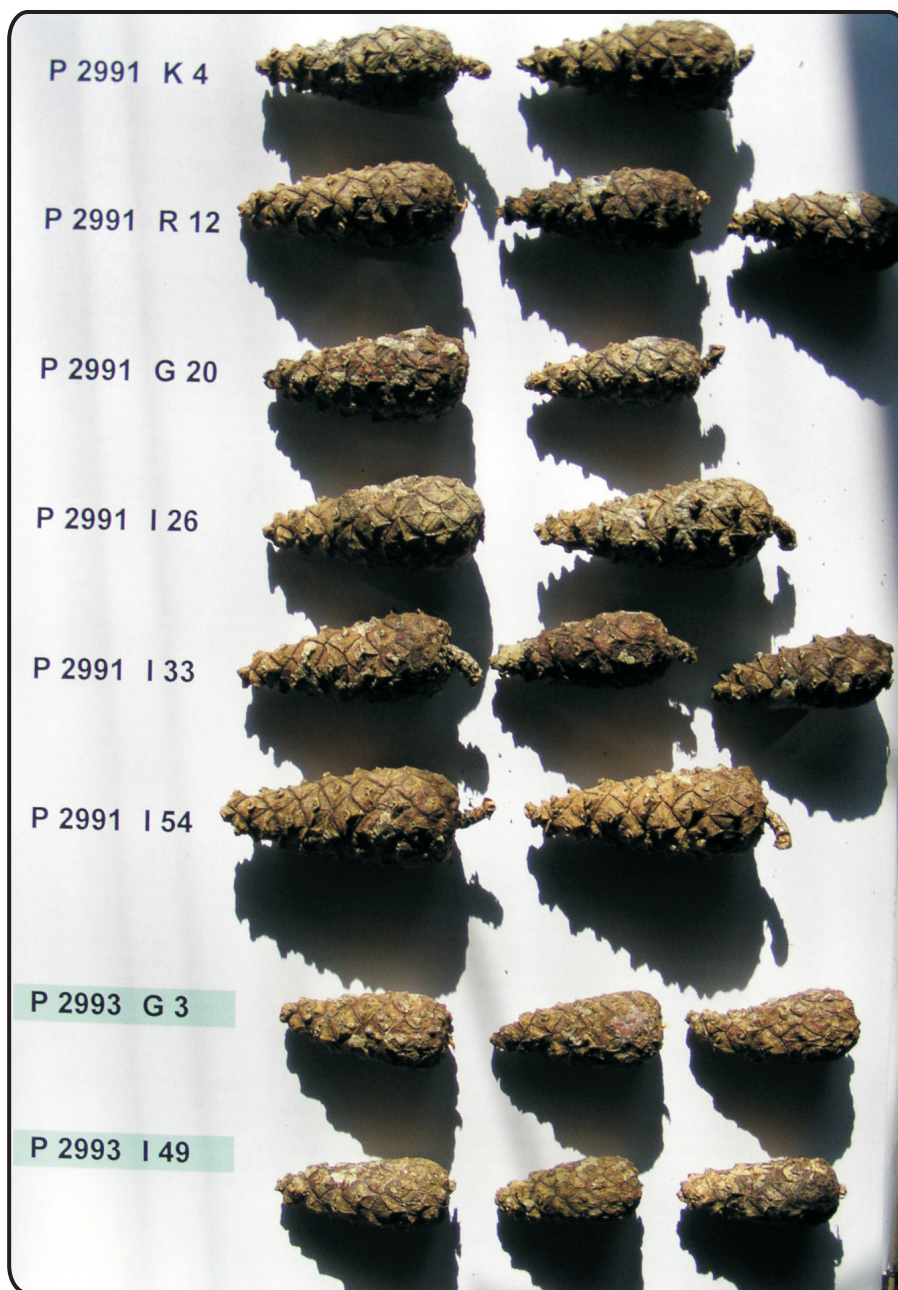
Obrázek 4: Fotodokumentace šišek ramet klonu 2353



Obrázek 5: Fotodokumentace semen ramet klonu 2353



Obrázek 6: Fotodokumentace semen ramet klonu 2353 (pokrač.)



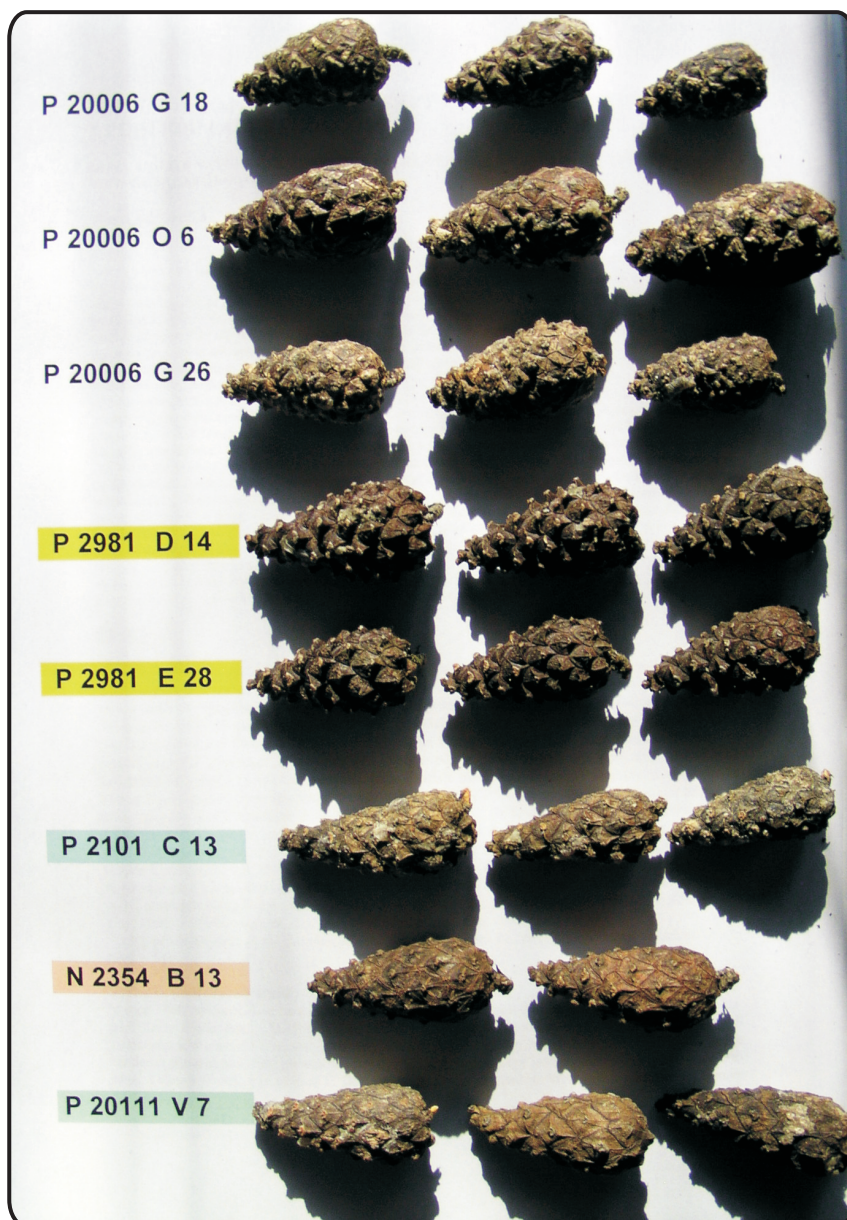
Obrázek 7: Fotodokumentace šišek ramet klonů 2991 a 2993



Obrázek 8: Fotodokumentace semen ramet klonu 2991



Obrázek 9: Fotodokumentace semen ramet klonu 2993



Obrázek 10: Fotodokumentace šišek ramet klonů 2981 - 2 řady uprostřed



Obrázek 11: Fotodokumentace semen ramet klonu 2981



Obrázek 12: Fotodokumentace šišek ramet klonů 2371



Obrázek 13: Fotodokumentace semen ramet klonu 2371



Obrázek 14: Fotodokumentace semen ramet klonu 2371

4.3 Biometrická měření

4.3.1 Výška a tloušťka

V roce 2000 se průměrná výška potomstev na ploše Nepomuk pohybovala v rozmezí od 368 do 465 cm a kontrolní vzorky 363 resp. 458 cm. Testovaný soubor byl poměrně homogenní, $S_x(\%)$ celého souboru byla 6%. Na ploše Skelná Huť byla v r. 2000 naměřena průměrná výška potomstev v rozmezí 100 až 255 cm a $S_x(\%)$ celého souboru byla 11%. U kontrolního vzorku (místní populace) dosahovala průměrná výška 187 cm a $S_x(\%)$ 22% (Kaňák J., 2001).

Odhad heritability (v užším slova smyslu) činil 0,34 pro výšku (chyba odhadu = 0,08) a 0,23 pro tloušťku (chyba odhadu = 0,06). V tabulce č. 5 je mimo mortalitu uveden seznam klonů testovaných na lokalitě Nepomuk s odhadem šlechtitelských hodnot

Tabulka 5: Seznam klonů testovaných na lokalitě Nepomuk

Klon ID	Mortalita [%]	Výška - střed	Výška - chyba	Tloušťka - střed	Tloušťka - chyba
2348	54,50	1062,96	25,05	9,12	0,46
2350	56,00	1078,60	19,31	9,13	0,37
2351	49,50	820,90	32,88	8,25	0,55
2352	61,50	869,72	34,34	9,63	0,56
2353	50,00	894,97	21,86	8,45	0,41
2354	52,00	982,91	17,96	8,77	0,34
2355	47,00	909,16	30,91	9,24	0,53
2357	51,20	1036,79	20,58	9,71	0,39
2358	51,00	859,70	21,11	9,29	0,40
2359	51,50	1016,23	21,32	10,00	0,40
2360	49,20	880,80	21,25	8,74	0,40
2361	64,00	985,37	20,52	7,99	0,39
2363	58,50	956,68	19,45	8,16	0,37
2364	54,50	1049,48	25,20	9,28	0,46
2365	66,50	1011,42	20,28	9,54	0,39
2366	55,60	1001,06	19,59	8,20	0,37
2367	49,00	973,67	23,39	9,30	0,44
2369	52,40	1015,43	20,00	9,29	0,38
2370	49,14	969,86	21,47	9,02	0,41
2371	54,00	1006,86	18,88	8,85	0,36
2372	57,60	931,91	20,11	8,39	0,38
2373	54,00	989,59	20,77	8,95	0,39
2374	49,33	911,49	21,78	8,91	0,41
2375	51,00	1097,20	21,78	10,01	0,41
2379	45,50	941,45	19,31	8,55	0,37
2380	49,20	934,34	21,25	9,64	0,40
2655	55,00	960,59	20,90	8,71	0,40
2657	56,50	873,52	22,38	9,57	0,42

Tabulka 5: Seznam klonů testovaných na lokalitě Nepomuk (pokrač.)

Klon ID	Mortalita [%]	Výška - střed	Výška - chyba	Tloušťka - střed	Tloušťka - chyba
2658	53,50	973,48	19,79	9,14	0,38
2659	60,00	1003,96	20,83	8,92	0,40
2667	55,00	1006,67	19,22	9,06	0,36
S1	63,00	989,77	22,86	9,72	0,43
S15	54,00	1011,22	21,54	9,22	0,41
S2	58,80	888,09	22,66	9,31	0,43
S3	50,00	990,87	22,47	8,80	0,42
S4	52,00	899,61	19,22	7,93	0,36
S5	58,00	945,97	17,47	9,26	0,33
S6	58,00	957,07	20,46	8,83	0,39
X1	72,00	971,46	22,03	9,32	0,42
X2	59,50	895,04	25,84	8,99	0,47

pro výšku a tloušťku (včetně chyb odhadů). V tabulce č. 6 je uveden obdobný seznam na lokalitě Skelná Huť.

Pro získání odhadů genetických parametrů bylo použito více modelů specifikovaných v kapitole „Statistické zpracování biometrických měření“. V případě výsadby Skelná Huť jsme získali aditivní genetický rozptyl 2.737,9 (chyba odhadu = 621,1) pro výšku a 1,28 (chyba odhadu = 0,32) pro tloušťku. Heritabilita dosáhla hodnot 0,39 (chyba odhadu = 0,08) pro výšku a 0,25 (chyba odhadu = 0,59) pro tloušťku. Prostorové uspořádání reziduí pro oba sledované znaky je zobrazeno v grafech na Obr. 15 a 16. Z vícekriteriálního modelu jsme získali pozitivní hodnotu genetické korelace, která dosáhla 0,14 (chyba odhadu = 0,07), ovšem je potřebné doplnit, že odhad genetické korelace je obecně zatížen vysokou chybou, což je dáno především schématem založení celého experimentu. Pro přesnější odhad genetické korelace by bylo zapotřebí úplného dialelního křížení s větším počtem replikací. K hodnotě 0,14 je tedy potřebné přistupovat obezřetně.

Tabulka 6: Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť

Klon ID	Mortalita [%]	Výška - střed	Výška - chyba	Tloušťka - střed	Tloušťka - chyba
2002	70,00	591,99	38,71	7,44	0,98
2097	65,33	579,76	19,68	9,31	0,53
2098	38,75	650,15	20,08	9,30	0,54
2099	35,33	590,79	15,82	5,67	0,43
2101	47,78	612,27	20,36	8,11	0,55
2102	23,00	702,51	17,17	7,01	0,47
2103	66,67	527,88	31,38	8,29	0,83
2349	16,00	672,13	21,14	5,43	0,57
2350	65,00	554,98	33,75	9,40	0,88
2351	36,00	703,00	23,06	6,68	0,62
2352	52,86	600,09	22,84	6,95	0,62
2353	40,00	636,87	18,74	7,52	0,51
2355	71,25	634,55	25,45	8,56	0,68
2356	22,00	611,65	17,09	6,44	0,46
2357	60,00	618,05	37,16	7,87	0,95
2358	70,00	721,00	34,73	7,31	0,90
2360	30,00	660,41	15,38	6,99	0,42
2361	50,00	688,76	31,38	7,64	0,83
2363	42,00	522,75	18,96	6,86	0,51
2364	25,00	568,00	28,54	6,39	0,76
2365	43,33	648,29	27,64	8,01	0,74
2366	18,00	728,10	21,31	5,88	0,58
2369	45,00	601,05	19,31	6,92	0,52
2371	47,00	609,45	19,55	7,08	0,53
2373	70,00	545,98	38,71	8,10	0,98
2374	24,00	573,16	21,84	5,84	0,59
2375	68,89	587,88	24,02	8,83	0,65
2377	60,00	673,65	32,88	7,37	0,86

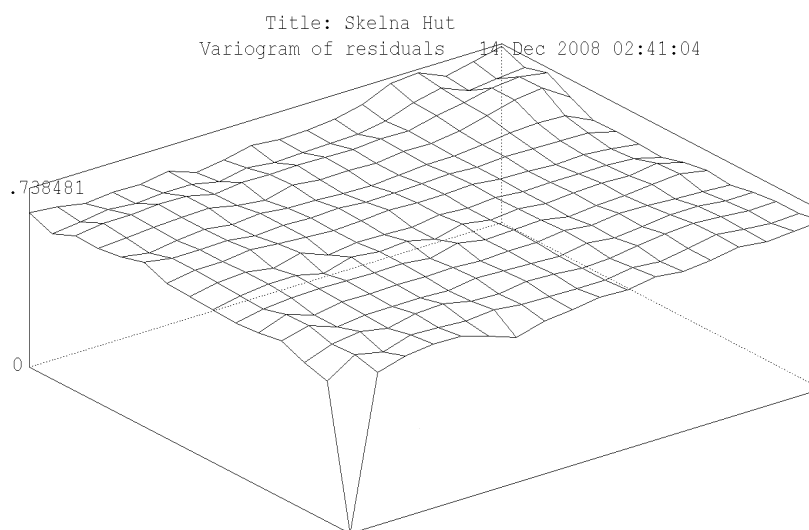
Tabulka 6: Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť (pokrač.)

Klon ID	Mortalita [%]	Výška - střed	Výška - chyba	Tloušťka - střed	Tloušťka - chyba
2378	60,00	628,35	37,16	7,09	0,95
2379	40,00	596,50	18,74	7,61	0,51
2653	45,00	610,62	30,72	7,16	0,81
2654	26,00	630,98	22,03	7,80	0,60
2655	21,25	616,84	18,42	6,19	0,50
2657	46,00	598,88	16,86	7,07	0,46
2658	25,71	682,20	19,68	7,77	0,53
2659	16,00	578,45	21,14	6,40	0,57
2776	60,00	606,00	37,16	6,74	0,95
2918	50,00	579,49	35,85	7,28	0,92
2975	60,00	585,46	21,48	7,12	0,58
2976	43,33	604,21	27,64	8,36	0,74
2978	52,50	543,93	19,07	9,01	0,52
2979	53,33	608,80	29,03	7,47	0,77
2980	48,00	629,80	24,56	7,82	0,66
2981	46,67	663,05	20,22	7,51	0,55
2982	41,33	646,19	16,38	6,95	0,44
2983	35,00	575,88	24,56	7,18	0,66
2984	30,00	675,34	24,02	7,05	0,65
2985	30,00	607,08	13,89	7,10	0,38
2986	52,50	583,68	21,84	8,01	0,59
2987	35,00	637,94	16,18	7,64	0,44
2988	38,33	654,21	17,41	7,91	0,47
2989	86,67	640,39	37,16	8,06	0,95
2990	49,33	596,53	17,25	7,30	0,47
2991	18,00	688,50	21,31	5,79	0,58
2992	47,50	602,70	26,11	7,32	0,70
2993	20,00	567,67	21,48	5,60	0,58

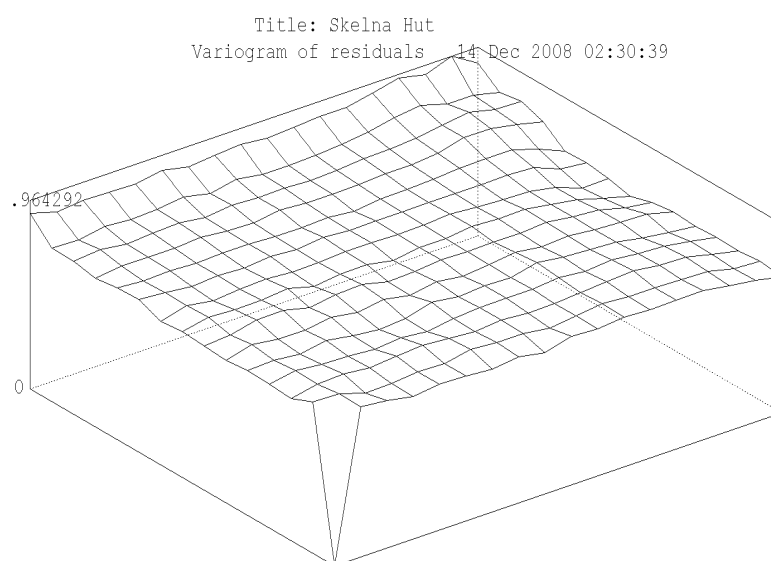
Tabulka 6: Seznam klonů testovaných na lokalitě Skelná Huť (pokrač.)

Klon ID	Mortalita [%]	Výška - střed	Výška - chyba	Tloušťka - střed	Tloušťka - chyba
2994	28,75	643,59	19,07	6,87	0,52
2995	28,00	663,58	22,22	5,49	0,60
2997	40,00	599,99	20,22	7,01	0,55
2998	47,50	614,25	26,11	7,51	0,70
20001	63,33	575,65	30,72	7,60	0,81
20002	32,50	650,47	15,23	7,59	0,41
20003	36,67	602,10	19,07	7,52	0,52
20004	34,44	691,30	18,85	8,50	0,51
20005	19,00	639,56	16,86	6,06	0,46
20006	45,00	628,70	22,84	8,17	0,62
20007	76,67	515,70	33,75	9,59	0,88
20008	53,33	647,33	29,03	7,94	0,77
20010	49,00	579,09	19,81	7,14	0,54
20011	34,44	607,52	18,85	6,56	0,51
20012	42,22	591,24	19,68	6,50	0,53
20107	20,00	559,13	21,48	6,02	0,58
20108	26,67	602,94	16,38	5,93	0,44
20109	30,00	638,56	33,75	6,89	0,88
20110	50,00	646,98	31,38	6,91	0,83
20111	65,00	567,60	33,75	8,99	0,88
20112	42,00	627,42	18,96	5,97	0,51

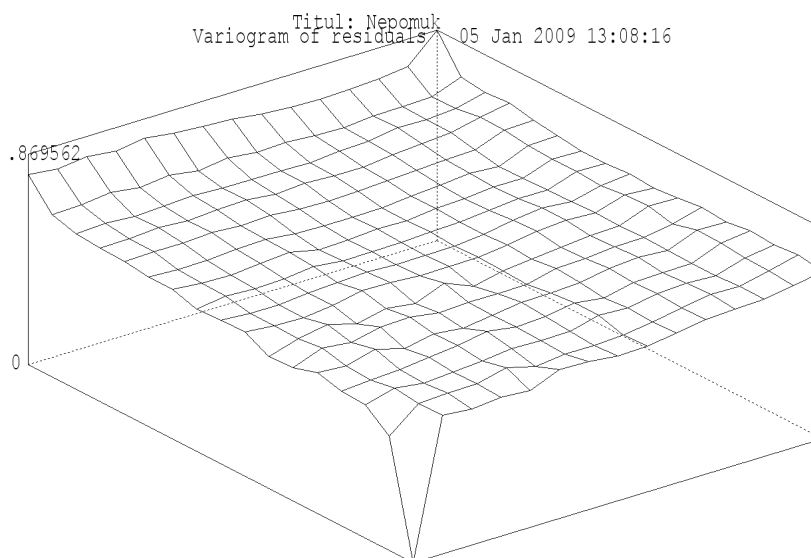
V případě výsadby Nepomuk jsme získali aditivní genetický rozptyl 4.305,9 (chyba odhadu = 1.107) pro výšku a 0,43 (chyba odhadu = 0,16) pro tloušťku. Heritabilita v tomto modelu dosáhla hodnot 0,4 (chyba odhadu = 0,09) pro výšku a 0,08 (chyba odhadu = 0,03) pro tloušťku. Prostorové uspořádání reziduí pro oba sledované znaky jsou zobrazeny v grafech na Obr. 17 a 18. Odhad genetická korelace dosáhl 0,33 (opět zatížen vysokou chybou odhadu = 0,19).



Obrázek 15: Prostorové uspořádání reziduí - výška (Skelná Huť)



Obrázek 16: Prostorové uspořádání reziduí - tloušťka (Skelná Huť)



Obrázek 17: Prostorové uspořádání reziduí - výška (Nepomuk)

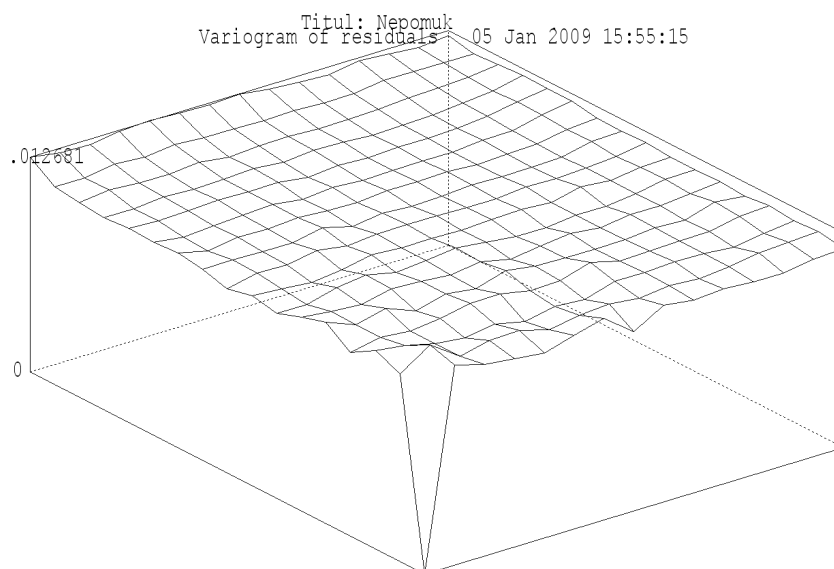
4.3.2 Štíhlostní koeficient

Jak už bylo uvedeno v metodice, štíhlostní koeficient byl dodatečně vypočítán pro každý měřený strom z údajů o výšce a tloušťce a byl jedním z parametrů výběru perspektivních jedinců pro analýza DNA. Kritérium výběru bylo, že štíhlostní koeficient vybraného jedince se nesmí výrazně odlišovat od mediánu stanoviště (tedy testovací plochy), resp. místní populace druhu. Zajímavým zjištěním byla identická hodnota „optimálního“ štíhlostního koeficientu (na bázi okulárního hodnocení s přihlédnutím k produkčním cílům lesního hospodářství) s mediánem celé kandidátské populace.

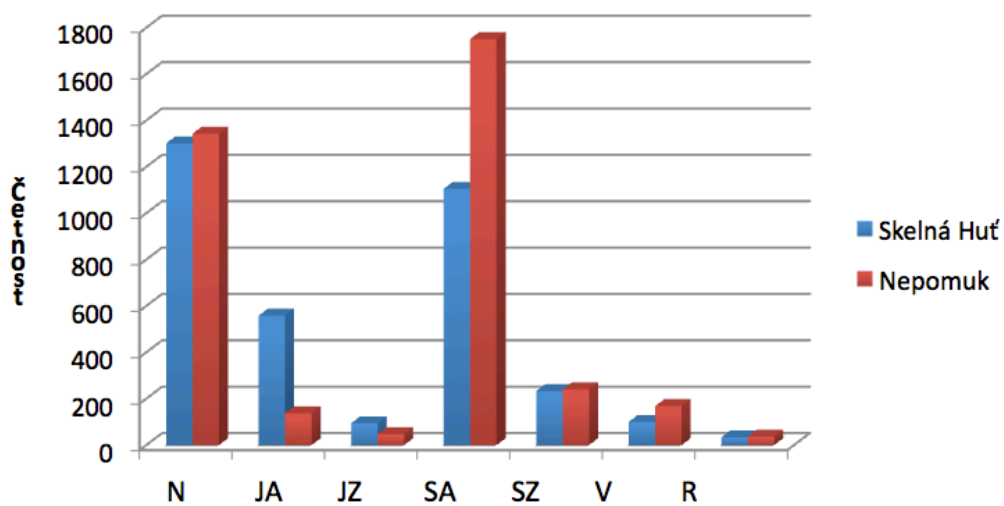
4.3.3 Tvárnost kmene

Zastoupení jednotlivých tříd tvárnosti na obou lokalitách je uvedeno na Obr. 19.

Z grafu je patrné, že jsou obě plochy z hlediska tvárnosti velmi podobné. U kategorií, které nás nejvíce zajímají (N, JZ, SZ, V a R), je jejich zastoupení téměř identické. Liší



Obrázek 18: Prostorové uspořádání reziduí - tloušťka (Nepomuk)



Obrázek 19: Tvárnost kmene na obou testovacích plochách

se pouze u kategorií JA a SA, což je patrně způsobeno rozdílným stylem výsadby (obě plochy jsou na jiných lesních správách). Navíc nejsou tyto kategorie z hlediska perspektivy zatížené žádným hendikepem. Důležité je, že v porovnání s kontrolním vzorkem je tvárnost kmene testovaných potomstev výrazně lepší a výskyt nežádoucích deformací (JZ, SZ, V a R) výrazně nižší. To svědčí o tom, že i potomstva sadů 1. generace jsou už na první pohled kvalitnější než běžné provozní výsadby. Přesto se i v těchto výsadbách objevovaly tvarové deformace, jako je vidličnatost kmene, rozsochy apod. - viz. Obr. 20, které jsou pro kvalitní porost nepřijatelné. To svědčí o tom, že výběr rodičů pouze na základě fenotypických znaků, jak je tomu u semenných sadů 1. generace, je možná dostačující u kvantitativních znaků (výška, tloušťka), ale rozhodně není dostačující z hlediska kvality, tedy tvárnosti kmene.

4.3.4 Mortalita

Hodnoty mortality jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6 jednotlivě pro potomstva konkrétních rodičovských stromů.

Mortalita na ploše Nepomuk je na rozdíl od plochy Skelná Huť poměrně homogenní a pohybuje se od 45 do 66%. To odpovídá poměrům na obou plochách: plocha Nepomuk je více homogenní a především není vystavena takovému tlaku vysoké zvěře a výřezu vánočních stromků, jako plocha Skelná Huť, kde se pohybovala mortalita v rozmezí 20 - 76%. Při hodnocení v r. 2000 byla průměrná mortalita na ploše Nepomuk 12%, přestože nebyla plocha po výsadbě vylepšována a na ploše Skelná Huť 40%. Prořezávky na obou plochách byly prováděny se zaměřením na suché a výrazně ustupující jedince. Jejich hlavním úkolem bylo zpřístupnění ploch k měření a v žádném případě neovlivnily výrazně procento mortality.



Obrázek 20: Rozsocha kmene v testovacích výsadbách Nepomuk

4.3.5 Větvení

Jak už bylo řečeno v metodice, hodnocení větvení a síly větví bylo hodnoceno až ve druhé fázi, ve fázi selekce, která probíhala v r. 2010. Toto hodnocení představovalo dodatečné a opakované posuzování již vybraných perspektivních individuí z potomstev pro eventuelní založení sadu vyšší generace před odběrem vzorků pro analýzy DNA. U každého vybraného jedince byl hodnocen celkový habitus právě s ohledem na úhel nasazení větví vzhledem k ose kmene a poměr mezi tloušťkou větví a tloušťkou kmene. Je

evidentní, že tyto dva znaky jsou ve vzájemné korelaci a při jejich posuzování bylo třeba najít kompromis mezi únosnou mírou síly větví a kmene. V tomto hodnocení byla jako pomocný ukazatel brána tzv. schopnost dobrého čištění kmene, tedy schopnost rychlého odumírání suchých větví a jejich samovolného opadávání. Dobré čištění kmene má totiž velký vliv na sukovitost řeziva, tedy na kvalitu dřeva v mýtním věku porostů.

5 Diskuze

5.1 Fenologie kvetení

Fenologické studie populací borovice lesní různé provenience byly prováděny na našem pracovišti (Arboretum Sofronka) již počátkem 70. let minulého století (Kaňák K., 1972), i když nebyly zaměřené výhradně na kvetení, ale posuzovaly se všechny fenologické fáze, počínaje rašením a konče dřevnatěním výhonů. Z těchto zkušeností jsem vycházel i při tvorbě metodiky fenologického pozorování kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka, uveřejněné v práci Ivanek et al. (2009).

Fenologické pozorování kvetení by se mělo stát samozřejmou charakteristikou pro každý semenný sad, u kterého uvažujeme o další selekci jeho klonů na sad vyšší generace. Je velmi pravděpodobné, že rozdíly v kvetení různých klonů (a jejich ramet) mohou velmi výrazně ovlivnit výslednou kvalitu úrody semen.

Názorný příklad, jak může být dosaženo v mateřském porostu borovice lesní rozmanité genetické struktury potomstev ve třech po sobě následujících letech, uvádí Sarvas (1962), který sledoval v letech 1957 až 1959 denzitu výskytu prašnickových květů v lesním porostu na severním okraji Helsinek. Podle něj lze předpokládat, že genetická diverzita potomstev se mění v závislosti na množství kvetoucích stromů prašnickovými květy. V případě jejich malého množství lze předpokládat značně zmenšenou genetickou diverzitu pro malý počet otcovských genů v procesu opylení.

Jak se zdá, po dvou pozorováních (v r. 2009 a 2010) semenného sadu Silov u Nepomuka by kvalita osiva tohoto sadu měla být standardní. Vzhledem k poloze tohoto sadu rozdíly v kvalitě v různých letech patrně budou, i když určitě ne zcela zásadní. Tento problém bude aktuální spíše u jiných druhů dřevin (např. u třešně ptačí) a to především v semenných sadech, založených pro záchranu genofondu určitého druhu, kde jsou v jednom sadu klony z rozsáhlého území, z nížin, pahorkatin i hor, bez ohledu na LVS. V takovýchto sadech pak může docházet k tomu, že klony z vyšších poloh

kvetou podstatně dříve a klony z nížin, zvyklé na delší vegetační dobu, kvetou později. Semenný sad pak může být opylován výrazně nižším počtem klonů, než bylo plánováno a teoreticky tak může dojít ke genetickému driftu.

V našem případě, jak už bylo řečeno, byla provedena dvě pozorování. V r. 2009 (Příloha 7 a 8), kdy byl atypický průběh jarního období (srovnatelný s rokem 2011), kdy počasí v dubnu odpovídalo místy letním teplotám. Semenný sad Silov u Nepomuka, umístěný na svahu (s převýšením 20 metrů) a končící mrazovou kotlinou vykvetl zhruba o 10 dní dříve, než je obvyklé a bez ohledu na svah a mrazovou kotlinu, vykvetl najednou. Pozdně kvetoucí klony jsou uvedeny v tabulce 7 (pozorování z 15. května 2009).

Tabulka 7: Pozdně kvetoucí klony 2009

Číslo klonu	Počet ramet	Původ klonu
2657	4	Horšovský Týn
2377	2	Nepomuk
2380	1	Nepomuk
2364	1	Kaliště u Klatov

Tentýž semenný sad o rok později, v r. 2010, kdy byl normální (obvyklý) průběh jarního počasí, rozkvétal postupně od horní části k části údolní (přílohy 9-11). V tomto „normálním“ roce je zřetelně patrný posun kvetení na ploše tohoto sadu a je zřejmé, že se spodní a horní polovina sadu chová z hlediska kvetení autonomně. Z důvodu příliš silné tendence tohoto posunu není ani možné spolehlivě označit pozdě kvetoucí klony, neboť prakticky celá spodní třetina až polovina sadu je vzhledem k jeho horní části pozdně kvetoucí. Objektivně lze takto označit snad jen tyto klony z horní a střední části sadu (Tabulka 8) (pozorování z 24. května 2010):

Porovnáním pozdně kvetoucích klonů v letech 2009 a 2010 můžeme jednoznačně usoudit, že bez ohledu na průběh jarního počasí a tedy i bez ohledu na dobu nástupu

Tabulka 8: Pozdně kvetoucí klony 2010

Číslo klonu	Počet ramet	Původ klonu
2657	2	Horšovský Týn
2356	1	Kaliště u Klatov
2363	1	Kaliště u Klatov
2370	1	Nepomuk
2377	1	Nepomuk

kvetení je klon (resp. jeho ramety) č. 2657, původem z Horšovského Týna, pozdně kvetoucím, stejně jako klon č. 2377, původem z Nepomuku. Další takto klasifikované klony, přestože se neopakují v obou po sobě následujících letech, mají ale společný původ: Nepomuk a Kaliště u Klatov. To navozuje domněnku, že i místní varianty v poměrně malé regionální populaci mají své adaptace velmi přesně vyhraněné, zřejmě podle konkrétních stanovištních podmínek místa původu.

5.2 Verifikace původu

Jak již bylo zmíněno, pokud se se semennými sady pracuje v rámci šlechtitelských programů, je velmi žádoucí provést ověření genetické identity používaného rostlinného materiálu (Ivanek et al., 2009). V kapitole Výsledky je metoda verifikace klonů (ramet) podle šišek uvedena jako nejjednodušší terénní metoda. Lze ji úspěšně použít v případě, chceme-li se ubezpečit, že deklarované ramety na plánu semenného sadu opravdu náležejí k jednomu klonu a jedinou podmínkou je, aby porovnávané ramety plodily, resp. abychom měli dostupné jejich šišky. Např. na Obr. 4 jsou fotografie dvojice šišek osmi ramet ze semenných sadů Nepomuk (Silov) a Plasy (Doubrava), které jsou označeny číslem klonu (2353) a pozicí ramety v sadu (např. H 9).

Porovnáme-li šišky, zjistíme, že jejich charakteristické znaky (tvar, symetrie, apofýza, umbo apod.) jsou stejné a liší se prakticky pouze ve velikosti, což je způsobené

podmínkami konkrétního stanoviště (vláha, živiny apod.) a individualním stavem každé ramety (jednak fitness, ale např. i množstvím šišek: čím více, tím menší, apod.). Každý klon je tedy charakteristický tvarem svých šišek, a to bez ohledu na rok úrody nebo místo sběru (srv. např. N 2353 C 23 a P 2353 F 9). *Pozn.: Pro posuzování šišek je výhodnější, aby byly zavřené, což u vyluštěných šišek docílíme namočením do vody.*

Ivanek et al. (2009) uvádějí, že v semenném sadu Plasy byl tento klon (2353) vyřazen pro nehomogenitu všech tří ramet, avšak při analýzách DNA na pracovišti FLD ČZU byly zjištěny dvě ramety jako homogenní. To potvrzuje i metoda verifikace podle šišek: podle Obr. č. 4 s fotografiemi šišek má rameta klonu P 2353 s označením F 9 stejné šišky ve srovnání se všemi rametami tohoto klonu, které jsou v semenném sadu Silov u Nepomuka. Porovnáme-li semena ramet tohoto klonu (Obr. 5 a 6), všechna mají stejný tvar, barvu i křídlo. Velikostí okřídlení se liší pouze rameta F 8, což bývá způsobeno velikostí šišky.

Stejně tak klon č. 2993 byl ve zprávě Ivanek et al. (2009) označen jako nehomogenní, neboť jeho rameta s označením G 3 se lišila ve třech lokusech. Naopak, závěr analýzy DNA pracoviště FLD byl, že všechny genotypy se shodují. Porovnáme-li šišky dvou ramet (G 3 a I 49) ze semenného sadu Doubrava u Plas (Obr. 7) zjistíme, že jsou stejné a také semena těchto ramet nevykazují zřejmý rozdíl. To koresponduje také s výsledky DNA analýz na pracovišti FLD ČZU.

Dalším příkladem, opět velmi průkazným, jsou „plaské” ramety D 14 a E 28, klonu 2981, který Ivanek et al. (2009) označili jako nehomogenní s tím, že rameta D 14 k tomuto klonu nepatří. Porovnáme-li na Obr. 10 opět šišky této ramety s rametou E 28 vidíme, že jsou naprosto stejné a homogenitu ramet tohoto klonu deklaruje i pracoviště FLD. Semena těchto ramet opět nevykazují žádné rozdíly.

Závěrem lze tedy konstatovat, že metoda porovnávání klonů resp. ramet podle šišek a semen je nejen velmi jednoduchá, levná a dostupná, ale i spolehlivá. Samozřejmě nám neodpoví na otázku, kdo jsou rodiče klonu, ale odpoví nám zcela spolehlivě na to, jestli

deklarované ramety patří k určitému klonu (jsou stejné), či nikoliv. To je velmi nápadné např. u fotografie šišek 13 ramet klonu 2371 (Obr. 12), kde 11 ramet má evidentně stejné šišky, lišící se pouze svou velikostí, jen šišky u ramet s označením N 2371 CH 26 a I 2 (na obrázku vedle sebe) jsou rozdílné od ostatních. Také u vzorků semen je na první pohled patrná jiná barva: na rozdíl od ostatních, které mají černou barvu mají obě tyto ramety shodou okolností barvu semen hnědou. Také analýzou DNA byla rameta CH 26 zjištěna jako rozdílná od ostatních. Rameta I 2 bohužel nebyla prověřována. *Pozn. Je třeba si uvědomit, že posuzování obrázků šišek se velmi výrazně liší od posuzování skutečných šišek.*

Na stejném principu je založena i verifikace klonů (ramet) podle semen: jde o to, že tvar i barva semen a jejich křídel je geneticky zakotvená a nemění se ani časem ani místem pěstování. Jedinou nevýhodou oproti metodě verifikace pomocí šišek je to, že musíme mít nejprve plné a zralé šišky a z těch musíme vyluštit semena. Tato metoda by mohla být po metodickém zpřesnění s využitím makrofotografií semen ekonomicky velmi vhodnou náhradou za náročné laboratorní metody, sloužící k potvrzení nebo vyvrácení příslušnosti zkoumané ramety k určitému klonu.

Tyto metody verifikace, založené na morfologických markerech, které jsem v této práci nazval metodami teréními, nemohou v žádném případě nahradit metody laboratorní a to z toho důvodu, že nám dokážou odpovědět pouze na to, zda zkoumaná rameta patří či nepatří k určitému klonu. Nedokážou nám ale odpovědět na to, na co nám odpoví pouze metody laboratorní a to je, k jakému konkrétnímu klonu zkoumaná rameta patří.

Nicméně by stálo za to, dořešit nastíněnou metodiku „teréní“ verifikace tak, aby si mohl běžný lesnický personál ověřit pomocí uvedených teréních metod příslušnost deklarovaných ramet ke konkrétním klonům a nepotřeboval k tomu ekonomicky náročné laboratorní metody.

Z výsledků izoenzymových analýz uvedených Ivankem (Ivanek et al., 2009) vyplývá,

že většina klonů borovice lesní v semenném sadu Doubrava (LS Plasy) je geneticky jednotná, tj. ramety odpovídají ve většině případů danému klonu. Všechny hodnocené izoenzymové lokusy byly polymorfní, odpovídající vyšším než 5% hodnotám heterozygotnosti. Ze sledovaných 86 klonů, reprezentujících 99% celkového počtu klonů v sadu, bylo zjištěno 34 geneticky nehomogenních klonů, což odpovídá 40% sledovaných klonů. Ze sledovaných 345 ramet, reprezentujících 29% celkového počtu ramet v sadu bylo zjištěno 57 geneticky odlišných (v rámci klonu), což odpovídá 16% sledovaných ramet.

Vzhledem k tomu, že se uvedený semenný sad rouboval na našem pracovišti (Arboretum Sofronka) a byl jsem přítomen i u expedice roubovanců, vylučuji tak velkou chybu v označení klonů. Také při výsadbě byl vysoce kvalifikovaný personál, který také kategoricky vylučuje tak vysoké procento chyb a připouští maximálně chyby do 5%. Také z tohoto důvodu bylo prováděno kontrolní hodnocení identity klonů pomocí mikrosatelitů, které zpochybnilo výsledky na bázi izoenzymů. Výsledky porovnání obou těchto metod jsou v Příloze 14.

5.3 Odhad genetických parametrů

Testování klonů semenného sadu prostřednictvím hodnocení jejich potomstev nám tedy umožní založení semenného sadu vyšší generace (Kaňák et al., 2008) a rekonstrukce rodokmene u polosesterských potomstev nám tento proces značně urychlí (El-Kassaby et Lstibůrek, 2009).

V rámci testování klonů na lokalitě Skelná Huť lze na základě odhadu heritability tvrdit, že významný podíl proměnlivosti sledovaných znaků lze vysvětlit aditivním genetickým účinkem, přímo využitelným při selekci (genetické probírce). Tu je možné provést na základě strategie lineárního zastoupení klonů (Lindgren et Matheson, 1986), kdy počet jedinců po probírce je přímo úměrný šlechtitelské hodnotě daného jedince. Zbývá část rozptylu je ovlivněna interakcí na úrovni lokusu (dominance) nebo mezi lokusy (epistáze) a dalšími neaditivními komponenty a dále vlivem prostředí. Poměrně

vysoké hodnotě heritability odpovídá značná proměnlivost šlechtitelských hodnot (Tab. 5 a 6). Hodnota heritability a především přijatelné chyby jejího odhadu jsou také odrazem kvalitně založených testovacích výsadeb. Ačkoliv jde o předběžné hodnocení (lokality hodnoceny odděleně s využitím základního vícekriteriálního modelu), výsledky poukazují na zanedbatelný vliv původu (lokality) mateřských stromů. Projevují se zde spíše individuální rozdíly v kumulované aditivní hodnotě, zapříčiněné nepřesným, tj. fenotypovým odhadem genetické kvality mateřských stromů. Postupným testováním těchto stromů je možné skutečnou „zásobu“ aditivních účinků u každého jedince přesněji odhadnout, z toho důvodu také některé stromy vykazují nadprůměrnou a jiné zase podprůměrnou hodnotu. Jedinci s vysokou aditivní hodnotou, tj. obecnou kombinační schopností mají vysoký předpoklad předat tuto hodnotu dále do potomstva z volného sprášení - lze tedy tvrdit, že odstraněním rodičovských jedinců s nízkou šlechtitelskou hodnotou je možné navýšit očekávaný genetický zisk v semenném sadu. Toto je právě předmětem genetické probírky.

5.4 **Struktura reziduí**

Variogramy poukazují na poměrně vysokou homogenitu prostředí na obou lokalitách, nejsou zde patrné výraznější gradienty prostředí, které by ovlivňovaly sledované znaky. Z globálního pohledu není tedy účelné zahrnovat do modelu polynomy vyšších řádů a uvedený model lze označit jako dostatečný pro kategorizaci variability dle kauzálních veličin. Bylo by naopak vhodné posoudit rezidua na lokální úrovni s využitím např. Bayesovské statistiky (Cappa et Cantet, 2006). Relativně nízká hodnota heritability pro tloušťky s relativně vysokou chybou odhadu může implikovat poměrně významné kompetiční vztahy. V roce 2011 byla publikována podrobnější analýza zahrnující testovací výsadbu Nepomuk s podrobnější analýzou struktury reziduí (Cappa et al., 2011).

Pro další upřesnění odhadu šlechtitelských hodnot bude provedena vícekriteriální analýza zahrnující výšku, tloušťku a tvárnost kmene. Analýza tří znaků bude prove-

dena současně na obou lokalitách. V další etapě budou navrženy ekonomické váhy a vypočítán selekční index, který bude využit jako selekční kritérium. Pro optimalizaci zastoupení dílčích klonů ve stávajících sadech (návrh genetické probírky) bude využito modelu na bázi matematického programování (Klápště et al., 2007), kde bude zohledněna mj. požadovaná minimální efektivní velikost populace. Na přechodné období (do doby plodnosti semenného sadu 2. generace) může být alternativním návrhem selektivní sběr osiva ověřených klonů (Funda et al., 2009), případně kombinace genetické probírky a selektivního sběru osiva (Kang et al., 2005).

5.5 **Nástin dalšího postupu**

Lze očekávat, že genetická probírka, resp. selektovaný sběr, významně ovlivní genetickou kvalitu reprodukčního materiálu (osiva) původem ze semenných sadů. Přesto je zapotřebí pokračovat ve šlechtitelských aktivitách a směřovat k semenným sadům vyšších generací, kde bude selekční diferenciál mnohem významnější.

V současné době probíhají u borovice lesní významné aktivity směřující k založení druhé generace semenných sadů borovice lesní s využitím genových markerů právě pomocí využití testovacích výsadeb, hodnocených v této práci. Principiálně jde o to, že z vytipovaných nejlepších jedinců z testovacích výsadeb sebereme pupeny, ze kterých se izoluje DNA těchto jedinců a na základě těchto analýz bude provedena rekonstrukce rodokmene. To znamená, že z přibližných 5.000 jedinců na testovacích plochách vybereme cca 500 jedinců, splňující námi požadovaná kritéria kvalitativní a kvantitativní. Odebereme z nich pupeny pro DNA a provedeme rekonstrukci rodokmene. Následuje další výběr (cca 50 jedinců) klonů pro semenný sad druhé generace, kde nesmí být zastoupeny stromy se shodným rodičem, tedy sourozenci (Lstibůrek et El-Kassaby, 2010).

Co se týká technických detailů nově zakládaných testovacích výsadeb, bylo by vhodné vycházet více ze zahraničních zkušeností. Mám tím na mysli především spon

testovacích výsadeb. Nezdá se být příliš vhodné zakládat testy potomstev se stejnou architekturou, jako běžné výsadby. Pro nově navržené testy potomstev semenných sadů borovice lesní bych navrhoval minimální spon $1,4 \times 1,4$ m, raději však 2×2 m. V případě pochybností doporučuji si uvědomit, že u těchto výsadeb nám nejde o to, „vychovat“ a vyprodukovat kvalitní dřevo, ale především o to, získat informace o testovaných individuích. A „testovaná individua“ v hustém sponu, která jsou pod tlakem konkurence a v boji o přežití nemusí tak výrazně projevit svoje růstové vady nebo naopak priority, než v řidším sponu.

Co se týká výběru perspektivních jedinců, u kterých jsme odebírali pupeny na analýzy DNA (k rekonstrukci rodokmene), nabízelo se více možností. Jak už bylo v textu naznačeno, u tvaru kmene jsme v žádném případě kompromisy nedělali. Veškeré vybrané stromy pro další analýzy měly ty nejlepší parametry tvaru kmene (Nárovec, 2000) a jejich celkový habitus byl minimálně $2 \times$ ověřený. Co se týká selekce podle růstových (produkčních) charakteristik, rozhodně jsme nevybírali ty největší, nejsilnější a zároveň největevnatější. Vybírali jsme kompromis mezi kvalitou a kvantitou, tedy především méně větevnaté, ale zároveň vyšší a silnější stromy, výškově stále ještě nadúrovňové, minimálně v úrovni. V mládí nejrychleji rostoucí stromy borovice mají totiž pionýrský charakter a tím, že fáze generativní velmi brzy střídá fázi vegetativní (Kaňák et Kaňák, 2002), tedy brzy přestávají růst a začínají plodit, v mýtním věku pak ve srovnání s těmi ostatními produkčně velmi ztrácejí. Také při výchově mladých borových porostů od pradávna platilo, přednostně odstraňovat tzv. předrostlíky a jedince, rostoucí „do široka“ a utlačující své okolí (Jurča, 1973). V podstatě šlo o eliminaci klasických rychle rostoucích pionýrských typů, které mají za úkol co nejdříve zakrýt holinu a připravit mikroklima pro náročnější druhy.

5.6 **Současné testovací plochy a jejich management**

Testovacích ploch s potomstvy semenných sadů borovice lesní, založených jako testy potomstev jednotlivých ramet resp. klonů, je v ČR celkem 5, avšak hodnotitelné jsou pouze 4. Jedná se o plochy hodnocené v této práci (Nepomuk a Skelná Huť), testující semenné sady obdobného složení v Silově u Nepomuka a v Doubravě u Plas a dále pak o 2 testovací plochy semenného sadu Třeboň. Ta první se nachází nedaleko Kardašovy Řečice u Jindřichova Hradce a druhá, paralelní plocha se stejným složením, u Třeboně poblíž Majdalény.

Všechny 4 tyto plochy jsou svým způsobem nedocenitelné, neboť nám umožňují pomocí metody rekonstrukce rodokmene ušetřit drahocenný čas a dodat výsledky testování k založení semenného sadu 2. generace až o 25 let dříve, než je standardně obvyklá doba. Z těchto důvodů je žádoucí, chovat se k těmto plochám odpovídajícím způsobem.

5.6.1 **Návrh opatření na stávajících testovacích plochách**

1. Tyto testovací výsadby by měly být vyjmuty z režimu normálního hospodaření v lese a měly by mít charakter ploch zvláštního určení.
2. Každá z těchto ploch by měla mít stanovený tzv. odborný dohled, resp. odbornou správu organizace, která by navrhovala tzv. plán péče o tuto výsadbu (její management) a jeho realizaci.
3. Veškeré zásahy na těchto plochách (probírka, prořezávka, průklest, apod.) by měly podléhat schválení odborné správy a měly by být v souladu s jejím managementem.
4. Tyto testovací výsadby bude vhodné udržovat jako demonstrační objekty, neboť je velmi pravděpodobné, že budou v nejbližší budoucnosti cílem návštěv odborné

lesnické veřejnosti. Tzn. zřetelné označení porostu, odstranění souší, zprůchodnění porostu a jeho vyklizení, viditelná stabilizace jednotlivých parcel, viditelné označení „kandidátských“ stromů apod. Vhodná by možná byla i tabule, vysvětlující a popisující základní charakteristiky konkrétní plochy.

5.6.2 Zakládání nových testovacích ploch

Zakládání nových testovacích ploch stávajících semenných sadů by mělo být realizováno pouze pod vedením odborné organizace, která by byla schopna zaručit jednak návrh odpovídajícího projektu testovacích výsadeb a zároveň by ručila za výběr lokalit pro založení těchto ploch, projekt výsadeb, spon výsadeb, počet opakování, atd.

Tato organizace by dále navrhovala management těchto výsadeb a ručila by za jeho dodržování. Navrhovala a kontrolovala by veškeré zásahy na těchto plochách a zajišťovala by jejich měření a hodnocení včetně zpracování výsledků a z toho plynoucích návrhů pro provoz. Stručně řečeno, odpovídala by za odbornou správu těchto objektů a zároveň by ručila i za testování, jeho vyhodnocení a návrh realizace projektu sadu 2. generace.

6 Závěry

Tato práce má za úkol zpracovat a využít výsledky hodnocení testovacích ploch s potomstvy semenných sadů borovice lesní Silov u Nepomuka a Doubrava u Plas k tomu, abychom na základě měření a vyhodnocení těchto dat vytipovali nadějně klony resp. jejich potomstva, které bychom využili pro tvorbu semenných sadů 2. generace.

Tato dizertační práce je de facto první částí, na kterou bude navazovat část, zpracovávaná jiným doktorandem ČZU, pojednávající o analýzách genových markerů a na základě těchto analýz o rekonstrukci rodokmene vytipovaných jedinců a jejich finálnímu výběru pro semenný sad 2. generace.

Na základě této práce uvádím následující závěry.

1. Fenologie kvetení semenného sadu se ukázala jako nezbytná fáze jeho hodnocení. Důležitá je především pro semenné sady, zakládané např. za účelem záchrany genofondu, kde jsou klony z různých LVS s různým nástupem kvetení. Ukázalo se však, že i v semenném sadu jednoho LVS může fenologie kvetení za určitých klimatických podmínek a na určitém stanovišti výrazně ovlivnit kvalitu osiva. Z toho vyplývá, že musíme věnovat náležitou pozornost už při výběru vhodné lokality pro založení semenného sadu, která nebude zatížena klimatickými extrémami.
2. Porovnání různých metod verifikace klonů a jejich ramet v semenném sadu nám dalo jasnou odpověď na jejich spolehlivost. Ukázalo se, že pouze analýza na bázi mikrosatelitů DNA může být spolehlivou **metodou určující**. V případě potřeby běžné terénní kontroly příslušnosti ramet ke konkrétnímu klonu můžeme úspěšně použít terénní metody na bázi morfologických markerů, které jsou spolehlivou **metodou vylučovací**.
3. Byl prokázán předpokládaný významný podíl genetiky na proměnlivosti hospodářsky významných znaků u borovice lesní.

4. Bude nezbytné do budoucna zvážit alternativní způsoby zakládání testovacích výsadeb (redukce kompetice při genetické evaluaci).
5. Tato geneticky podmíněná proměnlivost je přímo využitelná v selekčním opatření (tj. genetické probírce), která může být prvním opatřením pro zefektivnění současných semenných sadů první generace.
6. Genetická probírka umožní dosažení dodatečného hospodářského užitku, plynoucího z využívání osiva původem ze semenných sadů.
7. Takto „vylepšené“ semenné sady mohou sloužit jako významný zdroj reprodukčního materiálu pro umělou obnovu borovice lesní před dosažením plodnosti sadů druhé generace.
8. Ekonomicky atraktivní alternativou ke genetickým probírkám by se mohl stát selektivní sběr osiva v semenných sádkách na základě vyhodnocení testů potomstev: žádné ramety neodstraňujeme (úspora), osivo sbíráme selektivně, tedy zvlášť z ramet klonů, které byly vyhodnoceny jako tzv. „ověřené“ (tedy vysoce kvalitní) a zvlášť z klonů ostatních. Toto osivo můžeme nazvat jako osivo standardní. Tímto opatřením neztrácíme tedy část produkce semenného sadu a celková produkce semenného sadu zůstává zachována, ale pouze se rozdělí na partie semen o vyšší, resp. standardní kvalitě.
9. Sady druhé generace je možné projektovat pomocí výsledků námi hodnocených testovacích ploch a pomocí rekonstrukce rodokmene vytipovaných kandidátů. Následnou selekcí podle námi stanovených parametrů pak navrhujeme konkrétní klony, které budou tvořit semenný sad druhé generace.

Použitá literatura

- [1] Ackzell, L. 1993. A comparison of planting, sowing and natural regeneration for *Pinus sylvestris* (L.) in boreal Sweden. For. Ecol. Man. 61: 229-245.
- [2] Ackzell L., Lindgren D. 1994a. Seed-tree stand: Threat or protection for artificial regeneration. Proc. Internordic Workshop Silvicultural Alternatives, June 22-25, 1992, Umeå, Sweden. Ed. M. Hagner. 86-95.
- [3] Ackzell L., Lindgren D. 1994b. Some genetic aspects on human intervention in forest regeneration: Considerations based on examples from an experiment in northern Sweden. Forestry 67: 134-148.
- [4] Andersson, E., Jansson, R., Lindgren, D. 1974. Some results from second generation crossing involving inbreeding in Norway spruce. Silvae Genetica 23: 34-43.
- [5] Bell, G.D., Fletcher, A.M. 1978. Computer organised orchards layouts (COOL) based on the permuted neighbourhood design concept. Silvae Genetica 27: 223-225.
- [6] Bertsch, K. 1951. Geschichte des deutschen Waldes. Jena, Gustav Fischer 1951. 118 s.
- [7] Botta-Dukát, Z. 2005. Rao's quadratic entropy as a measure of functional diversity based on multiple traits. J. Veg. Sci. 16: 533-540.
- [8] Bouvarel, P. 1960. Note sur la résistance au froid au quelques provenances de pin maritime. Rev. For. Franc. 7: 495-508.
- [9] Bruchánik, R. 2001. Šľachtitelský program borovice lesnej pre pahorkatiny stredného Slovenska. Dizertačná práca. Banská Bystrica, 113 s.

- [10] Businský, R. 2008. The genus *Pinus* L., Pines: contribution to knowledge. A monograph with cone drawings of all species of the world by Ludmila Businská. Acta Pruhoniana 88, Průhonice 2008, 125 s.
- [11] Cappa, E.P., Cantet, R.J. 2006. Bayesian inference for normal multiple-trait individual-tree models with missing records via full conjugate Gibbs. Canadian Journal of Forest Research, Volume 36: 1276-1285.
- [12] Cappa, E.P., Lstibůrek, M., Yanchuk, A.D., El-Kassaby, Y.A. 2011. Two-dimensional penalized splines via Gibbs sampling to account for spatial variability in forest genetic trials with small amount of information available. Silvae Genet. 60: 25-35.
- [13] Cockerham, C. 1967. Group inbreeding and coancestry. Genetics 56: 89-104.
- [14] Critchfield, W.B. 1980. The distribution, genetics and silvics of lodgepole pine. Proc. IUFRO Joint Meet. WP. Vol. 1. Vancouver 1978.
- [15] Čurn, V., Sáková, L. 1997. Využití biochemických markerů ve šlechtění řepky a dalších brukvovitých plodin. Genetika a šlechtění 33: 281-305.
- [16] Dansgaard, W., White J.W.C., Johnsen, S.J. 1989. The abrupt termination of the Younger Dryas climate event. Nature 339: 532-533.
- [17] Dostál, J. 1989. Nová květena ČSSR. Sv. 1. Praha, Akademia. 758 s. ISBN 80-200-0095-X.
- [18] El-Kassaby, Y.A., Prescher, F., and Lindgren, D. 2007. Advanced generation seed orchards as affected by breeding advance, timing of seed crop, and cost components with special reference to Scots pine in Sweden. Scand. J. For. Res. 22: 88-98.

- [19] El-Kassaby, Y.A., Lstibůrek, M. 2008. Breeding Without Breeding. *Genetical Research* 91: 111-120.
- [20] Ennos, R.A. 1991. Genetic variation in Caledonian pine populations: Origins, exploitation and conservation. In *Genetic Variation in European Populations of Forest Trees*, Eds G. Müller-Starck and M. Ziehe. Sauerländers Verlag, Frankfurt am Main, pp. 235-249.
- [21] Ennos, R.A., Worell, R., Malcolm, D.C. 1998. The genetic management of native species in Scotland. *Forestry* 71: 1-23.
- [22] Eriksson, G., Schelander, B., Åkebrand, V. 1973. Inbreeding depression in an old experimental plantation of *Picea abies*. *Hereditas* 73: 185-194.
- [23] Eriksson, G., Namkoong, G., Roberds, J.H. 1993. Dynamic gene conservation for uncertain futures. *For. Ecol. Manag.* 62: 15-37.
- [24] Eriksson, G., Ekberg, I., and Clapham, D. 2006. *An Introduction to forest genetics*. (publikované na: www.vbsg.slu.se/forgen/) 186 s.
- [25] Fedorkov, A., Lindgren, D., and David, A. 2005. Genetic gain and gene diversity following thinning in a half-sib plantation. *Silvae Genet.* 54: 185-189.
- [26] Firbas, F. 1949. *Waldgeschichte Mitteleuropas*. 1. Band. Jena, Gustav Fischer 1949. 480 s.
- [27] Firbas, F. 1952. *Waldgeschichte Mitteleuropas*. 2. Band. Jena, Gustav Fischer 1952. 256 s.
- [28] Forrest, G.I. and Fletcher, A.M. 1995. Implications of genetic research for native pinewood conservation. In *Our Pinewood Heritage*, Conf. Ed. J.R. Aldous. pp. 97-106.

- [29] Fries, A., Lindgren, D., and Andersson, B. 2008. The Swedish Scots pine seed orchard Västerhus. A study of linear deployment. (publikované na: <http://www-genfys.slu.se/staff/dagl/Umea07/ZProcFinalFeb08.pdf>). pp. 70-78.
- [30] Frýdl, J., Šindelář, J. 2006. K problematice ověřování semenných sadů - metodické principy. In: Semenné sady jako zdroj kvalifikovaného reprodukčního materiálu - minulost, současnost a budoucnost. Sbor. abstr. z mezinárod. odbor. sem., Bzenec 20.-21. 6. 2006, eds. Z. Procházková, P. Kotrla. VÚLHM, Jíloviště-Strnady 2006. s. 19.
- [31] Funda, T., Lstibůrek, M., Lachout, P., Klápště, J., El-Kassaby, Y.A. 2009. Optimization of combined genetic gain and diversity for collection and deployment of seed orchard crops. *Tree Genetics and Genomes* 5: 583-593.
- [32] Giertych, M. 1979. Summary of results on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) height growth in IUFRO provenance experiments. *Silvae Genetica* 28: 136-152.
- [33] Giertych, M. 1986. Provenance variation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) on 46 years old international experiment in Poland. *Arboretum Kornickie* 31: 183-193.
- [34] Giertych, M., Mátyás, C. 1991. Genetics of Scots pine. Academia Kiado, Budapest.
- [35] Gilmour, A.R., Gogel, B.J., Cullis, B.R., and Thompson, R. 2006. ASReml User Guide Release 2.0 VSN International Ltd, Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK ISBN 1-904375-23-5.
- [36] Hannrup, B. Jansson, G., and Danell, Ö. 2007. Comparing gain and optimum test size from progeny testing and phenotypic selection in *Pinus sylvestris*. *Can. J. For. Res.* 37: 1227-1235.

- [37] Hannerz, M. and Ericsson, T. 2008. Planter's guide - a decision support system for the choice of reforestation material. (publikováno na: [http://www-genfys.slu.se/staff/dagl/Umea07/ZProcFinalFeb08.pdf](http://www.genfys.slu.se/staff/dagl/Umea07/ZProcFinalFeb08.pdf)) pp. 88-94.
- [38] Hansen, H. 1942. The influence of volcanic eruptions upon post Pleistocene forest succession in Central Oregon. *Amer. Journ. Bot.* 29: 214-219.
- [39] Hansen, H. 1943. Paleocology of the sand dune bogs on the southern Oregon coast. *Amer. Journ. Bot.* 30: 335-340.
- [40] Hilitzer, A. 1932. Rozšíření borovice na Šumavě. *Les. Práce* 11: 9-25.
- [41] Hynek, V., Buriánek, V., Benedíková, M., Frýdl, J., Kaňák, J. 1997. Výběrové stromy a porosty uznané pro sběr osiva: základní kritéria. VÚLHM, Jíloviště-Strnady 1997. 51 s.
- [42] Chakravarty, G.N., Bagchi, S.K. 1993. A computer program for permuted neighbourhood seed orchard design. *Silvae Genetica* 42: 1-5.
- [43] Cheliak, W.M., Pitel, J.A. 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Petawawa National Forestry Inst., Canadian Forestry Service, Agriculture Canada 1984.
- [44] Ivanek, O., Kaňák, J. 2008. Zakládání semenných sadů druhé generace pro borovici lesní. Dílčí technická zpráva výzkumného úkolu č. 05/8830. Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v.v.i., 25 s.
- [45] Ivanek, O., Kaňák, J., Novotný, P. 2009. Zakládání semenných sadů druhé generace pro borovici lesní. Závěrečná technická zpráva projektu GS LČR 7/2007. Strnady, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 40 s.

- [46] Ivanek, O., Procházková, Z. 2006. Identifikace roubovanců a klonů ve dvou semenných sadech modřínu opadavého (*Larix decidua* Mill.). Zprávy lesn. výzkumu 51: 38-43.
- [47] Ivanek, O., Procházková, Z. 2008. Identifikace roubovanců a klonů v semenném sadu Rudíkovy-Albrechtice (nepublikované údaje).
- [48] Jankovská, V. 1987. Vývoj vegetace Mostecka na základě pylových analýz sedimentů Komořanského jezera. Severočes. Přír. Litoměřice 20: 111-116.
- [49] Jankovská, V. 1992. Vývoj krušnohorských lesů od konce doby ledové. Lesnická práce 71: 73-75.
- [50] Jankovská, V. 2011. Šíření borovice lesní v postglaciálu. Osobní sdělení.
- [51] Jurča, J. 1973. Racionalizace výchovy mladých borových prostů. In: Racionální výchova borových porostů. Průvodce k podnik. semináři. PŘSL Brno, p. 46-67.
- [52] Kang, K.S., Lindgren, D., Mullin, T.J., Choi, W.Y., Han, S.U., Kim, C.S. 2005. Genetic gain and diversity of seed crops under alternative management options in a clonal seed orchard of *Pinus thunbergii*. In: Proceedings of the 28th Southern Forest Tree Improvement Conference in Raeligh, NC 21.-23. June 2005, hosted by North Carolina State University.
- [53] Kantor, J. 1982. Vyhodnocení provenienčních pokusných ploch s borovicí (serie IUFRO 1938) v jižních Čechách. Závěr. zpráva, Lesnická fakulta Brno.
- [54] Kaňák, J. 1985. Náhorní varianty borovice lesní okrajových pohoří hercynské kotliny. Sborn. ČSAZV - Lesnictví: 259-265.
- [55] Kaňák, J. 1994. Evolution of the Scots pine mountainous variant. Ex: Kaňák. K. et Kaňák, J.(eds.) IUFRO Meet. „Genetics of Scots pine” Kaunas. Indications acquired by the provenance research. s. 25.

- [56] Kaňák, J., Nárovec, V. 1999. Četnost tvarových deformací v mladých borových kulturách ve vazbě na původ osiva a charakter stanoviště výsadby. In: Jurásek, A. et al.: Pěstování lesa v ekotopech narušených antropogenní činností. [Výroční zpráva výzkumného projektu]. Opočno, VÚLHM - Výzkumná stanice, s. 21-27.
- [57] Kaňák, J. 2001. Hodnocení výzkumných ploch s potomstvy jednotlivých klonů semenných sadů borovice lesní. Dílčí závěrečná zpráva - realizační výstup za rok 2001. Výzkumný záměr č. MZe-M06-99-02 Šlechtění lesních dřevin a záchrana genových zdrojů cenných a ohrožených populací včetně využití biotechnologických postupů v lesním hospodářství. Jíloviště-Strnady, VÚLHM 2001.
- [58] Kaňák, J., Nárovcová, J. 2004. Proměnlivost borovice lesní. Lesnická práce 83: 422-423.
- [59] Kaňák, J., Nárovcová, J. 2005. Růst mladých borových kultur identického původu v rozdílných stanovištních poměrech. Zprávy lesnického výzkumu 50: 79-82.
- [60] Kaňák, J., Kaňák, K. 2002. Genetika a šlechtění rodu *Pinus*, minulost, současnost a další perspektivy. Sborník útvaru biologie a šlechtění lesních dřevin: Výzkum v oboru biologie, genetiky, šlechtění a introdukce lesních dřevin se zřetelem k 80. výročí založení lesnických výzkumných ústavů v ČR, VÚLHM Jíloviště-Strnady, 16 s.
- [61] Kaňák J., Frýdl J., Novotný P., Čáp J. 2008. Metodika uznávání semenných sadů. Lesnický průvodce 9: 7-11.
- [62] Kaňák, J., Klápště, J., Lstibůrek M. 2009. Úvodní genetické hodnocení semenných sadů borovice lesní v západních Čechách. Zprávy lesnického výzkumu 54: 112-127.

- [63] Kaňák, K. 1972. Studie zeměpisné proměnlivosti borovice lesní. III. Fenologické studie populací borovice lesní různé provenience. Závěrečná zpráva, VÚLH Zbraslav, 66 s.
- [64] Kaňák, K. 1974. Preliminary report on the Scots pine provenances growing at Bolevec. Sbor. IUFRO W.P. Genetics of Scots pine. Sept. 1974, Kórník-Warszawa.
- [65] Kaňák, K. 1980. Provenienční studie s borovicí lesní v českých zemích. In: Provenienční výzkum lesních dřevin. Sborník referátů z konference, Praha 9.-11. 10. 1979, 321 s. - VÚLHM Jíloviště-Strnady a ČSAZ - odbor lesnický, Praha 1980. pp. 83-104.
- [66] Kaňák, K. 1982. Zhodnocení provenienčních ploch borovice lesní v ČSR. (Etapa 03 výzk. úkolu Šlechtění a introdukce lesních dřevin, dílčí úkol 01: Provenienční výzkum a šlechtění rodu *Pinus*.) - VÚLHM Jíloviště - Strnady, 52 s.
- [67] Kaňák, K. 1983a. Zhodnocení provenienčních ploch borovice lesní v ČSR. Závěr. zpráva VÚLHM, Jíloviště - Strnady.
- [68] Kaňák, K. 1983b. Relations between local populations of the scots and mountain pine. - In: Communicationes Instituti Forestalis Čechosloveniae 13: 265-286.
- [69] Kaňák, K. 1984. Genekologické studie některých druhů rodu *Pinus*. Zprávy Čs. Bot. Spol. Praha 4: 47-51.
- [70] Kaňák, K. 1986. Evolučně - šlechtitelské přístupy k rekonstrukci lesa v imisních polohách Krušných hor. Dendrologická sdělení ČSBS 32: 45-48.
- [71] Kaňák, K. 1987. Strategie zachování kontinuity smrku v Krušných horách. In: Severočes. Přírod. Litoměřice 20: 87-94.

- [72] Kaňák, K. 1988a. Teoretické podklady pěstební strategie v imisních oblastech. Sborník ref. konf. Možnosti obnovy a zajištění stability lesních porostů v oblastech pod vlivem imisí. Ústí n. L., 13. 10. 1988, pp. 62-80.
- [73] Kaňák, K. 1988b. Využití odolnějších druhů borovice k zalesnění imisní oblasti Krušných hor. Realizační výstup R7, VÚLHM Jíloviště - Strnady, 1988, 14 s.
- [74] Kaňák, K. 1990. Zacházení s genofondem v imisních oblastech Krušných hor. Sborník konf. o genofondu. Zpravodaj botan. zahrad 34: 114-122.
- [75] Kaňák, K. 1992. Performance of *Pinus cembra*, *P. peuce* and *P. strobiformis* within the immission areas. Referát na: Subalpine Stone pines and their environment, Intern. Workshop, St. Moritz 5. - 12. 9. 1992. 3 s.
- [76] Kaňák, K. 1993. Alternativní řešení rekonstrukce lesa v imisních oblastech. Lesnická práce 1, 72: 10-13.
- [77] Kaňák, K. 1994. Evolution of the Scots pine mountainous variant. Kaňák K. et Kaňák J. (eds.) II. Hypothesis about its evolutionary events. Kaunas Sept. 1994. s. 26.
- [78] Kaňák, K. 1998. Evoluční původ azonálních výskytů smrku (*Picea abies*) a borovice lesní (*Pinus sylvestris*). Zprávy Čes. bot. společ., Praha, 33, Mater. 16: 17-23.
- [79] Kaňák, K. 1999a. Historie a vývoj koncepce vědeckého pracoviště v Arboretu Sofronka. Lesnická práce 1, 5 s.
- [80] Kaňák, K. 1999b. Historie výzkumu borovice lesní. Acta Průhoniana 68, Průhonice, s. 103-116.

- [81] Kjær, E.D. and Wellendorf, H. 1998. Studies on the effect of unequal flowering on the effective population size in Danish seed orchard crops. *Forest Tree Improvement* 26: 56-64.
- [82] Klápště J., Lstibůrek M., Lachout P. 2007. Integer-programming approach to group-merit selection. In: Joint Meeting of the South. For. Tree Improve. Conf. and the Western For. Genetics Association, June, 2007. Galveston, Texas, pp. 58.
- [83] Klika, J., Šíman, K., Novák, F., Kavka, B. 1953. *Jehličnaté*. Praha, Nakladatelství Československé akademie věd, 310 s.
- [84] Koblíha J., Funda T. 2004. Světové trendy ve šlechtění lesních dřevin. In: Perspektivy lesnické dendrologie a šlechtění lesních dřevin. ČZU v Praze, FLE, Kostelec nad Černými lesy 2004. 11 s. ISBN 80-213-1164-9.
- [85] Koblíha J., Lstibůrek M. 2006. Význam semenných sadů jako produkčních populací lesních dřevin. In: Semenné sady jako zdroj kvalifikovaného reprodukčního materiálu. 20. - 21. 6. 2006 Bzenec. VÚLHM Jíloviště - Strnady, Uherské Hradiště 69 s.
- [86] Koblížek, J. 2000. *Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků*. 2 sv. Tišnov, Sursum, ISBN 80-85799-87-1 (1. sv.); ISBN 80-85799-86-2 (2. sv.)
- [87] Korshikov, I.I., Pirko, N.N., Mudrik, E.A., Pirko, Y.V. 2007. Maintenance of genetic structure in progenies of marginal mountainous and steppe populations in three species of *Pinaceae* Lindl. family in Ukraine. *Silvae Genet.* 56: 1-10.
- [88] Koski, V. 1996. Management guidelines for in situ gene conservation of wind pollinated temperate conifers. *Forest Genetic Resources* 24: 2-7.

- [89] Lagerkrantz, U., Ryman, N. 1990. Genetic structure of Norway spruce concordance of morphological and allozymic variation. *Evolution* 44: 38-53.
- [90] Langlet, O. 1936/37. Studier över tallens fysiologiska variabilitet och dess samband med klimatet. Et. bidrag till kännedomen om tallens ekotyper. *Med. Stat. Skogförsöksabst.* 29: 219-470.
- [91] Langlet, O. 1959. A cline or not a cline - a question of Scots pine. *Silvae Genet.* 8: 1-36.
- [92] Lewis, H. 1962. Catastrophic selection as a factor in speciation. *Evolution* XVI(3): 257-271.
- [93] Li, B., McKeand, S., Weir, R. 2000. Impact of forest genetics on sustainable forestry - results from two cycles of loblolly pine breeding in the US. *Journal of Sustainable Forestry* 10: 79-85.
- [94] Lindgren, D., Matheson, A.C. 1986. An algorithm for increasing the genetic quality of seed from seed orchards by using the better clones in higher proportions. *Silvae Genet.* 35: 173-177.
- [95] Lindgren, D., Mullin, T.J. 1997. Balancing gain and relatedness in selection. *Silvae Genetica* 46: 124-129.
- [96] Lindgren, D., Gea, L.D., Jefferson, P.A. 1997. Status number for measuring genetic diversity. *Forest Genet.* 4: 69-76.
- [97] Lindgren, D. and Ying, C.C. 2000. A model integrating seed source adaptation and seed use. *New Forests* 20: 87-104.
- [98] Lindgren, D., Cui, J., Son, s.G., and Sonesson, J. 2004. Balancing seed yield and breeding value in clonal seed orchards. *New Forests* 28: 11-22.

- [99] Lindgren, D. and Prescher, F. 2005. Optimal clone number for seed orchards with tested clones. *Silvae Genet.* 54: 80-92.
- [100] Lstibůrek, M., El-Kassaby, Y.A. 2010. Minimum-Inbreeding Seed Orchard Design. *Forest Science.* 56: 603-608.
- [101] Magurran, A.E. 2004: Measuring biological diversity. Blackwell Publishing, Malden (MA) 2004. 256 s.
- [102] Malecot, G. 1948. *Les Mathématiques de l'Hérédité.* Masson et Cie, Paris.
- [103] Mayr, E. 1942. *Systematics and the origin of species.* Columb. Univ. Press. 1963. *Animal species and evolution.* Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 1965. Summary In: Baker & Stebbins (eds.) lit. cit. 1979. *Evolution und die Vielfalt des Lebens.* Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- [104] Mayr, E. 1954. Change of the genetic environment and evolution. In: Huxley, J. (ed.) *Evolution as a process.* Allen & Unwin, London, pp. 159-180.
- [105] Mayr, E. 1979. *Evolution und die Vielfalt des Lebens.* Springer Verl.
- [106] Melechov, J.S. 1934. Zur Frage der natürlichen Verjüngung der Fichte auf Brandflächen. *Fw. Cbl.* 78: 47-85.
- [107] Mezera, A. 1952. Biologie a pěstování borovice obecné *Pinus silvestris*. Pěstování borových porostů. Sborník referátů, lesnická knihovna svazek 17, nakladatelství Brázda.
- [108] Mimra, J. 1950. Nejstarší provenienční pokus s borovicí na Třeboňsku. *Lesnická Práce.*
- [109] Mirov, N.T. 1967. *The genus Pinus.* The Ronald Press Comp. New York.

- [110] Misiorny, A., Chalupka, W. 2006. Flowering and cone bearing of *Picea abies* grafts in second-generation seed orchards. *Dendrobiology* 56: 51-59.
- [111] Musil, I. 2003. *Lesnická dendrologie I.: jehličnaté dřeviny.* (Forest Dendrology I.: conifers) Praha: ČZU: 177 p.
- [112] Musil, I., Hamerník, J. 2007. *Jehličnaté dřeviny. Přehled nahosemenných i výtrusných dřevin - Lesnická dendrologie 1.* Academia, Praha, 352s.
- [113] Namkoong, G., Jonsson, A., Eriksson, G. 1992. Genetic variation in nutrient response functions. *Theor. Appl. Genet.* 85: 165-172.
- [114] Nárovcová, J., Nárovec, V., Čermák, M. 2004. Netvárnost borovice lesní v nejmladších kulturách. *Lesnická práce* 83: 420-421.
- [115] Nárovec, V. 2000. Dicyklický růst výhonů u borovice a nápravná pěstební opatření v nejmladších kulturách. Kostelec nad Černými lesy, Nakladatelství a vydavatelství *Lesnická práce* 2000. 31 s. - ISBN 80-86386-07-4.
- [116] Neuhäuslová, Z. et al. 1998. *Mapa potenciální přirozené vegetace České republiky.* Praha, Academia 1998. 341 s., mapa.
- [117] Novák, F.A. 1953. Borovice neboli sosna, *Pinus* Linné. [Zpracováno 1942] pp.129-258. in: J. Klika, K. Šiman, F. A. Novák, B. Kavka, *Jehličnaté.* ČSAV, Praha.
- [118] Olsson, T., Lindgren, D., and Ericsson, T. 2000. A comparison of group merit selection and restricted selection among full-sib progenies of Scots pine. *For. Genet.* 7: 137-144.
- [119] Olsson, T., Lindgren, D., Li, B. 2001. Balancing genetic gain and relatedness in seed orchards. *Silvae Genet.* 50: 222-227.

- [120] Paule L. 1992. Genetika a šľachtenie lesných dřevín. Příroda, Bratislava: 304. ISBN 80-07-00409-2.
- [121] Pasteur, N., Pasteur, G., Bonhomme, F., Catalan, J., Britton-Davidian, J. 1988. Practical Isozyme Genetics - Ellis Horwood series in gene technology. Wiley & Sons, New York.
- [122] Pilát, A. 1964. Jehličnaté stromy a keře našich zahrad a parků. Nakladatelství ČSAV, Praha.
- [123] Pliura, A. and Eriksson, G. 1997. Sustainable gene conservation of *Pinus sylvestris* in Lithuania. Baltic. For. 3: 2-9.
- [124] Pravdin, L.F. 1964. Sosna obyknověnnaja. Izměňčivost', vnutrividovaja sistěmatika i selekcija. Nauka Moskva, 190 pp.
- [125] Raven, P. 1964. Catastrophic selection and edaphic endemism. Evolution XVII: 336-338.
- [126] Reinhold, F. 1944. Ergebnisse vegetationskundlicher Untersuchungen im Erzgebirge, den angrenzenden Gebirgen und im nordsächsischen Heidegebiet. Forstwiss. Cbl. u. Thar. Forstl. Jb.: 167-191. (in Firbas, 1952).
- [127] Rosvall, O. 1999. Enhancing gain from long-term forest tree breeding while conserving genetic diversity. Doctor's dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences. 1999.
- [128] Rosvall, O, Jansson, G., Andersson, B., Ericsson, T., Karlsson, B, Sonesson, J., and Stener, L.G. 2002. Predicted genetic gain from existing and future seed orchards and clone mixes in Sweden. In Integrating Tree Breeding and Forestry. Proc. Nordic Group. Manag. Gen. Res. Trees, Meet. Mekrijärvi, Finland, March 23-27, 2001. Eds. M. Haapanen and J. Mikola. 71-85.

- [129] Ruotsalainen, S. 2008. Comparison of seed orchard and stand seed of Scots pine in direct seeding. (publikováno na: <http://www-genfys.slu.se/staff/dagl/Umea07/ZProcFinal?Feb08.pdf>): pp. 218-220.
- [130] Rusanen, M., Napola, J., Nikkanen, T., Haapanen, M., Herrala, T., Vakkari, P., Yrjänä, L. 2004. Forest genetic resource management in Finland. Finnish Forest Research Institute and Ministry of Agriculture and Forestry. (publikováno na: <http://www.metla.fi/julkaisut/muut/genetic-resource-management-2004.pdf>): pp. 21.
- [131] Rubner, K., Reinhold, F. 1953. Das natürliche Waldbild Europas. Hamburg, Berlin, P. Parey Verlag 1953. 288 s.
- [132] Řešátko, M. 1992. Metodický pokyn pro využití osiva vybraných uznaných jednotek kategorie A pro bo l., osiva pro ověření kvality osiva ze semenných sadů bo a osiva pro ověření kvality osiva ze semenných sadů modřínu opadavého. - MZe ČR, Odbor tvorby lesa, Č.j. 191/92-640. Praha. 1992.
- [133] Sarvas, R. 1962. Investigations on the flowering and seed crop of *Pinus sylvestris*. Comm. Inst. Forest. Fenn. 53: 1-198.
- [134] Savolainen, O. and Yazdani, R. 1991. Genetic comparison of natural and artificial populations of *Pinus sylvestris*. In Genetic Variation in European populations of Forest Trees. Eds. G. Müller-Starck and M. Ziehe. Sauerländers Verlag, Frankfurt am Main, pp. 228-234.
- [135] Shaw, G.R. 1914. The genus *Pinus*. Cambridge, Riverside Press, 96 s. Publications of the Arnold Arboretum, no. 5.
- [136] Schotte, G. 1910. Über die Bedeutung der Samenprovenienz und des Alters der Mutterbestände bei Kiefernkultur. Medd. fran. Skogsfrinst., 78 s.

- [137] Skrøppa, T. 1996. Diallel crosses in Norway spruce II. Performance and inbreeding depression of selfed families. *Forest Genetics* 3: 69-79.
- [138] Svoboda, P. 1953. Lesní dřeviny a jejich porosty. Část I. SZN Praha. 411 s.
- [139] Šindelář, J. 1981. Přehled provenienčních a ověřovacích ploch s borovicí lesní *Pinus sylvestris* L. v ČSSR a československých dílčích populací na plochách vysázených - stav k 1. 1. 1980. *Zprávy les. výzkumu* 26: 6-12.
- [140] Šindelář, J. 1991. Koncepce dalšího šlechtění borovice lesní *Pinus sylvestris* L. pro potřeby ČR. *Práce VÚLHM* 76: 7-46.
- [141] Šindelář, J. 1992a. Základní principy šlechtitelských programů pro hospodářsky významné lesní dřeviny jehličnaté. *Lesnický průvodce 1/1992*, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 1992, 78 s., přílohy.
- [142] Šindelář, J. 1992b. Nástin metodických zásad pro první fáze prací spojených se založením ověřovacích ploch uznaných jednotek kategorie A pro borovici lesní a semenných sadů borovice lesní a modřínu. Příloha k Metodickému pokynu MZe ČR, 191/92-640.
- [143] Šindelář, J., Frýdl, J., Novotný, P. 2005. Proměnlivost borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) na území České republiky (s přihlédnutím k populacím ve Slovenské republice) na základě geografických charakteristik míst původu. Samostatný realizační výstup výzkumného projektu NPV 1G46093 Využití šlechtitelských metod při testování zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin. Jíloviště-Strnady, VÚLHM 2005. 74 s., přílohy.
- [144] Šindelář, J., Frýdl, J., Novotný, P., Čáp, J. 2007. Hodnocení proměnlivosti potomstev borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) na základě geografických charakteristik lokalit jejich původu. *Zprávy lesnického výzkumu* 52: 214-225.

- [145] Turesson, G. 1936. Rassenökologie und Pflanzengeographie. Einige kritische Bemerkungen. Botaniska Notiser: 420-437.
- [146] Van Buijtenen, P. 1966. Loblolly pine for drought resistance. - Tech. Rep. 13, Texas Forest Service, pp. 15.
- [147] Vincent, G., Polnar, M. 1953. Pokusné provenienční plochy s borovicí. Práce výzkumných ústavů lesnických v ČSR, 3, s. 238-278.
- [148] Wennström, U., Bergsten, U., and Nilsson, J.E. 2007. Seedling establishment and growth after direct seeding with *Pinus sylvestris*: effects of seed type, seed origin, and seeding year. Silvae Fenn. 41: 299-314.
- [149] Wright, J.W., Bull, I. 1963. Geographic variation in Scotch pine. Silvae Genet. 12: 1-40.
- [150] Yazdani, R. and Lindgren, D. 1992. Gene Dispersion after natural regeneration under a widely-spaced seed-tree stand of *Pinus sylvestris* (L.). Silvae Genet. 41: 1-5.
- [151] Směrnice pro uznávání a zabezpečení zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin a pro jeho přenos. Ministerstvo lesního a vodního hospodářství a dřevozpracujícího průmyslu ČSR, 1988. 22 s., přílohy.
- [152] Vyhláška č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2004 Sb., o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. Sbírka zákonů Česká republika, 2004, č. 9, s. 467-524.
- [153] Vyhláška MZe ČR č. 82/1996 Sb., o genetické klasifikaci, obnově lesa, zalesňování a o evidenci při nakládání se semeny a sazenicemi lesních dřevin. In: Zákon o lesích a příslušné vyhlášky. Praktická příručka, 2003, č. 48, s. 39-54.

- [154] Vyhláška MZe ČR č. 139/2004 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o přenosu semen a sazenic lesních dřevin, o evidenci o původu reprodukčního materiálu a podrobnosti o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa. Sbírka zákonů Česká republika, 2004, č. 46, s. 1955-1963.
- [155] Zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnicky významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin). Sbírka zákonů Česká republika, 2003, č. 57, s. 3279-3294.
- [156] Zákon č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon). In: Zákon o lesích a příslušné vyhlášky. Praktická příručka, 2003, č. 48, s. 3-23.
- [157] Zákon č. 387/2005 Sb., kterým se mění zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnicky významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin) a zákon č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů. Sbírka zákonů Česká republika, 2005, č. 133, s. 7128-7135.

Přílohy

Příloha č.	Název	Strana č.
1.	Typologická mapa testovací plochy Skelná Huť po revizi v r. 2010.	134
2.	Typologická mapa testovací plochy Nepomuk po revizi v r. 2010.	135
3.	Plánek semenného sadu Doubrava (LS Plasy).	136
4.	Plánek semenného sadu Silov u Nepomuka (LS Klatovy).	137
5.	Plánek testovací plochy Skelná Huť (LS Plasy).	138
5a.	Soupis klonů testovaných na ploše Skelná Huť (LS Plasy).	139
6.	Plánek testovací plochy Nepomuk (LS Klatovy).	140
7.	Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 5. 5. 2009.	141
8.	Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 15. 5. 2009.	142
9.	Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 10. 5. 2010.	143
10.	Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 17. 5. 2010.	144
11.	Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 24. 5. 2010.	145
12.	Denzita kvetení prašníků sem. sadu Silov u Nepomuka v r. 2010.	146
13.	Denzita kvetení šištic sem. sadu Silov u Nepomuka v r. 2010.	147
14.	Porovnání výsledků verifikace metodou izoenzymů a metodou mikrosatelitů.	148

Příloha 1

Typologická mapa testovací plochy Skelná Huť po revizi v r. 2010.

Příloha 2

Typologická mapa testovací plochy Nepomuk po revizi v r. 2010.

Příloha 3

Plánek semenného sadu Doubrava (LS Plasy).

Příloha 4

Plánek semenného sadu Silov u Nepomuka (LS Klatovy).

Příloha 5

Plánek testovací plochy Skelná Huť (LS Plasy).

Příloha 5a

Soupis klonů testovaných na ploše Skelná Huť (LS Plasy).

Příloha 6

Plánek testovací plochy Nepomuk (LS Klatovy).

Příloha 7

Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 5. 5. 2009.

Příloha 8

Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 15. 5. 2009.

Příloha 9

Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 10. 5. 2010.

Příloha 10

Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 17. 5. 2010.

Příloha 11

Sledování fenologie kvetení semenného sadu Silov u Nepomuka 24. 5. 2010.

Příloha 12

Denzita kvetení prašníků sem. sadu Silov u Nepomuka v r. 2010.

Příloha 13

Denzita kvetení šištic sem. sadu Silov u Nepomuka v r. 2010.

Příloha 14

Porovnání výsledků verifikace metodou izoenzymů a metodou mikrosatelitů.