

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta lesnická a dřevařská**

**Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin**



**Stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů v testu  
potomstev borovice lesní, VLS s.p. Mimoň**

Diplomová práce

Autor: Jan Vopěnka

Vedoucí práce: Ing. Jan Stejskal, Ph.D.

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Jan Vopěnka

Lesní inženýrství

Lesní inženýrství

Název práce

**Stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů v testu potomstev borovice lesní u VLS ČR, s. p.**

Název anglicky

**Determination of photosynthetic pigments in the progeny test of Scots pine operated by VLS ČR, p.**

---

### Cíle práce

Laboratorní stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů vybraných genotypů borovice lesní v rámci polosesterských potomstev. Následně bude posouzena genetická variabilita měřených parametrů a odhadnuty fenotypové i genetické korelace mezi různými pigmenty a růstovými parametry sledovaných jedinců.

### Metodika

Bude dodržen standardní laboratorní protokol pro dané analýzy, který je dlouhodobě využíván na FLD a byl zde optimalizován pro naše hlavní dřeviny.

Následně budou využity smíšené lineární modely pro statistickou analýzu – cílem je dekompozice rozptylu a odhad heritability sledovaných znaků. Vícerozměrné modely poté umožní odhad genetických korelací mezi znaky.

## Doporučený rozsah práce

60 stran

## Klíčová slova

borovice lesní, šlechtění, semenné sady, chlorofyl

---

## Doporučené zdroje informací

- ČEPL, J. – HOLÁ, D. – STEJSKAL, J. – KORECKÝ, J. – KOČOVÁ, M. – LHOTÁKOVÁ, Z., ... & KAŇÁK, J. (2016). Genetic variability and heritability of chlorophyll a fluorescence parameters in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree physiology*, 36(7), 883-895.
- ERIKSSON, G. – EKBERG, I. *An Introduction to forest genetics*. Uppsala: SLU, 2001. ISBN 91-576-6032-8.
- KAŇÁK, J. – LSTIBŮREK, M. – ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE. LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ FAKULTA. *Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní v západních a jižních Čechách [rukopis] : disertační práce*. Disertační práce. Praha: 2011.
- KUBÁSEK, J. – TOMÁŠKOVÁ, I. – ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE. LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ FAKULTA. *Fyziologie lesních dřevin I. : fyziologie, produkce a stresy rostlin*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin, 2016. ISBN 978-80-213-2608-8.
- KUBÁSEK, J. – TOMÁŠKOVÁ, I. – ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE. LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ FAKULTA. *Fyziologie lesních dřevin II. : růst, vývoj a rozmnožování*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin, 2017. ISBN 9788021328006.
- WHITE, T L. – NEALE, D B. – ADAMS, W T. *Forest genetics*. Wallingford, Oxfordshire, UK ; Cambridge, MA: CABI Pub., 2007. ISBN 9780851993485.

---

## Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FLD

## Vedoucí práce

Ing. Jan Stejskal, Ph.D.

## Garantující pracoviště

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

Elektronicky schváleno dne 9. 3. 2020

**prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc, Ph.D.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 10. 3. 2020

**prof. Ing. Róbert Marušák, PhD.**

Děkan

V Praze dne 16. 03. 2020

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů v testu potomstev borovice lesní, VLS s.p. Mimoň** vypracoval samostatně pod vedením Ing. Jana Stejskala Ph.D. a použil jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

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

V Praze dne 15.6.2020

Podpis autora: .....

Bc. Jan Vopěnka

### Poděkování:

Rád bych poděkoval svému vedoucímu Ing. Janu Stejskalovi Ph.D. za odbornou pomoc při vypracování této diplomové práce. Dále bych rád poděkoval týmu, co mi pomohl zpracovat vzorky v laboratoři a to především Ing. Anně Krejzkové, Ing. Dagmar Zádrapové, Bc. Jaromíru Bláhovi a Ing. Jakubu Hejtmánkovi za změření výšky a tloušťky.

A v neposlední řadě patří velké díky mé rodině, a především Haně Vopěnkové a Janu Moravovi a přátelům, kteří mě během studia a vytváření této práce vždy podpořili.

## Abstrakt:

Tato diplomová práce je zaměřena na vyhodnocení obsahu fotosyntetických pigmentů v asimilačním aparátu borovice lesní (*Pinus sylvestris*) na testovacích plochách Vojenských lesů a statků ČR, s.p., při divizi Mimoň. Šetření probíhalo na potomcích semenného sadu první generace. Pro následná měření obsahu fotosyntetických pigmentů byly odebrány letorosty jedinců a dále byla změřena aktuální výška a tloušťka jedinců na ploše. Následně byla provedena extrakce fotosyntetických pigmentů v laboratoři, které bylo následováno změřením jejich množství v roztoku. Výsledky obsahu byly vyhodnoceny popisnou statistikou v programu MS Excel pro každý fotosyntetický pigment zvlášť. Podrobná genetická evaluace byla provedena pomocí smíšených lineárních modelů v programu ASReml. V tomto programu byla odhadnuta genetická variabilita a genetická korelace fotosyntetických pigmentů. Tato měření nám umožní lépe poznat biologické procesy související s fotosyntézou a vztahy mezi fyziologickými a růstovými znaky této významné dřeviny.

Klíčová slova: borovice lesní, šlechtění, semenné sady, chlorofyl

## Abstract:

This thesis is aimed at evaluating the content of photosynthetic pigments in the assimilation apparatus of the forest pine (*Pinus sylvestris*) on the grounds of the Military Forests and estates of the Czech Republic, p.p., in the division of Mimoň. Tracking took place on the descendants of the first generation seed orchard set were monitored. As part of the data collection, samples of annual shoots of the lethargy of the individual tree were taken used to measure the contents of the photosynthetic pigments was taken and the height and thickness of the individual was further measured. The extraction of photosynthetic pigments was subsequently carried out in the laboratory was subsequently carried out, which went on to measure and their amount in solution was measured. The content results were evaluated by a descriptive statistic in the MS Excel program for each photosynthetic pigment separately. Detailed genetic evaluation was done using mixed linear models in the ASReml program. This program estimated genetic variability and the genetic correlation of photosynthetic pigments. These measurements will allow us to accelerate investigations of genetic relatedness in the future with the help of pedigree reconstruction and thus simplify the establishment of new generation seed orchard.

Key words: Scots pine, breeding, seed orchards, chlorophyll

## Obsah

Seznam grafů:.....	10
Seznam obrázků: .....	10
Seznam tabulek: .....	10
Použité zkratky: .....	11
1. Úvod: .....	12
2. Cíle práce: .....	13
3. Literární rešerše.....	14
3.1. Borovice lesní: .....	14
3.1.1. Morfologie:.....	14
3.1.2. Ekologické nároky:.....	15
3.1.3. Význam v lesním hospodářství: .....	16
3.1.4. Lokální ekotyp: .....	17
3.2. Fotosyntetické pigmenty:.....	18
3.2.1. Chlorofyly: .....	18
3.2.2. Karotenoidy: .....	19
3.3. Šlechtění:.....	20
3.3.1. Šlechtitelské programy:.....	22
3.3.2. Test potomstev:.....	24
3.3.3. Evaluace šlechtitelských programů – genetická evaluace:.....	26
3.4. Spektrofotometrie:.....	32
4. Materiál a metody:.....	33
4.1. Lokalita .....	33
4.2. Materiál: .....	34
4.2.1. Vojenské lesy a statky:.....	34
4.2.2. Půdní a geologické vlastnosti: .....	35
4.2.3. Meteorologické podmínky: .....	36
4.3. Sběr vzorků:.....	37
4.4. Laboratorní měření: .....	37
4.5. Statistická analýza: .....	38
4.5.1. Aritmetický průměr: .....	38
4.5.2. Směrodatná odchylka:.....	38
4.5.3. Párový T-test:.....	39
4.5.4. Korelace:.....	40
4.6. ASReml: .....	40



4.7.	Postup zpracování dat: .....	41
5.	Výsledky:.....	42
5.1.	Výsledky statistické analýzy: .....	42
5.1.1.	Chlorofyl <i>a</i> : .....	43
5.1.2.	Chlorofyl <i>b</i> : .....	45
5.1.3.	Karotenoidy: .....	47
5.2.	ASReml: .....	49
5.2.1.	Chlorofyl <i>a</i> .....	49
5.2.2.	Chlorofyl <i>b</i> .....	50
5.2.3.	Karotenoidy .....	52
5.2.4.	Genetická korelace pigmentů s růstovými parametry: .....	53
5.3.	Heritabilita a šlechtitelská hodnota: .....	53
6.	Diskuse.....	54
6.1.	Statistické analýzy: .....	54
6.2.	ASReml a genetická korelace pigmentů s růstovými parametry:.....	55
6.3.	Heritabilita a šlechtitelská hodnota: .....	56
7.	Závěr:.....	58
8.	Citovaná literatura.....	59

## Seznam grafů:

Graf 1: Chlorofyl a se střední chybou .....	44
Graf 2: Korelace chlorofyl a.....	44
Graf 3: Chlorofyl b se střední chybou .....	46
Graf 4 : Korelace chlorofyl b.....	46
Graf 5: Karotenoidy se střední chybou.....	48
Graf 6: Korelace karotenoidy .....	48

## Seznam obrázků:

Obrázek 1: Šlechtitelský cyklus (WHITE, a další, 2007) .....	23
Obrázek 2: Zobrazení Gaussovy křivky (Wikipedia; Autor: Petter Strandmark, upravil Nusha (desetinné čárky) .....	27
Obrázek 3: Genetický zisk ve třech populacích šlechtěných ve třech cyklech (WHITE, a další, 2007).....	30
Obrázek 4: Pleiotropie dvou znaků (WHITE, a další, 2007) .....	31
Obrázek 5: Graf pro chlorofyl a v ASReml.....	49
Obrázek 6: Graf pro chlorofyl b v ASReml .....	50
Obrázek 7: Wald modifikovaná F statistika z programu ASReml .....	50
Obrázek 8: Souhrn modelu pro chlorofyl b z programu ASReml.....	51
Obrázek 9: Graf pro karotenoidy v ASReml.....	52
Obrázek 10: Redukovaný model pro signifikaci korelace pigmentů a tloušťky .....	53
Obrázek 11: LRT test pro pigmenty a růstové parametry .....	53

## Seznam tabulek:

Tabulka 1: Zastoupení borovice lesní na území ČR.....	16
Tabulka 2: Hodnoty statistické analýzy za červen .....	42
Tabulka 3: Hodnoty statistické analýzy za září .....	42
Tabulka 4: Průměrná výška a tloušťka jedinců .....	42
Tabulka 5: T-test chlorofyl a .....	43
Tabulka 6: Korelace chlorofyl a s výškou a tloušťkou.....	43
Tabulka 7: T-test chlorofyl b.....	45
Tabulka 8: Korelace chlorofylu b s výškou a tloušťkou .....	45
Tabulka 9: T-test karotenoidy .....	47
Tabulka 10: Korelace karotenoidy s výškou a tloušťkou.....	47

## Použité zkratky:

LHC: Lesní hospodářský celek

LHP: Lesní hospodářský plán

PLO: Přirozená lesní oblast

CHS: Cílový hospodářský soubor

LVS: Lesní vegetační stupeň

ÚHÚL: Ústav pro hospodářskou úpravu lesů

PUPFL: Pozemek Určený k Plnění Funkcí Lesa

ATP: Adenosintrifosfát

NADPH: Nikotinamidadeninukleotidfosfát

DNA: Deoxyribonukleová kyselina

GCA: General Combination Ability

SCA: Specific Combination Ability

## 1. Úvod:

Tato diplomová práce je zaměřena na výzkum fotosyntetických pigmentů borovice lesní (*Pinus sylvestris*). Výzkum je postaven na spolupráci katedry genetiky a fyziologie Fakulty lesnické a dřevařské České zemědělské univerzity v Praze s Vojenskými lesy a statky ČR, s.p. a. VLS disponují šesti semennými sady (tři pro borovici lesní, dva pro modřín opadavý a jeden pro třešň ptačí). Těchto šest semenných sadů spadá do kategorie semenné sady první generace, které zakládáme s ohledem na čistě fenotypový výběr. Tyto semenné sady jsou zakládány za účelem snížení nákladů na sběr osiva a nyní jsou VLS schopny pokrýt svoji vlastní potřebu a přebytky nabízet dalším subjektům. V rámci projektu „Využití genových zdrojů lesních dřevin pro zachování biologické rozmanitosti a obnovu lesa pro Vojenské lesy a statky ČR, s.p.“, který financoval TAČR ve spolupráci s VLS bylo založeno a později uznáno 8 semenných sadů (pět pro smrk ztepilý, dva pro jedli bělokorou a jeden pro borovici lesní). Součástí tohoto projektu, který probíhal od roku 2011 do roku 2016, bylo založit semenné sady, s testy potomstev, (společně s optimalizací protokolu DNA dílčích populací) tak, aby bylo v budoucnu možno založit semenné sady vyšší generace s využitím testů potomstev a rekonstrukcí rodokmenu.

V této diplomové práci je vyhodnocena dílčí část výzkumu odrostlých jedinců borovice lesní (*Pinus sylvestris*) se zaměřením na obsahy fotosyntetických pigmentů v jehlicích. Testy množství fotosyntetických pigmentů v asimilačním aparátu by v budoucnu mohly částečně nahradit nákladné genetické testy potomstev a urychlit zakládání nových semenných sadů. Pro měření byl odebrán vzorek letorostů a kolegou Ing. Jakubem Hejtmánkem změřena výška a tloušťka jedince.

## 2. Cíle práce:

Laboratorní stanovení obsahu fotosyntetických pigmentů vybraných genotypů borovice lesní v rámci polosesterských potomstev. Následně bude posouzena genetická variabilita měřených parametrů a odhadnuty fenotypové i genetické korelace mezi různými pigmenty a růstovými parametry sledovaných jedinců.

### 3. Literární rešerše

#### 3.1. Borovice lesní:

##### 3.1.1. Morfologie:

Borovice lesní je borovicí s jehlicemi ve svazku po dvou a ty jsou obklopeny společnou pochvou, která je 5-10 mm dlouhá, zpočátku bílá, později šedohnědá, a nakonec tmavě hnědá. Jehlice jsou 3-10 cm dlouhé a 1-2 mm široké a jsou v příčném řezu do tvaru písmene „u“. Mají xenomorfní znaky. Pokožku jehlice tvoří vrstva epidermis s průduchy a dobře vyvinutá kolenchymatozní hypodermis. Dále následuje mezofilní vrstva, ve které se nachází 5-10 pryskyřičných kanálků, obalující endodermis. Endodermis je vyplněna sklerenchymem, který vyplňuje prostor mezi dvěma cévními svazky, které jsou mezi sebou odděleny transfúzním pletivem. Barva jehličí se udává v létě jako modrozelená a v zimě tmavě šedozelená. Jehličí na stromě setrvává v rozmezí 2-4 let. Borovice je jednodomá dřevina. Samčí šištice mají žlutavou nebo fialovou barvu a vyskytují se na koncích posledního ročníku letorostů. Pylová zrna mají kruhovitý až eliptický tvar a velikost 40 až 50  $\mu\text{m}$ . Pylové zrno je dvoukřídlé, síťované s malým hřebenem na základě křídel. Samičí šištice se nacházejí též na konci posledního ročníku letorostů. Na počátku mají velikost 5 až 7 mm a červenohnědou barvu. (CARLISLE, a další, 1968).

Po opylení upadá pyl do roční dormance a druhý rok se samičí šištice mění v konelety. Druhý rok dochází k oplození vyklíčením pylového zrna a začíná vznikat šiška. Na konci druhého roku šiška dozrává a vypadávají z ní semena. Ve třetím roce prázdné šišky ze stromu opadávají. Šiška má nejčastěji rozměry 3 až 10 cm, kdy z hlavního větvena vyrůstají podpůrné šupiny, ve kterých jsou uložena semena. Semena jsou 3,5 mm až 5,5 mm dlouhá, vejčitého tvaru, barva je hnědá až černá. Semeno objímá 15 až 20 mm dlouhé křídélko, které je tvarově proměnlivé, od krátkého a širokého po dlouhý a úzký tvar. Barva křídélka je nejčastěji světle hnědá. Plodit borovice začínají nejčastěji ve 30 až 40 letech v porostech a jako solitéry začínají plodit v 10 až 15 letech (MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, 2001).

Kořenový systém je nejčastěji kúlového typu, avšak záleží na druhu podloží. Na mělkých půdách typu zamokřeného rašeliniště má kořeny nízko pod povrchem. Ve chvíli, kdy je rašelina promíchána s trochou minerální půdy, byl kořenový systém už hlubšího charakteru. (CARLISLE, a další, 1968).

Na písčitéch půdách má hluboký kulovitý kořen, díky kterému je schopna čerpat vodu z hloubek, které jsou pro jiné dřeviny nedosažitelné. Naopak na skalních výchozech se kotví díky bohatému rozvinutému systému vedlejších kořenů.

Právě díky hlubokému kulovitému kořenu netrpí na vývraty, ale na druhou stranu se potýká s problémy zlomů kmene této dřeviny. Tloušťka kmene borovice se pohybuje okolo jednoho metru ve výčetní tloušťce. Borka borovice lesní je ve vrchní části stromu papírově tenká a odlupčivá skořicově oranžové barvy, na spodní části kmene je silnější šedohnědé barvy s mělkými štěrbinami. Tvar koruny se liší a závisí na způsobu pěstování. V mládí je tvar koruny kuželovitý a postupem věku se mění do různých tvarů od deštníkovité, polokulovité až po vejčité kuželovitou. Koruna je většinou poměrně vysoko nasazená. Borovice lesní se dorůstá na dobrých stanovištích výšky kolem 40 m. Jako většina nahosemenných rostlin, tak i borovice má monopoidní typ větvení to znamená, že při růstu nových letorostů zůstává silná apikální dominance termálního pupene, jenž dále roste a omezuje růst postranních větví. Avšak růst monopostů je mnohem méně výrazný než třeba u smrku ztepilého (*Picea abies*) a z toho důvodu borovice nemá pro smrk nebo jedli tak typický tvar kužele (CARLISLE, a další, 1968).

### 3.1.2. Ekologické nároky:

Borovice lesní (*Pinus sylvestris*), v angličtině Scots pine, je jednou z nejrozšířenějších dřevin rodu *Pinaceae* ve světě. Je schopna se vyskytovat v nadmořských výškách od hladiny moře až po 1000 m n. m. na severu a 1200–2600 m n. m. na jihu Euroasie (MATÍAS, a další, 2012).

Tato tolerance ji umožňuje výskyt od zimního prostředí severní Sibíře, až po středomořské prostředí na jihu Španělska a od vlhkého oceánického prostředí západního pobřeží Skotska, po kontinentální klima centrální Evropy a Asie. Teplotní limity se pohybují od -27 °C až po 26 °C, avšak její horní teplotní limit může být určen nepříznivou rovnováhou mezi její fotosyntézou a dýcháním za vysokých teplot. Ideální teplota pro zrání semen se udává rozmezí od 8,5 °C–10 °C (CARLISLE, a další, 1968).

Tato dřevina je pionýrskou dřevinou s extrémní světlomilností a z toho důvodu její obnova pomocí clonné seče je mnohem méně častá nežli obnova na holinách (VÍTAMVÁS, a další, 2019).

S přibývajícím osluněním se zvyšuje produkce biomasy. Uvádí se, že například borovice lesní ze Sibíře má pomalejší tempo růstu než evropské populace tohoto stromu, které se genotypově přizpůsobily většímu suchu a vyšším teplotám v průběhu roku. Na vodu tato dřevina není příliš náročná, jelikož díky svému kořenovému systému je schopna ji čerpat z nižších hladin podzemní vody. Roste na lokalitách s vegetační dobou 90 až 200 dní a srážkami od 200 mm do 1700 mm ročně (MUSIL, a další, 2007).

Co se půdy týče její rozsah je opět velmi široký. Je schopna přežívat na písčitéch půdách, na skalních výchozech, ve skalních městech, na zasolených půdách, bažinách a rašeliništích. Preferuje a je adaptována díky svému kořenovému systému na sušší písčité až kamenité půdy, které vznikly na silikátových horninách, a to jak vápencových, tak i hadcových (CARLISLE, a další, 1968).

V Česku se rozlišují dva ekotypy borovice lesní, a to náhorní a pahorkatinná, oba ekotypy mají různou charakteristiku kmene, koruny, způsobu adaptace na prostředí (MACHOVÁ, a další, 2016).

Ekotyp pahorkatinné borovice často působí jako pionýrská dřevina. Zmlazuje se na chudých minerálních půdách, často roste v monokulturách a špatně snáší konkurenci ostatních dřevin. Náhorní ekotyp má spíše charakter klimaxové dřeviny. U náhorního typu se také občas používá název borovice hercynské, často roste v kombinaci se smrkem, jedlemi a buky (ŠINDELÁŘ, a další, 2007).

Roste v nadmořských výškách 700 m n.m.-1100 m n. m.. Obnovuje se velmi často v podrostu a trpí na osluněných pasekách. Má vyšší produkci dřeva nežli pahorkatinné borovice. U nás se nejčastěji vyskytuje na Šumavě (stožecká borovice), Českém lese, Slavkovském lese a v Krušných horách. V rámci regionů se v Čechách vylisuje borovice jihočeská (třeboňská) tato borovice je známa ohledem na stejnoměrnost letokruhů, šumavská (stožecká), polabská, týništská (východočeská), západočeská, severočeská, svratecká (Českomoravská vysočina), heraldická vyskytující se v oblasti Nízkého Jeseníku, záhorská (rohatecká, hodonínská), dále karpatská, která se vyskytuje v nižších polohách Bílých Karpat. Poslední dvě jmenované se řadí spíše k borovice karpatské, která se ostrůvkovitě vyskytuje na Slovensku (ŠINDELÁŘ, a další, 2007).

### 3.1.3. Význam v lesním hospodářství:

V lesním hospodářství je borovice lesní (*Pinus sylvestris*) druhou nejvyužívanější dřevinou po smrkem ztepilém (*Picea abies*). Borovice je v českém lesnictví zastoupena 16,2 % a zastoupení v posledních letech mírně klesá. I přesto je jedinou dřevinou, která se v rámci České republiky blíží své doporučené skladbě, která je 16,8 % (MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ, 2019).

Tabulka 1: Zastoupení borovice lesní na území ČR.

Borovice	Rok	2000	2010	2015	2016	2017	2018
	Zastoupení (ha)	453 159	436 308	428 030	425 687	424 201	422 243
Zastoupení (%)	17,6	16,8	16,5	16,4	16,3	16,2	



U nás původní borovice lesní roste ostrůvkovitě na extrémních reliktních stanovištích. Hospodářsky významné porosty u nás borovice lesní vytváří jen na několika původních lokalitách. Mezi tyto lokality patří jihočeská, severočeská, severovýchodočeská, západočeská, středočeská a jihomoravská. Využití borovice spočívá hlavně na přirozených borových a chudých oglejených stanovištích středních a nižších poloh. Výchova borovice lesní má na rozdíl od smrku jiný charakter. To hlavně z důvodu, že borovice na rozdíl od smrku reaguje mnohem pomaleji a méně výrazněji na jakýkoliv zásah. Zásah s příliš vysokou intenzitou může snížit přírůst této dřeviny, a naopak příliš slabý zásah negativně ovlivňuje charakteristiky uvnitř porostu (SLODIČÁK, a další, 2007).

Borovice lesní má také obrovský význam jako pudoochranná dřevina na extrémních stanovištích. Využití dřeva borovice lesní je velmi podobné jako u smrku ztepilého (*Picea abies*). Avšak borovice lesní je kvalitativně variabilnější. Pro svou odolnost vůči vodě se používá i ve vodním stavitelství, dále může být zdrojem pryskyřice a je vhodná i pro pěstování vánočních stromků (MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, 2001).

Dřevo z borovice lesní je vhodné, jak pro nábytkářský průmysl, tak pro výrobu důlních sloupů nebo třeba železničních pražců (ŠAFRÁNKOVÁ, 2016).

#### 3.1.4. Lokální ekotyp:

Borovice má v typologickém systému České republiky svůj vlastní stupeň (0). Co se týče tohoto stupně většina stanovišť se nachází v rozpětí 3.-5. lesního vegetačního stupně (dále jen LVS). Může se okrajově vyskytovat v 2. LVS a v extrémních případech se vyskytuje i v 6. LVS.

Borovice má také hlavní zastoupení v několika cílových hospodářských souborech (dále jen CHS). Nejvíce se vyskytuje v CHS 23 kyselá stanoviště nižších poloh, CHS 27 oglejená stanoviště nižších poloh, CHS 13 přirozená borová stanoviště, CHS 21 exponovaná stanoviště nižších poloh a CHS 39 podmáčená suchá stanoviště (POLENO, a další, 2009).

Lokální ekotyp nacházející se v semenných sadech Vojenských lesů a statků v okolí Mimoně se vyskytuje na lesním vegetačním stupni 3 (dubobukový) a v přírodní lesní oblasti 18 (Severočeská pískovcová plošina a Český Ráj). Jedná se konkrétně o borovici lesní pěstovanou v semenných sadech v okolí Břežňanských rybníků a bývalého vojenského letiště Hradčany. Tato borovice lesní (*Pinus sylvestris*) má v česku svoje vlastní přízvisko a je nazývána borovicí „Dokeskou“.

### 3.2. Fotosyntetické pigmenty:

Fotosyntéza je jedním z prvních biologických procesů, který se objevil před 2,5 miliony let (OLSON, a další, 2004; USTIN, a další, 2009). Fotosyntéza se tradičně dělí na dva stupně. Na fotosyntézu primární a sekundární. Primární, také jinak řečeno světelná reakce fotosyntézy začíná pohlcením fotonu světla o vhodné vlnové délce a končí tvorbou energetických a redukčních ekvivalentů (ATP, ferredoxin, NADPH). Tyto látky jsou univerzální pro všechny buňky. Primární fotosyntéza vyžaduje světlo. Sekundární, dříve temnostní, reakce fotosyntézy využívá vytvořeného ATP a NADPH k redukci oxidu uhličitého do jednoduchých organických látek. Sekundární fáze již nevyžaduje světlo, avšak nemusí probíhat ve tmě, kdy ustává přísun ATP a NADPH z primární fáze (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

Fotosyntézu umožňují právě fotosyntetické pigmenty. Fotosyntetických pigmentů známe mnoho, chlorofyly (*a, b, c, d, e, f*), chlorofylům příbuzné bakteriochlorofyly (*a, b, c, d, e, f, g*), karotenoidy (karoteny, xantofyly) a fykobiliny (fykoerytrin a fykocyanin). Chemicky jsou tyto pigmenty tetrapyroly a karotenoidy. Tetrapyrol je složen ze čtyř jader pyrolu spojenými methinovými můstky (=C-) a jsou uspořádány buď do kruhu (porfyrinový kruh), to jsou chlorofyly anebo do linie, a to jsou fykobiliny. (PAVLOVÁ, 2006).

Fotosyntetické pigmenty jsou barviva uložená ve fotosystémech tylakoidů. Pohlcují určitou část viditelného záření a energii z tohoto záření předávají dalším molekulám (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

#### 3.2.1. Chlorofyly:

Mezi hlavní fotosyntetické pigmenty vyšších rostlin patří chlorofyly *a* *b*, které dohromady vytvářejí fotosběrný anténní komplex, jenž sbírá fotony a dodává jejich energii do reakčního centra fotosystému (ŠAFRÁNKOVÁ, 2016).

Jeden fotosběrný anténní komplex může obsahovat 200 až 300 molekul chlorofylu *a* a *b* a četné xantofyly (PAVLOVÁ, 2006).

Sběr fotonů pomocí fotosyntetických pigmentů má unikátní podpis. Energie je uložena jako sacharidy prostřednictvím řady elektronových přenosů, které jsou v tylakoidní membráně chloroplastů. V tomto chloroplastu jsou tyto pigmenty a dále bílkoviny uspořádány a tvoří dva fotosystémy, a to Fotosystém I a Fotosystém II (LICHTENTHALER, 1987).

Nejdůležitějším fotosyntetickým pigmentem je chlorofyl *a*. Jeho chemický sumární vzorec je  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ . Vzniká biosyntézou v chloroplastu počínající na vnitřní membráně a končící v thylakoidu. První reakce vychází z kyseliny glutamové, dále pokračuje na kyselinu 5-aminolevulovou (5-ALA), kdy vznikají pyrolová jádra. Čtyři pyrolová jádra

(A až D nebo I až IV) vytvoří kruh nazývaný se porfyn. V dalším kroku vzniká protochlorofyl *a*, který se vyskytuje v thylakoidu nebo prolamelárním tělesu a zde se redukuje na chlorofylid *a*. Chlorofyl *a* pak vznikne navázáním fytolu na pyrolové jádro D. Dále oxidací chlorofylu *a* na pyrolovém jádře B vzniká chlorofyl *b*. Chlorofyl *a* má na pyrolovém jádře B skupinu –CH<sub>3</sub>, kdežto chlorofyl *b* má na pyrolovém jádře B skupinu –CHO. Každý druh fotosyntetického pigmentu má svou určitou vlnovou délku pro maximální absorpci přijímaného světla (USTIN, a další, 2009).

Chlorofyly absorbují fotony hlavně modré a červené části viditelného spektra, zelené viditelné spektrum odrážejí, a proto se nám rostliny obsahující chlorofyl zdají zelené (PAVLOVÁ, 2006).

Maximální hodnoty absorpce pro chlorofyl *a* v diethyletheru nastávají při vlnové délce světla 430 až 662 nm, pro chlorofyl *b* je to vlnová délka 453–642 nm (USTIN, a další, 2009).

Chlorofyl *a* je součástí reakčních center fotosystému a je z chlorofylů nejdůležitější. Právě on je schopen separace náboje, defacto předává elektron na jinou molekulu. Chlorofyly *a* jsou v reakčním centru uspořádány do specifických párů. Zbylé typy chlorofylů, především chlorofyl *b* předávají excitaci směrem na zmíněný specifický pár. Tento přenos je schopný fungovat až se 100 % účinností. Tyto propojené chlorofylové komplexy tvoří LHC – Light harvesting complex, což je již dříve zmiňovaná světlosběrná anténa (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

### 3.2.2. Karotenoidy:

Mezi fotosyntetické pigmenty dále patří karotenoidní pigmenty. Hlavními karotenoidy jsou karoteny a xantofyly. Nacházejí se především v chromoplastech, což jsou plastidy bez fotosyntetické funkce, které dávají barvu například plodům a květům. Vyskytují se, ale i ve fotosynteticky aktivních chloroplastech a dokážou předávat energii chlorofylům, a tak se podílet na fotosyntéze. Karotenoidy mají, ale na rozdíl od chlorofylů odhadovanou účinnost přenosu pouze 30 % (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

Karotenoidy jsou tetraterpeny a jejich základem je 8 izoprenových jednotek uspořádaných do řetězce konjugovaných dvojných vazeb, které mají na konci cyklické struktury. Z chemického hlediska jsou karoteny uhlovodíky a xantofyly jsou jejich kyslíkaté deriváty, kde kyslík je vázán na konci cyklické struktury. V chloroplastech vyšších rostlin se z karotenoidů vyskytuje hlavně β-karoten a z xantofylů pak lutein, violaxantin, zeaxantin a neoxantin. Syntéza karotenoidů probíhá na stomatální straně vnitřní obalové membrány plastidů. První části biosyntézy je společná s ostatními terpeny v plastidech

(fytol C<sub>20</sub>, plastochinon (C<sub>45</sub>). Základním stavebním kamenem jsou izoprenové jednotky (C<sub>5</sub>) izopentenylpyrofosfát (IPP). Ty se syntetizují v plastidech z 3-P-glyceraldehydu a pyruvátu. Dále syntéza pokračuje přes geranylgeranylpyrofosfát (GGPP), fytoen, lykopen ke karotenům (PAVLOVÁ, 2006).

Právě karotenoidy rozšiřují spektrum záření, které může být na fotosběrných komplexech zachyceno a dále mají ochrannou funkci před UV zářením, mrazem a proti vysoké ozáření (USTIN, a další, 2009).

Například při vysokých dávkách fotonů, které překračují kapacitu přenosu elektronů mezi fotosložkami karotenoidní pigmenty chrání před fotooxidací a fotoinhibicí tím, že přebytek je vyzářen jako teplo (DEMMING-ADAMS, a další, 1996).

Tomuto ději se říká xantofylový cyklus. Violaxin se změní na an-teraxantin a anteraxantin na zeaxantin. Právě zeaxantin má schopnost přebytečnou energii přeměnit na vyzářené teplo (PAVLOVÁ, 2006).

Druhý způsob ochrany je díky antioxidačním schopnostem karotenoidů, kdy přeměňují nebezpečné radikály na neškodné molekuly bez nespárovaných či excitovaných elektronů (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

Karotenoidy absorbují fotony v oblasti modrého a fialového viditelného spektra a odráží především žluté a oranžové barevné spektrum (PAVLOVÁ, 2006).

Pro  $\beta$ -karoten rozpuštěný v hexanu je vlnová délka pro maximální absorpci fotonů 451 až 470 nm (USTIN, a další, 2009).

### 3.3. Šlechtění:

Šlechtění lesních dřevin je dnes nedílnou součástí lesnictví. Zvyšuje produkci dřeva a tím i hospodářský zisk. Jeho počátky se objevují v polovině 20. století (RUOTSALAINEN, 2004). Dále může být cílem šlechtění také zvýšení obranyschopnosti vůči abiotickým činitelům (ČEŠKA, 2014).

Avšak první zmínky o pokusech šlechtit plodiny jsou již z období přibližně před 10 000 lety. Už tehdy naši předci přišli na to, že když schovají semena dobře plodících plodin, tak mohou následující rok vypěstovat tyto plodiny znovu a v téměř stejné kvalitě. Díky tomuto už v roce 1000 př.n.l. byla většina plodin fenotypově téměř shodná s těmi dnešními (WHITE, a další, 2007).

Na rozdíl od pěstování lesů, které si dává stejné cíle jako šlechtění dřevin, ale dosahuje jich přeměnou prostředí, kde jedinec roste, šlechtění se orientuje na změnu fenotypových

vlastností pomocí změny dědičné složky. Šlechtění tedy využívá změnu genetické struktury pěstovaného materiálu (GÖMÖRY, a další, 2010).

Základem šlechtění jsou geny. Právě geny případně cytoplazma uvnitř stromů způsobuje dědičné rozdíly. Tyto dědičné rozdíly jsou stanoveny již při tvorbě semene a díky tomu nemají nic společného s rozdíly způsobenými vnějším prostředím (WRIGHT, 1967).

Geny jsou základem pro tvorbu genetických variací a biodiverzitu na celém světě. Geny se zabývá biologický vědní obor genetika. Genetika popisuje dědičné variace mezi příbuznými organismy a sleduje jejich podobnost a rozdílnost. V lesnictví je ukotveno odvětví lesnické genetiky, která se zabývá genetickými experimenty a šlechtěním lesních dřevin. Nevýhodou tohoto odvětví je velikost zkoumaných jedinců, velikost jejich genomu a jejich dlouhověkost, avšak z hlediska ekonomického a sociálního významu je lesnická genetika nezbytná (WHITE, a další, 2007).

Šlechtění lesních dřevin je cílevědomá aktivita konaná za účelem zvýšení produkce dřevní hmoty a to, pokud možno s co nejvyšší kvalitou, odolností vůči biotickým i abiotickým činitelům. Těchto popsaných cílů je možno dosáhnout za použití geneticky vylepšeného reprodukčního materiálu s využitím semenných sadů, případně klonování (KOBLIHA, a další, 2007).

Již před objevem struktury DNA v roce 1944, došlo k mnoho důležitým objevům. V roce 1856 Louis de Vilmorin vyvinul testování potomstva pro zjištění rodičů. V roce 1859 Charles Darwin vydal svou hypotézu o přirozeném výběru. O několik let později v roce 1866 Gregor Mendel, který sledoval křížení hrachu, formuloval Mendelovy zákony dědičnosti. V roce 1908 Godfrey Hardy a Wilhelm Weinberg formulovali vztahy mezi alelami a frekvencí genotypu při náhodném páření v populaci. V 20tých letech 20. století Yule, Nilson-Ehle a East vysvětlil, že segregující geny se singulárními účinky odpovídají za dědičnost kvantitativních znaků. Ve 30tých letech Ronald Fisher odvodil statistické koncepty náhodnosti, experimentálního designu variační analýzy, jenž se staly základem moderních statistických experimentálních metod.

Dalším důležitým momentem byl rok 1953, kdy James Watson a Francis Crick objevili a popsali dvoušroubovicovou strukturu DNA. A konečně 80. léta, ve kterých byly vyvinuty molekulární metody. Mezi tyto metody patří například objev restričních enzymů, metody klonování DNA, chemické metody pro stanovení sekvence nukleotidů v DNA a také objev polymerázové řetězové reakce, která umožňuje průzkum DNA bez potřeb klonování (WHITE, a další, 2007).

Dnešní smysl šlechtění lesních dřevin lze dělit do čtyř cílů podle (ANDERSSON, 1999):

1. Produkce osiva vhodné fyziologie: Osivo je definováno jako zdravé, s vysokou klíčivostí a vysokou energií klíčení (EL-KASSABY, 1995). Je také důležité uspořádání semenného sadu. Vhodné hnojení a pěstební zásahy mohou výsledek ještě více vylepšit (ANDERSSON, 1999).
2. Zajištění adaptability reprodukčního materiálu: Pojednává o schopnosti přežít kritické abiotické podmínky, které jsou svázány s geografickou polohou (SORENSEN, 1992; XIE, a další, 1993; PERSSON, 1994).
3. Navýšení genetické hodnoty hospodářsky významných znaků: Určuje závislost pokroku ve šlechtění na známosti materiálu a způsobu využití těchto informací ve šlechtitelském programu (WEI, 1995; WHITE, a další, 1993).
4. Zachování genetické diverzity v přirozených i hospodářských lesích (ANDERSSON, 1999): Nevyhnutelná ztráta genetické diverzity po domestikaci nesmí být tak závažná, aby se snížil adaptivní potenciál vylepšeného materiálu (NAMKOONG, a další, 1988; WHITE, a další, 1993).

Nejčastějšími šlechtitelskými cíli je zvýšení kvantity a kvality (jakosti) produkce dřevin, zvýšení rychlosti růstu, zvýšení odolnosti vůči biotickým a abiotickým činitelům, zachování současných cenných genových zdrojů a genetické variability lesních dřevin (DEJMAL, 2012).

Orientace lesního šlechtitelství jde dnes především směrem rozvoje semenných sadů společně s testy potomstev, studia a záchranu zdrojových populací dřevin, vegetativního množení dřevin řízkováním a kulturami in vitro s následnými klonovými testy, hybridizace, genových markerů a aplikace moderního genového inženýrství (KOBLIHA, a další, 2006).

Šlechtění lesních dřevin bude mít v rámci bioekonomiky v budoucnu stále větší vliv, při zajištění výroby vysokého množství kvalitních surovin a díky tomu poroste i jeho ekonomický význam (RUOTSALAINEN, 2004).

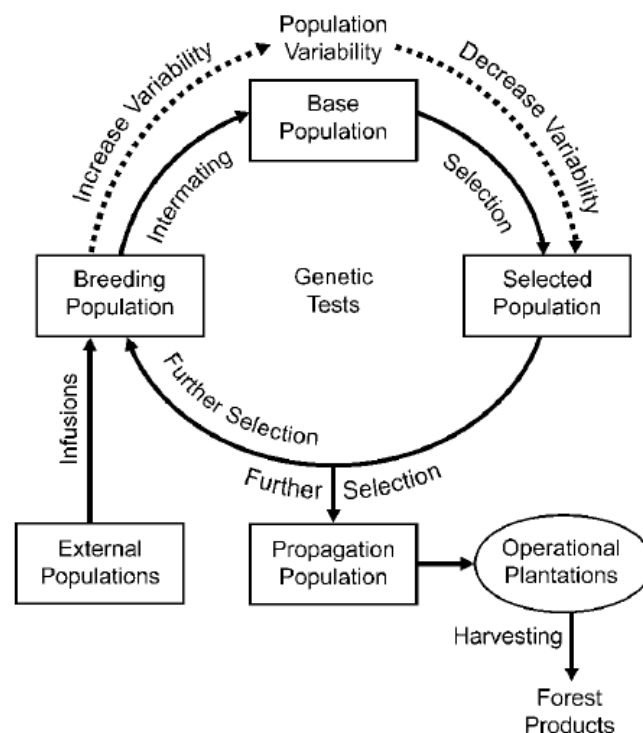
### 3.3.1. Šlechtitelské programy:

Každé šlechtění by mělo mít svůj program, který je uceleným souborem aktivit, které je třeba vykonat pro splnění šlechtitelských cílů.

Šlechtění je většinou umožněno díky čtyřem popsaným typům populace, a to zdrojové (základní), selektované populaci šlechtitelské a produkční populaci.

1. Zdrojová populace: Je populací sloužící pro selekci jedinců vhodných ke zlepšení vlastností. Sestává ze všech dostupných jedinců ke šlechtění. Je velmi velká a skládá se z tisíců geneticky odlišných jedinců (WHITE, a další, 2007).
2. Selekční populace: Jsou jedinci selektovaní pro křížení. V prvním cyklu se zde nacházejí jedinci selektovaní podle fenotypu. V dalších generacích jsou to stromy se známými rodokmeny, které pomáhají vytvořit informační síť pro následnou genetickou evaluaci (WHITE, a další, 2007).
3. Šlechtitelská populace: Je populace, ve které se koncentrují aktivity související s křížením jedinců zdrojové populace. Následně probíhají jejich testy polními šlechtitelskými výsadbami anebo testováním genetické informace analýzami genetických markerů (IVANEK, a další, 2009; NAMKOONG, a další, 1988).
4. Produkční populace: Tato populace již slouží k transferu genetického zisku získaného ze šlechtitelské populace do hospodářských výsadeb. Mezi hlavní produkční populace patří semenné sady a klonové matečnice (IVANEK, a další, 2009; PAULE, 1992).

V rámci šlechtitelského programu probíhá mnoho aktivit, které jsou shrnuty v koncepčním modelu nazývaném šlechtitelský cyklus (viz. Obrázek 1).



Obrázek 1: Šlechtitelský cyklus (WHITE, a další, 2007)

Jádrem činnosti ve šlechtitelském cyklu je selekce a křížení. Nejdříve se provádí selekce ze zdrojové populace, kdy se vytvoří výběrová populace. Následně jsou jedinci z výběrové populace kříženi a vznikají buďto šlechtitelské populace, které jsou dále kříženy, aby produkovaly genetický zisk anebo produkční populace, které jsou použity pro sběr osiva. Pokud se první cyklus provádí efektivně, tak již v druhém cyklu bude obsažen genetický zisk. K tomu dochází, jelikož jedinci základní populace v druhém cyklu vznikli křížením geneticky nejlepších jedinců základní populace prvního cyklu a jedinci druhého cyklu tak obsahují příznivé alely svých rodičů. Jednotlivé šlechtitelské cykly na sebe navazují a nikdy nemohou probíhat zároveň. A právě každý další navazující šlechtitelský cyklus generuje vyšší genetický zisk (WHITE, a další, 1993).

Jelikož je borovice lesní specifický druh dřeviny, vyžaduje podle (PAULE, 1992) specifický přístup ke šlechtění. Důraz šlechtitelského programu borovice lesní je tudíž kladen na:

1. Zvýšení produkce biomasy, dřeva a lepší tvárnosti kmene.
2. Urychlení růstu v mladším věku.
3. Odolnost proti sypavce borové (*Lophodermium pinastri*) a kořenovníku vrstevnatém (*Heterobasidion annosum*).
4. Zvýšení tolerance proti abiotickým činitelům a imisím za pomoci genetických markerů.
5. Zvýšit toleranci pro suché, vysychavé, písčité a chudší stanoviště.

### 3.3.2. Test potomstev:

Testování potomstev semenného sadu slouží k ověření, zda potomstvo převzalo od mateřských stromů geneticky podmíněné vlastnosti. Výsledkem by mělo být uznání semenného sadu jako zdroje testovaného reprodukčního materiálu, který může být použit pro založení semenného sadu vyšší generace (KAŇÁK, a další, 2008).

Právě testem potomstev lze zjistit šlechtitelskou hodnotu stromu v sadu. A tato hodnota je použita jako kritérium pro selekci jedinců pro zakládání semenných sadů vyšší generace. U jehličnatých stromů se nejčastěji testují až potomci šlechtěných jedinců (RUOTSALAINEN, 2004).



Toto testování je formálně zavedeno ve vyhlášce č. číslo 29/2004 Sb., která je prováděcím předpisem pro zákon 149/2003 Sb. o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. Testy potomstev se zabývá konkrétně v § 11, jenž se zabývá *Podrobnostmi o požadavcích pro uznání zdroje testovaného reprodukčního materiálu a jeho označování*. a v příloze této vyhlášky číslo 28, která se věnuje *Požadavkům pro uznání zdroje testovaného reprodukčního materiálu*. Dnes se mluví především o třech metodách testování. Mezi tyto metody patří konvenční testy potomstev, časné testy potomstev a tzv. Breeding without Breeding.

Konvenční testování potomstev probíhá především u semenných sadů 1. generace, které jsou tvořeny jedinci získanými na základě fenotypového šetření (KOBLIHA, a další, 2007).

Tyto jedince je třeba testovat, zda jsou jejich vlastnosti podmíněné geneticky (KAŇÁK, 2011).

Testování klonů v semenném sadu může probíhat dvěma způsoby:

- 1) Potomstvo jednotlivých klonů je získáno za pomoci křížení vybraných klonů. Jedná se tedy o plnosesterské potomstvo, jelikož známe oba rodiče.
- 2) Potomstvo jednotlivých klonů, případně ramet je získáno z osiva jednotlivých ramet.

V tomto případě se jedná o polosesterské potomstvo, jelikož známe pouze matku, protože dochází k volnému sprášení.

Po testování plnosesterských potomstev je možné z pozitivních klonů vytvořit semenný sad vyšší generace. Pokud jsme testovali polosesterské potomstvo, tak lze vytvořit pouze semenný sad 1,5. generace, avšak při použití genetických markerů a následné rekonstrukci rodokmenu, lze vytvářet sady vyšších generací. Sad 1,5. generace lze vytvořit i vyjmutím negativních klonů ze semenného sadu 1. generace (KAŇÁK, a další, 2008).

Dále jsou tři možnosti při využití dlouhodobého šlechtění, a to založení semenného sadu, vytvoření archivu klonů anebo pěstovat jedince pomocí tkáňových kultur (ERRIKSSON, a další, 2013).

Časné testy potomstev umožňují časnější výběr jedinců, než je možné u klasické konvenční metody. Avšak možným rizikem těchto testů je, že jedinci neodrážejí podmínky lokality, na které se vyskytují a získávají je díky interakci genotypu a prostředí. Až do konce 20. století nepřinesly časné testy potomstva žádné příliš významné výsledky. V několika případech byla nalezena silná korelace potomků a jejich rodičů, ale přitom v dalších případech nebyly nalezeny žádné korelace (ERRIKSSON, a další, 2013).

Breeding without breeding (dále jen BWB) strategie byla popsána jako inovativní metoda, která umožňuje zachytit 75 %–85 % genetické odezvy bez nutnosti provádět jakékoliv kontrolované opylování nebo provádět zjednodušené nebo terénní testování. BWB kombinuje použití genotypového nebo fenotypového předvýběru jedinců, DNA markerů pro rekonstrukci rodokmene potomků at' plnosesterských nebo polosesterských a analýzy kvantitativně genetické pro určení elitních jedinců, kteří budou sloužit pro založení produkční populace (EL-KASSABY, a další, 2009).

DNA markery ve formě mikrosatelitů slouží k nalezení repetice v kódu DNA. Počátkem 70. let 20. století se začali používat biochemické markery mezi něž patří například monoterpeny a alozymy, což jsou alelické formy enzymů. Později v 80. letech se začaly používat mikrosatelity, které patří mezi molekulární markery (WHITE, a další, 2007).

Nejčastějšími repeticemi u rodu *Pinus* jsou trinuklidy. Druhými nejčastějšími jsou repetice dinuklidů, tetranuklidy v rámci výskytu téměř chybí. Z výčtu dinuklidů je nejčastější kombinace AT a AG, pokud se jedná o trinuklidy jsou to kombinace AAG následované AGC a AGG (CHANGÉ, a další, 2004).

Nevýhodou genetických testů potomstev je, že jsou v lesnictví poměrně dlouhodobé (5-50 let) a podléhají mnoha nepříznivým podmínkám prostředí, což je obvykle spojeno s výraznou mortalitou. Pro správné výsledky je třeba dodržet jistá opatření. Jako například zajistit uniformitu prostředí, aby všechny klony měly stejnou šanci na přežití a přírůst. Dále je třeba zajistit omezení kompetice, podpořit raný růst dřeviny a eliminovat vliv buřeneš a poškození škůdci (WHITE, a další, 2007).

### 3.3.3. Evaluace šlechtitelských programů – genetická evaluace:

Pro hodnocení je nejdříve důležité znát hodnoty, které vstupují do tohoto hodnocení. Většina hodnot dnes pochází z kvantitativní genetiky.

V rámci kvantitativní genetiky jsou uvedeny důležité pojmy jako například dědičnost, šlechtitelská hodnota, kombinační schopnost, interakce genotypu s prostředím, sesterské křížení, selekční diferencíál, intenzita selekce, genetický zisk a genetická korelace (ERRIKSSON, a další, 2013).

Kvantitativní genetika se zaměřuje také na kvantitativní znaky, které jsou ovlivněny mnoha lokusy genu. Tyto lokusy genů mají velmi malý vliv na projev daného fenotypového znaku. Většina těchto znaků je brána jako polygenní a mezi tyto znaky u lesních dřevin patří například výška, tloušťka, objem, frekvence kvetení a plození osiva, tvar kmene, nasazení koruny a další (WHITE, a další, 2007).

Projevy kvantitativních znaků jsou rozděleny dle normálního rozdělení a zobrazeny v Gaussově křivce (viz obrázek 1). Dle tohoto rozdělení se ti nejvíce průměrní jedinci nacházejí okolo hodnoty  $\mu$ , což je možno označit za průměr populace. Dalším sledovaným prvkem je fenotypová variace popsaná  $\sigma^2$ . Pro jejich výpočet slouží tyto rovnice:

$$\mu = \sum \frac{(P_i)}{N}$$

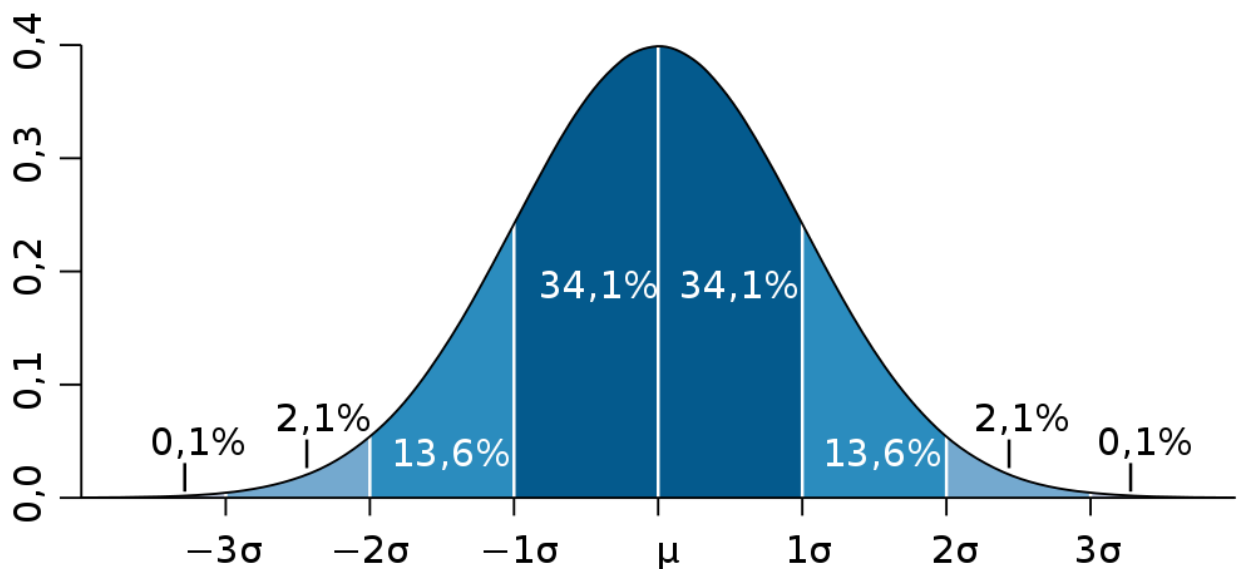
$$\sigma^2 = \sum \frac{(P_i - \mu)^2}{N}$$

Kdy  $P_i$  jsou jednotlivá měření sledovaných fenotypových hodnot a  $N$  je počet sledovaných jedinců. Fenotypovou hodnotu ( $P_i$ ) pak lze vypočítat pomocí vzorce:

$$P_i = \mu + G_i + E_i$$

Kdy  $\mu$  je populační průměr sledovaného znaku,  $G_i$  je genotypová hodnota jedince a  $E_i$  je hodnota přinesená prostředím (WHITE, a další, 2007).

Z Obrázku 2 lze vyčíst že výskyt jedinců nebo sledovaných hodnot je mezi hodnotami  $(\mu - \sigma, \mu + \sigma)$  s pravděpodobností 68,27 %, v intervalu  $(\mu - 2\sigma, \mu + 2\sigma)$  s pravděpodobností 95,45% a v intervalu  $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$  s pravděpodobností 99,78 % (ZOBEL, a další, 1984).



Obrázek 2: Zobrazení Gaussovy křivky (Wikipedia; Autor: Petter Strandmark, upravil Nusha (desetinné čárky))

Další sledovaný znak je fenotypová variabilita. Fenotypovou variabilitu lze vyhodnotit jako genotypová variabilitu s variabilitou ovlivněnou prostředím (ERRIKSSON, a další, 2013).

Výpočet lze provést pomocí tohoto vzorce:

$$\sigma_P^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2$$

Kde  $\sigma_P^2$  je fenotypová variabilita,  $\sigma_G^2$  je genetickou variabilitou stromu a  $\sigma_E^2$  je variabilitou vnesenou okolním prostředím. V případě, že se na ploše, kterou sledujeme vyskytují pouze klony se stejnou genetickou variabilitou lze vzorec zjednodušit na  $\sigma_P^2 = \sigma_G^2$  a pokud je plocha, na které se jedinci vyskytují dokonale uniformní, tudíž nevnáší žádnou variabilitu prostředí lze vzorec zjednodušit na  $\sigma_P^2 = \sigma_G^2$ .

Dalšími důležitými pojmy jsou šlechtitelská a klonální hodnota. Klonální hodnota se používá ve chvíli, kdy potomek (rameta) vznikl vegetativním množením rodiče (ortetu) a jeho genotypová hodnota  $G_i$  je shodná s jeho rodičem. Ve chvíli, kdy se však potomek rodí generativně ze semen, tak se na genotypu jedince již podílí dva rodiče. Z toho důvodu je nutno v dříve zmíněné rovnici pro výpočet Fenotypové hodnoty ( $P_i$ ) upravit genotypovou hodnotu a rovnici následně upravit do tohoto tvaru:

$$G_i = A_i + I_i$$

$$P_i = \mu + A_i + I_i + E_i$$

Kdy  $A_i$  je šlechtitelská hodnota stromu jinak jí lze nazvat aditivní složkou a  $I_i$  je interakce s okolím také jinak neaditivní složka. Stejně jako genotypovou, tak šlechtitelskou hodnotu nelze přesně změřit. Přesto, že se šlechtitelské hodnoty získávají z testů potomků jsou to stále jen odhady z měření fenotypu omezeného vzorku potomků od každého rodiče (WHITE, a další, 2007).

Dalším pojmem, o kterém jsem se zmiňoval je kombinační schopnost. Tuto schopnost máme rozdělené na dvě, a to General Combination Ability (GCA) a Specific Combination Ability (SCA). GCA je použita v případě polosesterských potomstev, kdy u potomka známe jen matku a její genetické hodnoty. Právě GCA je hodnota jednotlivce posuzována střední hodnotou jedince.

Pokud je jedinec zkřížen s vysokým počtem jedinců vybrané populace, je právě GCA odchylka průměru potomstva od celkového průměru křížené populace. Jestliže jsou výsledky GCA vysoké, lze hovořit o vysoké přítomnosti genů s aditivními účinky (ERRIKSSON, a další, 2013).

Fenotypovou hodnotu polosesterského potomstva ( $P_{O,HS}$ ) lze vypočítat dle vzorce, který je uveden v (WHITE, a další, 2007):

$$P_{O,HS} = \mu_0 + GCA_F$$

Pokud se však jedná o plnosesterské potomstvo už lze využít SCA. V tomto případě známe oba rodiče, a tudíž šlechtitelská hodnota potomka by měla být rovna průměru šlechtitelských hodnot potomka.

SCA nám říká že křížení dvou rodičů nám dává potomstvo, které se odchyluje od toho, co se očekává na základě GCA. Vysoká SCA většinou upozorňuje na přítomnost dominance a epistáze (ERRIKSSON, a další, 2013).

V případě plnosesterského potomstva se fenotypová hodnota ( $P_{O,FS}$ ) počítá pomocí vzorce, který je uveden v (WHITE, a další, 2007):

$$P_{F,HS} = \mu_0 + GCA_F + GCA_M + SCA_{FM}$$

Dále se velmi často objevuje v rámci šlechtění pojem heritabilita česky dědivost. V rámci šlechtění se heritabilita rozděluje na heritabilitu v širším smyslu a heritabilitu v užším smyslu. Heritabilita může nabývat hodnot od 0 do 1 a udává nám poměr aditivní proměnlivosti k fenotypové proměnlivosti (ERRIKSSON, a další, 2013). Jinak řečeno heritabilita říká, jak moc mají genetické faktory a faktory prostředí vliv na proměnlivost jedince.

Heritabilita v širším smyslu označované jako  $H^2$  nám vysvětluje poměr celkové genetické variability ( $\sigma_G^2$ ) ku celkové fenotypové variabilitě ( $\sigma_P^2$ ). Lze jí popsat dle vzorce:

$$H^2 = \frac{\sigma_A^2 + \sigma_I^2}{\sigma_A^2 + \sigma_I^2 + \sigma_E^2}$$

Tento vzorec lze upravit do této podoby:

$$H^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2}$$

Heritabilita v užším smyslu označované jako  $h^2$  nám vysvětluje poměr pouze aditivní genetické proměnlivosti ( $\sigma_A^2$ ) ku celkové fenotypové variabilitě ( $\sigma_P^2$ ). Tu popisuje tento vzorec uveden v (WHITE, a další, 2007):

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_A^2 + \sigma_I^2 + \sigma_E^2}$$

Heritabilita pak vstupuje do vzorce pro výpočet genetického zisku. V rovnici genetického zisku se kromě heritability objevuje selekční diferenciál nebo intenzita selekce.

Selekční diferenciál značený jako S je rozdíl mezi průměrnou hodnotou selektované populace ( $\bar{x}_S$ ) a průměrnou hodnotou celkové populace ( $\bar{x}_0$ ).

Diferenciál závisí na rozložení znaku a platí, že čím vyšší je distribuce normálního rozdělení, tím vyšší je selekční diferenciál (ERRIKSSON, a další, 2013).

Intenzita selekce značená jako  $i$  je podíl selekčního diferenciálu ( $S$ ) a odmocniny fenotypové variability ( $\sigma_p$ ) Selekční intenzita se tedy počítá dle vzorce:

$$i = \frac{S}{\sigma_p}$$

Z tohoto důvodu je intenzita selekce vyjádřena ve fenotypických směrodatných odchylkách (WHITE, a další, 2007).

Pokud tedy známe heritabilitu, selekční diferenciál jsme schopni vypočítat genetický zisk dle vzorce:

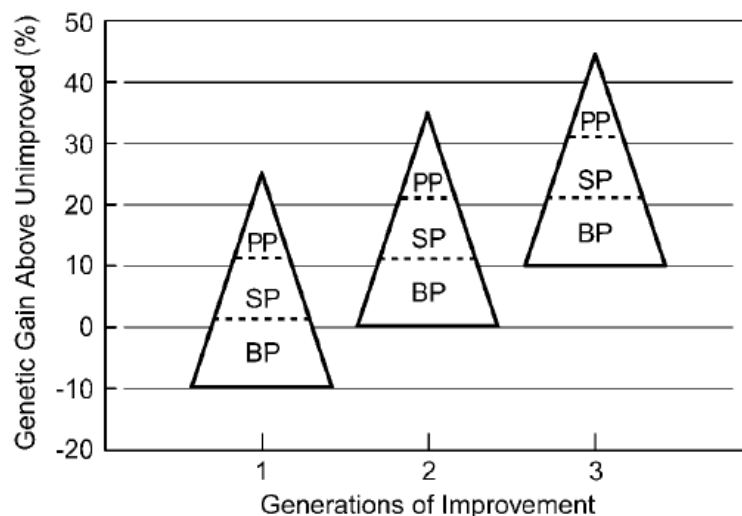
$$\Delta G = h^2 \times S$$

V případě, že známe heritabilitu a selekční intenzitu výpočet probíhá dle vzorce:

$$\Delta G = h^2 \times i \times \sigma_p$$

Genetický zisk měří rozdíl mezi rodičovskou populací a populací vyšlechtěných potomků. Tudiž nám říká průměrný genetický zisk pro produkční populaci od rodičovské populace (ERRIKSSON, a další, 2013).

Genetický zisk ze šlechtění zobrazený v Obrázku 3 ukazuje tři na sebe navazující šlechtitelské cykly a v nich tři vzniklé populace. Na ose X jsou umístěny jednotlivé populace s rozdělením na jednotlivé části šlechtitelského cyklu, kdy BP je zdrojová populace, SP je selektovaná populace a PP je produkční populace. Na ose Y je zobrazen genetický zisk. Šlechtitelský zisk lze počítat jak pro dvě na sebe navazující generace ve šlechtitelském cyklu, tak pro dvě stejné populace v sobě navazujících šlechtitelských cyklech.



Obrázek 3: Genetický zisk ve třech populacích šlechtěných ve třech cyklech (WHITE, a další, 2007)

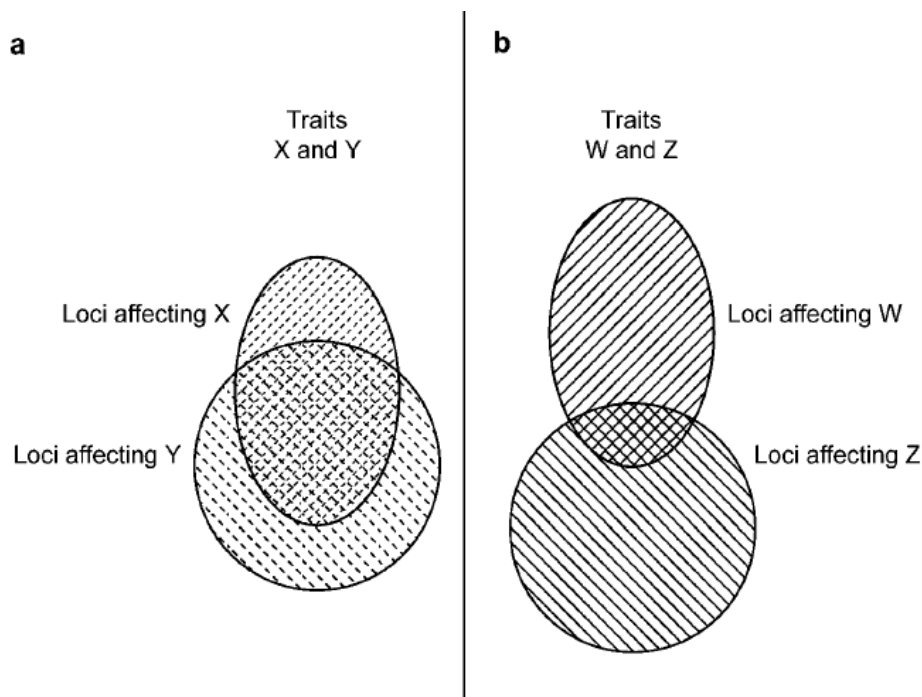
Jedním z posledních podstatných pojmů jsou korelace. (WHITE, a další, 2007) uvádí fenotypovou korelaci ( $r_p$ ), genetickou korelaci ( $r_G$ ) a enviromentální korelaci ( $r_e$ ). Nejdříve si popíšeme fenotypovou korelaci. Pokud měříme více než jeden znak na určité populaci jedinců, pak lze hovořit o měření fenotypové korelace.

Například měříme výšku a tloušťku na určitém vzorku šlechtěné populace. Předpokládáme, že nadprůměrný jedinec ohledně výšky bude mít i nadprůměrné hodnoty ohledně tloušťky. Toto znamená fenotypové propojení dvou znaků, které je kvantifikováno fenotypovou korelací ( $r_p$ ) (WHITE, a další, 2007).

Genetická korelace je odhad síly vztahu mezi šlechtitelskými hodnotami dvou sledovaných znaků. Genetická korelace popisuje stav, kdy stejná alela je schopna ovlivňovat dva odlišné znaky. Z toho lze usoudit, že pokud jeden lokus ovlivňuje nějaký kvantitativní znak je schopen ovlivnit i více kvantitativních znaků (ERRIKSSON, a další, 2013).

Pokud jeden lokus ovlivňuje více než jeden znak pak hovoříme o jevu nazvaném pleiotropie. Pleiotropie způsobila vznik genetické korelace. Pokud jsou některé genetické lokusy pleiotropické a ovlivňují projevení více znaků, pak existuje měřitelná fenotypová korelace mezi znaky způsobenými genetickou korelací. (WHITE, a další, 2007).

Na Obrázku 4 jsou znázorněny dvě možnosti pleiotropie. Na části obrázku *a* jsou znaky X a Y, které sdílejí mnoho pleiotropních lokusů genu, a tudíž je jejich genetická korelace silná. Na části obrázku *b* je ukázán opačný jev. Znaky W a Z mají méně sdílených pleiotropních lokusů genu, tudíž i jejich genetická korelace je slabá.



Obrázek 4: Pleiotropie dvou znaků (WHITE, a další, 2007)

Genetickou korelaci lze podle (ERRIKSSON, a další, 2013) počítat dle vzorce:

$$r_a = \frac{cov_{xy}}{\sqrt{var_x \times var_y}}$$

Ale (WHITE, a další, 2007) uvádí, že genetická korelace je podobně jako heritabilita rozdělena na genetickou korelaci v širším smyslu ( $r_G$ ) a genetickou korelaci v užším smyslu ( $r_a$ ). Genetická korelace v širším smyslu je korelací pravých klonálních hodnot pro dva znaky X a Y a její vzorec je:

$$r_G = Corr(G_{xi}, G_{yi})$$

Kde  $G_{xi}$ ,  $G_{yi}$  jsou první klonální hodnoty pro znaky všech stromů.

Genetická korelace v užším smyslu je korelací pravých šlechtitelských hodnot pro dva znaky X a Y a její vzorec je:

$$r_a = Corr(A_{xi}, A_{yi})$$

Kde  $A_{xi}$  a  $A_{yi}$  jsou pravé šlechtitelské hodnoty pro znaky měřeného jedince.

V případě měření dvou znaků v referenční populaci a její hodnoty budou nabývat téměř záporných hodnot lze tvrdit, že jedna šlechtitelská hodnota je nadprůměrná a druhá je naopak podprůměrná (WHITE, a další, 2007).

### 3.4. Spektrofotometrie:

Spektrofotometrie je analytická metoda pro měření vzorků na základě pohlcování (absorpce) světla různých vlnových délek.

Spektrofotometrie využívá absorpce ultrafialového a viditelného záření (200-800nm) zředěným molekulovým roztokem. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou na molekulových orbitalech. V případě, že na květu obsahující měřený roztok dopadá zářivý tok  $\Phi_0$  je tento prošlý tok ochuzen o absorbované, odražené a rozptýlené záření. Předpokládáme, že rozhodující část úbytku záření připadá na absorpci a z tohoto důvodu se odraz a rozptyl záření zanedbává (KLOUDA, 2003).

Ve spojení se spektrofotometrií se hovoří o transmitanci a absorbanci. Transmitance (T) je podíl záření, které prošlo roztokem ( $\Phi$ ) ku záření, které na vzorek dopadlo ( $\Phi_0$ ).

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0}$$

Absorbance (A) je vlastně záporný dekadický logaritmus transmitance (T):

$$A = -\log \frac{\Phi}{\Phi_0}$$



## 4. Materiál a metody:

### 4.1. Lokalita

Divize Mimoň Vojenských lesů a statků ČR byla postupně zřízena od roku 1947, kdy byly převáděny lesy z vlastnictví velkých rodů například Waldsteina, Hartiga, Rohana, kterým byl na základě Benešových dekretů zabaven majetek. Výrazná změna nastala v roce 1968, kdy sovětská vojska při invazi zabrala zdejší vojenské letiště (DANČÁKOVÁ, 2008).

Výměra zdejší divize je 28 283 ha z toho je 26 920 ha lesních pozemků. Organizačně se tato divize dělí na Lesní správy Břehyně, Hamry, Dolní Krupá, Lipník a Správu služeb Mimoň. (VOJENSKÉ LESY A STATKY ČR, 2020).

VLS divize Mimoň spravuje dále i několik odloučených celků a to Chlum (Frýdlant v Čechách), Travčice a Přestavlky (obě na Litoměřicku), Tisá (Děčín), Červený Újezd (Teplice), Telnice (Ústí nad Labem) (DANČÁKOVÁ, 2008).

Jedná se přirozenou lesní oblast 18, ve které dominuje borovice 65 %. Mezi další druhy vyskytující se zde patří smrk 19 %, dub 4 %, buk 3 %, modřín 3 %. Jehličnaté porosty zde vytvářejí 87 % dřevinné skladby a listnaté se vyskytují především na živnějších půdách vzniklých na vyvěřelinách (DANČÁKOVÁ, 2008).

Z hlediska lesních vegetačních stupňů se na místních lokalitách nachází podle map dostupných na stránkách ÚHÚL tyto LVS:

- 2.LVS (Bukodubový)
- 3. LVS (Dubobukový)
- 4. LVS (Bukový)

V práci od VAŠINKA (2011) je uvedeno, že se zde vyskytuje z 58 % 5. LVS (bukový), z 22 % 4. LVS (dubobukový) a 15 % 6. LVS (jedlobukový). A z ekologických řad je zde nečastější výskyt oglejené 45 %, kyselé 42 %, exponované 7 % a zbytek je zastoupen fragmentárně.

Vzorky, které umožnili zpracování pochází především z Lesní správy Břehyně. Dle LHP do PUPFL (Pozemek Určený k Plnění Funkcí Lesa) spadá 5530,96 ha půdy. A vyskytuje se na PLO 1 Krušné hory, PLO 17 Polabí a PLO 18 Severočeská pískovcová plošina a Český ráj.

Kategorizace lesů:

- Lesy ochranné: 4,54 %
- Lesy zvláštního určení: 42,77 %
- Lesy hospodářské: 52,69 %

Složení dřevin:

- Borovice: 64,99 %
- Smrk: 13,81 %
- Bříza: 8,32 %
- Buk lesní: 6,77 %
- Modřín opadavý: 2,57 %

## 4.2. Materiál:

### 4.2.1. Vojenské lesy a statky:

Vojenské lesy a statky jsou státní podnik. Jedná se o účelovou organizaci, která hospodaří na územích současných i minulých výcvikových prostorů Armády České republiky. První zmínky o Vojenských lesích a statcích se datuje do období Rakouska-Uherska, a to do roku 1905. První zmínka se týká vojenského cvičiště v okolí města Milovice. První právní zmínka z dob první republiky o této firmě je z Vládního nařízení 206, ze dne 25. září 1924. Tehdy se Vojenské lesy a statky nazývaly Vojenským dřevařským podnikem.

V průběhu první republiky (1918-1938) vznikla řada nových vojenských výcvikových prostorů. V Čechách areál v Brdech, na Moravě areál Dědice a na Slovensku Malacky a Kamenica nad Cirochou. V roce 1928 byl podnik přejmenován na Vojenské lesní podniky, které zajišťovaly hospodaření v přibývajících vojenských prostorech. Největší rozvoj tohoto podniku nastal v období 1946–1953, kdy bylo ustanoveno 12 vojenských prostorů, které přetrvaly do 90. let 20.století.

Po roce 1989 se tento podnik výrazně organizačně mění, a to především z důvodu rozdělení federace. Podnik se rozdělil, a to na Vojenské lesy a statky ČR a Vojenské lesy a majetky SR. (VOJENSKÉ LESY A STATKY ČR, 2020)

#### 4.2.2. Půdní a geologické vlastnosti:

Podle mapových geomorfologických podkladu dle Demka, lze zařadit místní lokalitu zařadit jako:

- Systém: Hercynský
- Subsystem: Hercynská pohoří
- Provincie: Česká vysočina
- Subprovincie: Česká tabule (VI)
- Oblast: Severočeská tabule (VIA)
- Celek:
- Ralská pahorkatina (VIA-1)
- Podcelek:
  - Dokeská pahorkatina (VIA-1A)
  - Zákupská pahorkatina (VIA-1B)

Zákupská pahorkatina je v severní a severovýchodní části Ralské pahorkatiny. Její střední nadmořská výška je 344 m n.m. a střední sklon je 4°06' (ÚSTAV PRO HOSPODÁŘSKOU ÚPRAVU LESŮ, 2001).

Nejvyšším vrcholkem je Ralsko 696 m n.m. a celkově je tato oblast z hlediska reliéfu pahorkatinou s členitým terénem a poměrně širokým rozpětím nadmořských výšek (VAŠINKA, 2011).

V obou oblastech spadá geologické podloží převážně do regionu mezozoika Českého masivu, útvaru křídý a oddělení svrchní křídý. Horniny jsou převážně křemenné a arkózovité pískovce, které jsou dílem jílovité nebo vápnité. Dále se vyskytují slínovce, vápnité jílovce, prachovce a slepence (ČESKÁ GEOLOGICKÁ SLUŽBA, 2020).

Dokeská pahorkatina je tvořena především svrchnokřídovými pískovci, písčitymi slínovci, vápnitými jílovci a třetihorními vulkanity (TVRZNÍK, 2017).

Vlivem výskytu pískovců prosakuje srážková voda do hlubších vrstev a z tohoto důvodu má tato oblast vysoký infiltrační koeficient a řadí se mezi důležité zásobárny vody (MUŽÍK, 2006).

Co se pedologie týče je většina území pokryta podzoly (PZ). To jsou půdy s výrazně nenasyceným sorpčním komplexem ( $V_M < 35\%$ ), jsou nasycené na hliník (Al) s tvorbou sekundárních Al-chloritů. V tomto druhu půdy také velmi často dochází k migraci komplexu Železa (Fe), Manganu (Mn) a zmíněného Hliníku (Al) s anorganickými kyselinami o malé molekule.

Vyznačují se vysokým podílem kationtové výměnné kapacity, která však záleží na pH půdy. Uvádí se, že na písčitéch půdách u podzolů nižších poloh je nižší obsah humusu (TAXONOMICKÝ KLASIFIKAČNÍ SYSTÉM PŮD ČR, 2004).

#### 4.2.3. Meteorologické podmínky:

V rámci PLO 18 Severočeské pískovcové plošiny a Českého Ráje je vylišeno několik oblastí. Tyto oblasti jsou klasifikovány jako mírně teplé oblasti MT2, MT4, MT7, MT9, MT10 MT11 a teplá oblast T2 (QUITT, 1971).

Mimoňska se týkají především oblasti MT7 a MT7. V oblasti MT7 se vyskytují převážně společenstva 3. lesního vegetačního stupně a ve vyšších polohách se mohou objevit bučiny 4. lesního vegetačního stupně. V oblasti MT9 se střídají o společenstva 2. lesního vegetačního stupně a 3. lesního vegetačního stupně (ÚSTAV PRO HOSPODÁŘSKOU ÚPRAVU LESŮ, 2001).

Z hlediska klimatu je tato oblast v přechodné části středoevropského klimatu s mírným létem a poměrně mírnou zimou. Průměrná roční teplota je 7,5 °C a teplota je nejvíce ovlivněna vertikální členitostí terénu. Délka vegetačního období je udávána 155 dní v roce (DANČÁKOVÁ, 2008).

Jako nejchladnější měsíc se jeví leden s průměrnou teplotou -3 °C a nejteplejším měsícem je červenec s průměrnou teplotou 15 °C (QUITT, 1971).

Roční úhrn srážek na území Libereckého kraje je udáván dle ČHMU 712 mm (ČESKÝ HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV).

Dle (DANČÁKOVÁ, 2008) je uváděn průměrný roční úhrn srážek 613 mm a v průběhu vegetačního období 370 mm. V zimním období jsou srážky uváděny 250-300 mm. Langův dešťový faktor (poměr mezi průměrem ročních úhrnných srážek v mm a průměrnou roční teplotou ve °C) je uváděn v rozmezí 81 až 90 na lesní správě Hamry i 60 (DANČÁKOVÁ, 2008).

Jako směr nebezpečných větrů je uváděn západní až severozápadní a v zimních měsících jihozápadní (QUITT, 1971).

### 4.3. Sběr vzorků:

Sběr vzorků probíhal v roce 2019 v měsících červen a září na ploše semenného sadu VLS ČR s.p. divize Mimoň. Jako vzorek byla odebrána vhodná špička letorostu. Dále byla kolegou Ing. Jakubem Hejtmánkem změřena výška a tloušťka sledovaného jedince a toto měření se dále opakovalo v určeném intervalu. Ke každému odebranému vzorku bylo zapsáno, o jakého jedince se jedná, aby bylo možné dohledat rodičovské stromy, v tomto případě matku, jelikož se jedná o polosesterské potomstvo. Následně byly odebrané vzorky uloženy do mrazáku pro pozdější laboratorní zpracování.

### 4.4. Laboratorní měření:

Sběr dat v laboratoři probíhal v následujícím postupu zvážení vzorků (jehlic), rozemletí zvážených jehlic, následná filtrace a zředění, odstředění získaného roztoku a zakončeno je měřením vytvořených vzorků ve spektrofotometru.

Od každého sebraného letorostu borovice lesní daného jedince ze semenného sadu byl vytvořen vážením vzorek o hmotnosti 0,2 g. Tento vzorek byl následně nůžkami nastříhán do třecí misky. Do třecí misky s nastříhanými jehlicemi byl přidán mikrolžičkou uhličitán hořečnatý ( $MgCO_3$ ), který zabraňoval oxidaci a následně pipetou napipetováno 3 ml čistého acetonu ( $C_3H_6O$ ), který sloužil k uvolnění fotosyntetických pigmentů. Následně byl vzorek v třecí misce rozemlet, aby se do acetonu uvolnili fotosyntetické pigmenty. Roztok vzniklý třením ve třecí misce, byl nalit na filtrační papír v kádince. Tím byl přefiltrován. Následovalo promývání filtračního papíru acetonem, aby se na filtračním papíru usadilo co nejméně fotosyntetických pigmentů. Tím byl roztok zředěn na objem 10 ml. Z tohoto vzorku bylo přepipetováno 1,5 ml roztoku do dvou mikrozkuavek, typu Eppendorf, 1,5 ml. Mikrozkuavky byly následně vloženy do laboratorní odstředivky, která při 13 450 otáčkách za minutu po dobu 5 minut a teplotě 22 °C vzorek odstředila. Odstředěním vznikl roztok acetonu s fotosyntetickými pigmenty a na dno se usadily nepřefiltrované nečistoty, které by znehodnocovaly měření. Odstředěné vzorky z jednoho jedince byly z mikrozkuavek přelity do laboratorních kyvet, které slouží k měření optických vlastností roztoků, v nichž obsažených.

Kyveta je z materiálu, který propouští jak viditelné, tak UV světlo, nejčastěji se používá křemenné sklo. Kyveta musí být také dokonale čistá jinak dochází k rozptylu světla a následným odchylkám měření (KLOUDA, 2003).

K měření vlnových délek byl použit spektrofotometr Hach LANGE UV/Vis DR6000. V tomto spektrofotometru proběhlo měření vícenásobné vlnové délky. Byly nastaveny tři vlnové délky a to 663nm, 646 nm a 470 nm. Právě tyto vlnové délky nejlépe odrážejí absorbují fotosyntetické pigmenty. Nejprve byl do spektrofotometru vložen tzv. blank ke kalibraci měření. Blank byla kyveta naplněná čistým acetonem ( $C_3H_6O$ ). Následně po kalibraci spektrofotometru bylo přistoupeno k měření kyvet naplněných roztokem acetonu s fotosyntetickými pigmenty. Každý vzorek byl změřen třikrát a tyto tři měření byly zapsána a následně zprůměrována do konečného výsledku, který byl předán do statistické analýzy.

#### 4.5. Statistická analýza:

Statistika je věda pomocí, které získáváme informace z naměřených numerických dat. Tento soubor numerických dat je převeden na srozumitelné a vypovídající informace, které jsou znázorněny v tabulkách a grafech.

##### 4.5.1. Aritmetický průměr:

Pro výpočty průměrů hodnot jednotlivých pigmentů byl použit tento vzorec:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Kde jsou:

$\bar{x}$  – aritmetický průměr

$n$  – je počet měřených a sledovaných jedinců

$x_1, x_2, x_3, \dots$  – hodnoty jednotlivých měření

##### 4.5.2. Směrodatná odchylka:

Směrodatná odchylka nám říká, jak moc jsou si sledované hodnoty podobné, také jinak jak moc jsou rozptýleny od průměru hodnoty. Pokud jsou si sledované hodnoty blízké vychází směrodatná odchylka nízká. Pokud je směrodatná odchylka vysoká ukazuje to na vysoké odchylky hodnot od průměrné hodnoty, tudíž si hodnoty nejsou příliš podobné.

Pro výpočty směrodatné odchylky slouží vzorec:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Kde jsou:

$\sigma$  – směrodatná odchylka

$x_i$  – hodnota daného měření

$\bar{x}$  – aritmetický průměr

$n$  – celkový počet měření

#### 4.5.3. Párový T-test:

Párový T-test je metoda spadající do matematické statistiky a slouží k potvrzení nebo vyvrácení zvolené nulové hypotézy. Tento test počítá s daty měřenými s odstupem času na jednom jedinci, tedy jedná se o opakovaná kontrolní měření. Tato kontrolní měření tvoří páry a párový T-test ověřuje, zda je rozdíl jejich středních hodnot z naměřených dat shodný či ne. Testuje se tedy hypotéza, že rozdíl středních hodnot párového měření je nulový. Pro výpočet je třeba znát hodnotu párového T-testu, počet stupňů volnosti a zvolit hladinu významnosti.

Hodnotu párového T-test lze vypočítat pomocí tohoto vzorce:

$$t = \frac{|\bar{x}|}{\sqrt{\frac{s^2}{n}}}$$

Kde:

$t$  – hodnota T-testu

$|\bar{x}|$  – aritmetický průměr rozdílu párových hodnot

$s^2$  – rozptyl rozdílu párových hodnot

$n$  – počet měření

Počet stupňů volnosti se počítá podle vzorce:

$$v = n - 1$$

Kde:

$v$  – počet stupňů volnosti

$n$  – je počet měření

Vypočítanou hodnotu  $t$  je třeba ještě porovnat s kritickou hodnotou  $t_{1-\alpha/2}$  náležící ke studentově kritickému rozdělení.

Pokud:

1)  $t \leq t_{1-\alpha/2}$  hypotézu nelze zamítnout, statisticky nevýznamný rozdíl střední hodnoty před a po měření není dostatečně odlišná.

2)  $t > t_{1-\alpha/2}$  hypotézu lze zamítnout, statisticky významný rozdíl střední hodnoty před a po měření je odlišná.

#### 4.5.4. Korelace:

Korelace nám popisuje typ a sílu závislost sledovaných veličin. Korelace, která nabývá hodnot od -1 do 1. Pokud je hodnota koeficientu rovna -1 jedná se o zápornou přímou korelaci, pokud hodnota koeficientu rovna hodnotě 1 jedná se o pozitivní přímou korelaci, v případě že se hodnota koeficientu rovná nule, tak se mezi sledovanými nenachází žádná korelace.

Pro výpočet korelačního koeficientu slouží vzorec:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \times (y_i - \bar{y})}{(n - 1) \times s_x \times s_y}$$

Kde:

$r$  – korelační koeficient

$x_i$  – hodnota měření

$\bar{x}$  – průměr z měření  $x$

$y_i$  – hodnota měření

$\bar{y}$  – průměr z měření  $y$

$s_x$  – střední odchylka z měření  $x$

$s_y$  – střední odchylka z měření  $y$

#### 4.6. ASReml:

ASReml je aplikace, která je upravena tak, aby vyhovovala obecnému lineárnímu smíšenému modelu s mírně velkými daty se složitými variačními modely. Zkratka „ReML“ je z „Residual Maximum Likelihood“, což ve volném překladu znamená residuální maximální pravděpodobnost. Tento program používá, jak bylo řečeno metodu odhadu REML k odhadu komponent rozptylu v kontextu smíšených lineárních modelů. Program tedy odhadne rozptyl a následně je možno provést dekompozici tohoto rozptylu a je rozdělen do všech působících složek. Díky tomuto lze přesně odhadnout, jak fixní, tak náhodné faktory, které ovlivňují variabilitu experimentu.



Tento program je velmi všestranný, dokáže určit prostorovou proměnlivost vztahující se k testované ploše a z tohoto důvodu se hodí pro velké množství experimentů týkajících se výzkumu nejen v lesnictví (BURGUEÑO, a další, 2000).

BURGUEÑO, a další (2000) uvádějí tento základní vzorec pro odhad složek rozptylu v obecném lineárním modelu vypadá takto.

$$Y = X_{\tau} + Z_u + \eta$$

Kde:

Y – je výsledný vektor

X – je matice pro fixní efekty

$\tau$  – je vektor pro fixní efekty

Z – je matice pro náhodné efekty

U – je vektor pro náhodné efekty

$\eta$  – je vektor reziduí

Dále byl použit vzorec pro výpočet korelace mezi znaky (pleiotropie). Výhodou tohoto vzorce je schopnost odhadnout, jak vlastnost genu ovlivňuje více než jeden fenotypový znak, odhad nabývá hodnot od -1 do 1, informuje nás o biologických vztazích mezi znaky a napomáhá nám ve výběru „dobrých“ jedinců tím, že zkoumá více jak dva znaky zároveň.

Vzorce pro výpočet této korelace vydají:

$$rg_{A(p)} = \frac{Cov_{(p1,p2)}}{\sqrt{Var_{p1} \times Var_{p2}}}$$

$$rg_{A(g)} = \frac{Cov_{(g1,g2)}}{\sqrt{Var_{g1} \times Var_{g2}}}$$

#### 4.7. Postup zpracování dat:

Data získaná z laboratorních měření byla nejdříve zpracována v programu MS Excel. V tomto programu byly vzorky vytříděny, aby bylo možno vyhodnotit střední hodnoty a směrodatné odchylky naměřených dat. Také v tomto programu byly provedeny T-testy, které měly potvrdit nebo vyvrátit hypotézu. Dále byly data nahrány a vyhodnoceny v programu ASReml, ve kterém byly za použití lineárních smíšených modelů zjištěny korelace a odhadnuta heritabilita v užším smyslu a šlechtitelské hodnoty.

## 5. Výsledky:

### 5.1. Výsledky statistické analýzy:

Tabulka 2: Hodnoty statistické analýzy za červen

Červen	Pigmenty červen 130 jedinců		
	chlorofyl <i>a</i> (mg/g <sup>-1</sup> )	chlorofyl <i>b</i> (mg/g <sup>-1</sup> )	karotenoidy (mg/g <sup>-1</sup> )
Průměr	876,054	265,743	187,560
Směrodatná odchylka	183,570	72,946	39,377

Tabulka 3: Hodnoty statistické analýzy za září

Září	Pigmenty září 130 jedinců		
	chlorofyl <i>a</i> (mg/g <sup>-1</sup> )	chlorofyl <i>b</i> (mg/g <sup>-1</sup> )	karotenoidy (mg/g <sup>-1</sup> )
Průměr	878,274	293,695	188,748
Směrodatná odchylka	167,787	61,736	32,134

Tabulka 4: Průměrná výška a tloušťka jedinců

	Výška (cm)	Tloušťka (mm)
Průměr	269,23	28,07
Směrodatná odchylka	36,46	7,17

Z předešlých dvou tabulek Tabulka 2 a Tabulka 3 lze vyčíst, jaké bylo množství fotosyntetických pigmentů v jehlicích borovice lesní (*Pinus sylvestris*) v rámci měření v červnu Tabulka 2 a v září Tabulka 3. Z tabulek je patrné, že průměrné množství Chlorofylu *a* a karotenoidů obsažené v listech se v obdobích měření v červnu a v září příliš nemění. Toto neplatí u obsahu Chlorofylu *b*, kdy se měření v rámci června a září oproti Chlorofylu *a* a karotenoidům výrazněji liší. Toto tvrzení jsem se rozhodl ověřit pomocí následujících párových T-testů.

Testovací nulovou hypotézou bylo, že mezi jednotlivými obdobími není rozdíl a výsledky jsou si velmi blízké. Výsledky testu jsou v následujících tabulkách Tabulka 5, Tabulka 7 a Tabulka 9. Výsledky jsou doplněny o krabicové grafy znázorňující průměrnou hodnotu pigmentu a střední chybu měření Graf 1, Graf 2 a Graf 3.

V Tabulce 4 jsou znázorněny průměrné hodnoty pro výšku a tloušťku se směrodatnými odchylkami.

### 5.1.1. Chlorofyl *a*:

Tabulka 5: T-test chlorofyl *a*

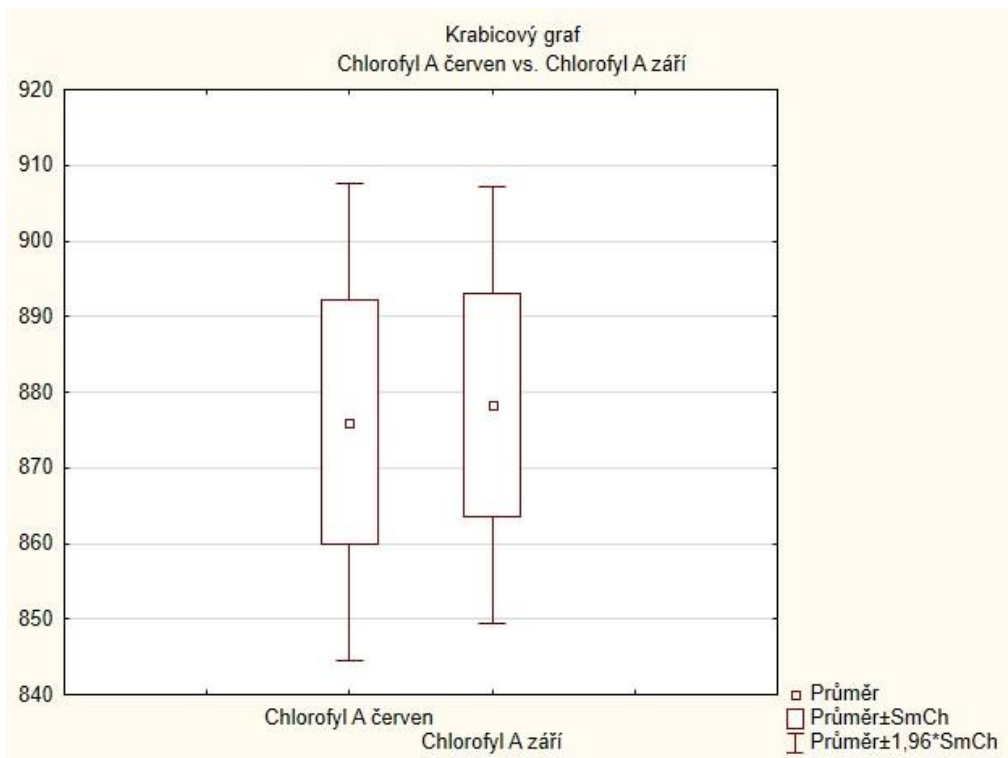
Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu		
chlorofyl <i>a</i>		
	Červen	Září
Střední hodnota	876,0544	878,2742
Rozptyl	33698,03	28152,48
Pozorování	130	130
Pears. korelace	<b>0,317461</b>	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	129	
t Stat	-0,12307	
P(T<=t) (1)	0,451123	
t krit (1)	1,656752	
P(T<=t) (2)	<b>0,902246</b>	
t krit (2)	1,978524	

V předešlé Tabulce 5 vidíme, že *p* hodnota pro zamítnutí nulové hypotézy je rovna **0,902246**, a tudíž zde nelze nulovou hypotézu (o rovnosti obou průměrů) zamítnout. Podobnost dat nám zobrazuje i Graf 1. Dále si všimněme korelačního koeficientu **0,317461**, který nám naznačuje, že mezi hodnotami měření v červnu a září je slabá kladná korelace. Korelaci lze dále vizualizovat v Grafu 2.

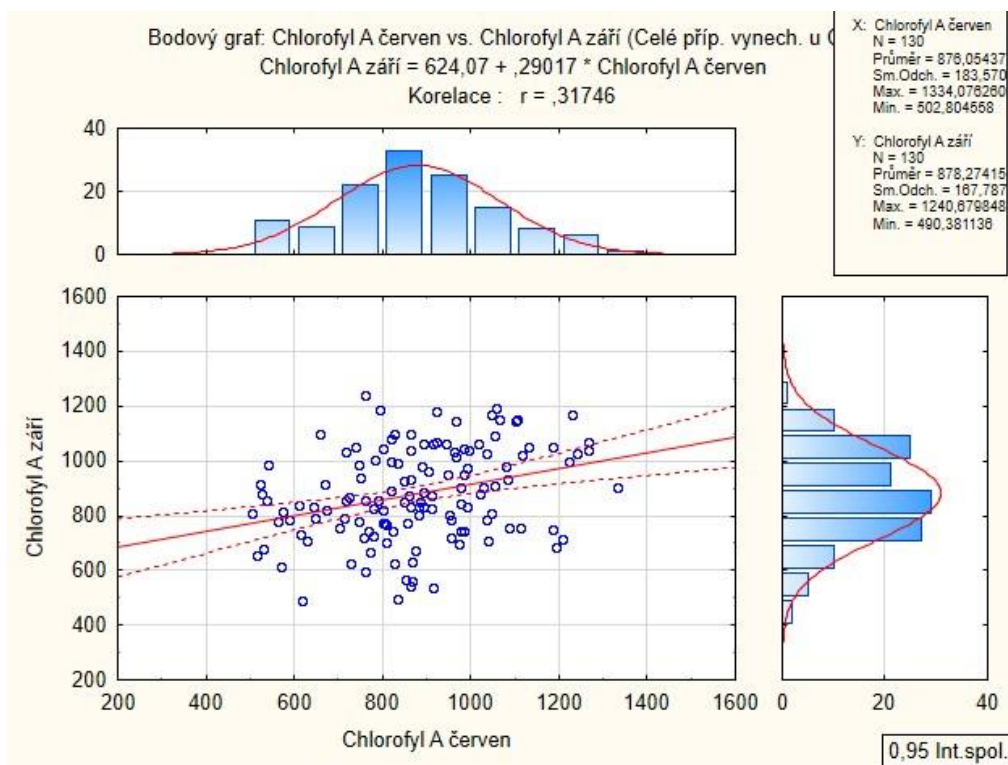
V Tabulce 6 jsou hodnoty provedené korelace mezi pigmenty chlorofylu *a* s tloušťkou a výškou jedinců měřených na ploše. Hodnoty jsou velmi nízké a kladné, můžeme tedy mluvit o velmi slabé pozitivní korelaci. Co se týče hladiny významnosti opět platí  $p > 0,05$ , což nám značí signifikatnost výsledku.

Tabulka 6: Korelace chlorofyl *a* s výškou a tloušťkou

Červen		Září	
Korelace chl_ <i>a</i> x H	Korelace chl_ <i>a</i> x DBH	Korelace chl_ <i>a</i> x H	Korelace chl_ <i>a</i> x DBH
0,143916281	0,131459387	0,080755958	0,179186818



Graf 1: Chlorofyl a se střední chybou



Graf 2: Korelace chlorofyl a

### 5.1.2. Chlorofyl *b*:

Tabulka 7: T-test chlorofyl *b*

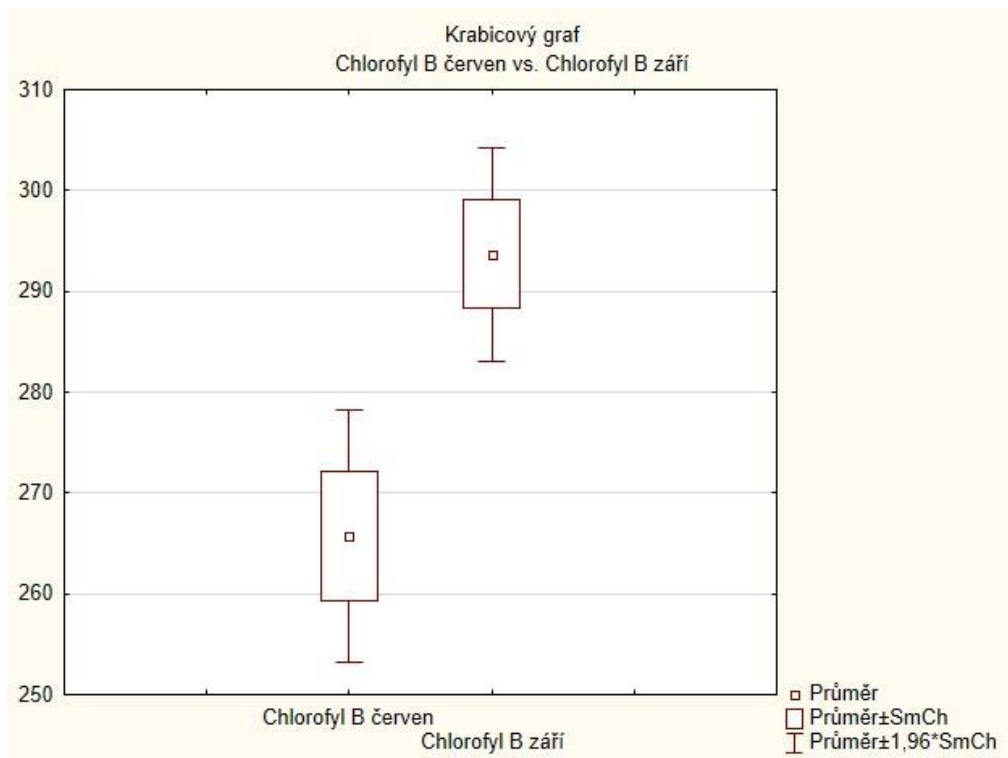
Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu		
<b>chlorofyl <i>b</i></b>	<b>Červen</b>	<b>Září</b>
Střední hodnota	265,7427	293,6949
Rozptyl	5321,083	3811,366
Pozorování	130	130
Pears. korelace	<b>0,335208</b>	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	129	
t Stat	-4,07614	
P(T<=t) (1)	0,00003977	
t krit (1)	1,656752	
P(T<=t) (2)	<b>0,00007955</b>	
t krit (2)	1,978524	

Z Tabulky 7 lze vyčíst, že hodnota  $p$  se zde rovná **0,00007955** ( $p > 0,05$ ) a, tudíž zde lze nulovou hypotézu (o rovnosti obou průměrů) zamítnout. Rozdílnost hodnot je znázorněna v Grafu 3. Dále v tabulce nalezneme korelační koeficient, který je rovný **0,335208**, což opět značí slabou kladnou korelaci. Korelaci Chlorofylu *b* za červen a září můžeme dále vidět na Grafu 4.

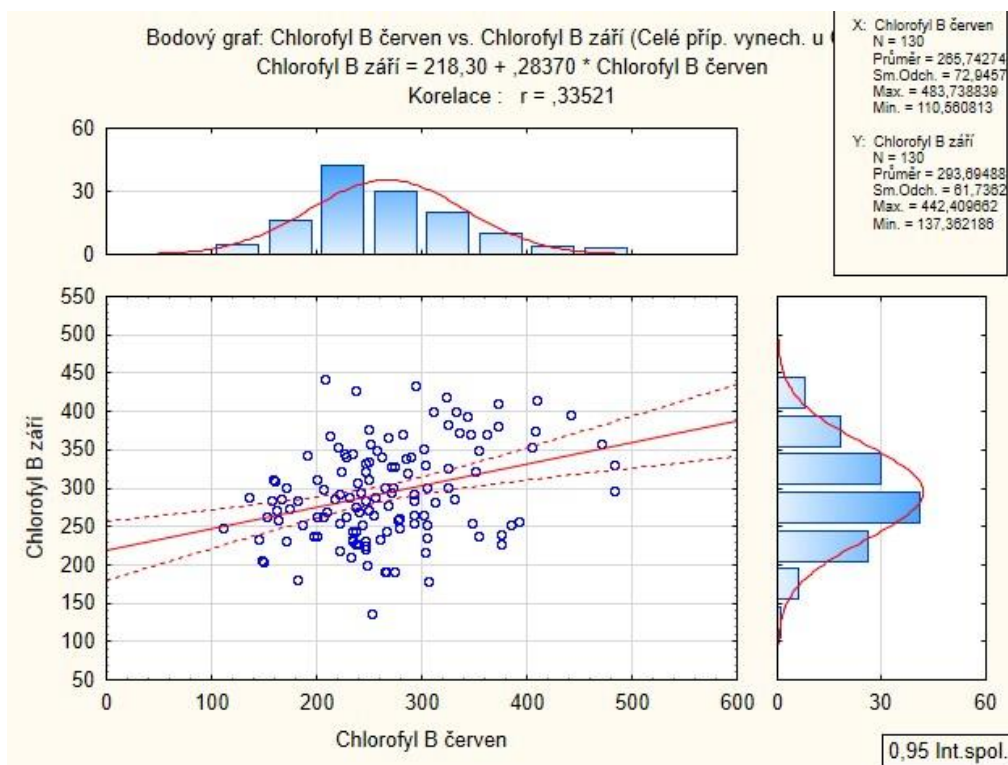
V Tabulce 8 jsou výsledky počítané korelace mezi pigmenty chlorofylu *b* s tloušťkou a výškou sledovaných jedinců za měsíce červen a září. Hodnoty nabývají podobných hodnot jako u chlorofylu *a* a stejně tak v tomto případě můžeme mluvit o velmi slabé pozitivní korelaci. Stejně jako u chlorofylu *a* platí, že se hodnota nachází na hladině významnosti  $p < 0,05$ .

Tabulka 8: Korelace chlorofylu *b* s výškou a tloušťkou

Červen		Září	
Korelace Chl_b x H	Korelace Chl_b x DBH	Korelace Chl_b x H	Korelace Chl_b x DBH
0,156007897	0,125019806	0,093560741	0,180464176



Graf 3: Chlorofyl b se střední chybou



Graf 4 : Korelace chlorofyl b

### 5.1.3. Karotenoidy:

Tabulka 9: T-test karotenoidy

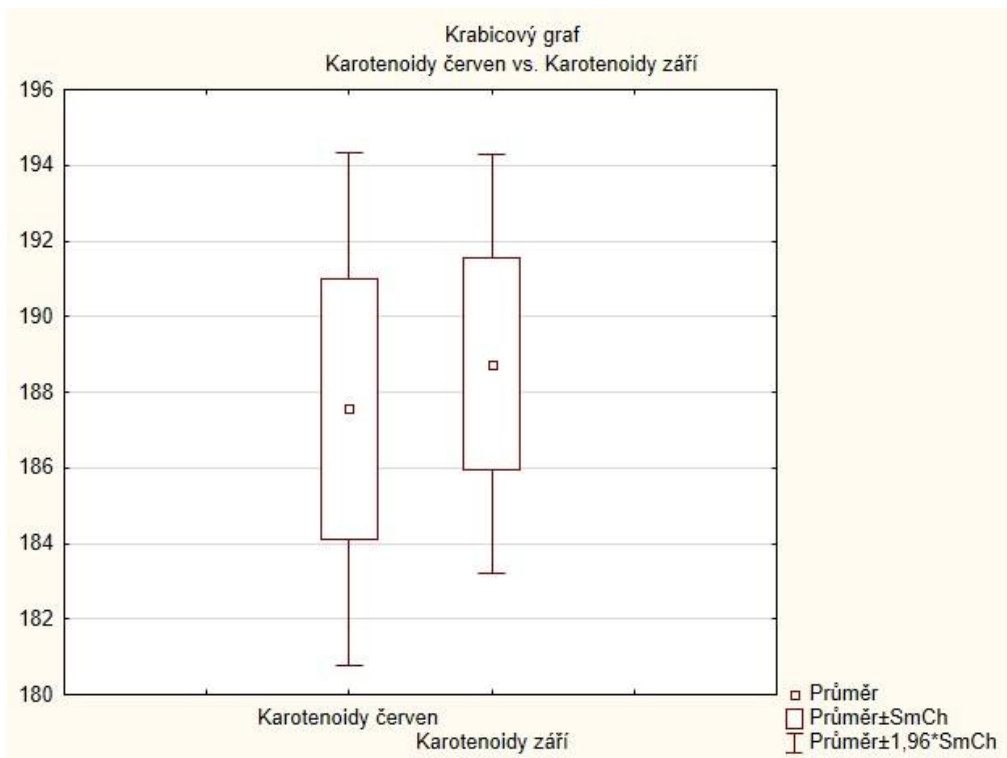
Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu		
karotenoidy	Červen	Září
Střední hodnota	187,5605	188,7485
Rozptyl	1550,568	1032,577
Pozorování	130	130
Pears. korelace	<b>0,264138</b>	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	129	
t Stat	-0,30955	
P(T<=t) (1)	0,378702	
t krit (1)	1,656752	
P(T<=t) (2)	<b>0,757404</b>	
t krit (2)	1,978524	

V předešlé Tabulce 9 vidíme, že hodnota p je rovna **0,757404**, kdy opět platí, že  $p > 0,05$  a z tohoto důvodu nelze nulovou hypotézu zamítnout. Podobnost dat je znázorněna v Grafu 5. U karotenoidů vyšel korelační koeficient **0,264138**, což vypovídá o slabé kladné korelaci. Korelace karotenoidů za červen a září je znázorněna v Grafu 6.

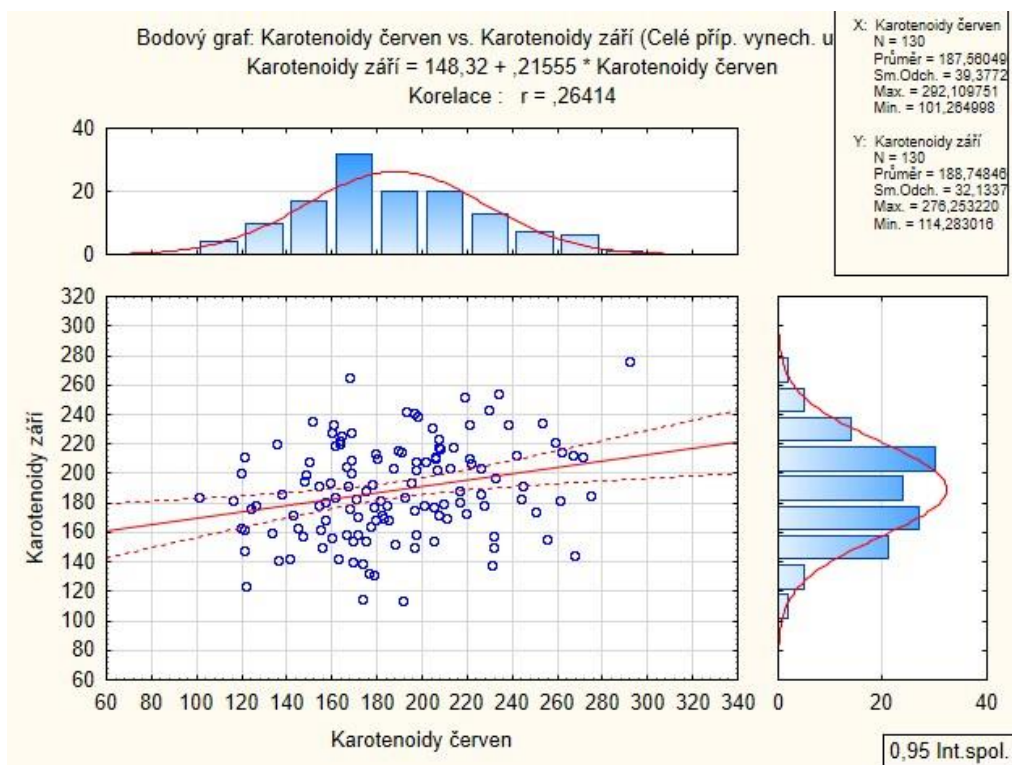
V Tabulce 10 je vypočítána korelace pro karotenoidy s tloušťkou a výškou za měsíce červen a září. Stejně jako v případě chlorofylu *a* a chlorofylu *b* jsou si výsledné hodnoty p podobné. Korelace vychází jako velmi slabá pozitivní.

Tabulka 10: Korelace karotenoidy s výškou a tloušťkou

Červen		Září	
Korelace car x H	Korelace car x DBH	Korelace car x H	Korelace car x DBH
0,167137621	0,154459304	0,111422471	0,195616459



Graf 5: Karotenoidy se střední chybou

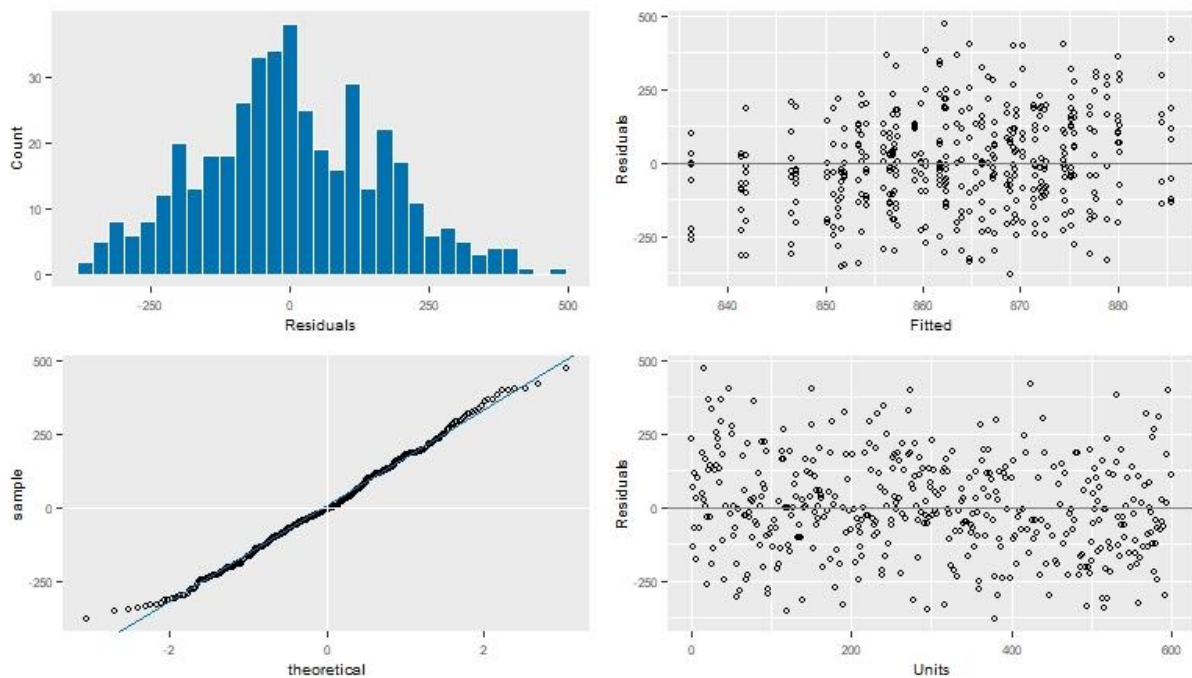


Graf 6: Korelace karotenoidy



## 5.2. ASReml:

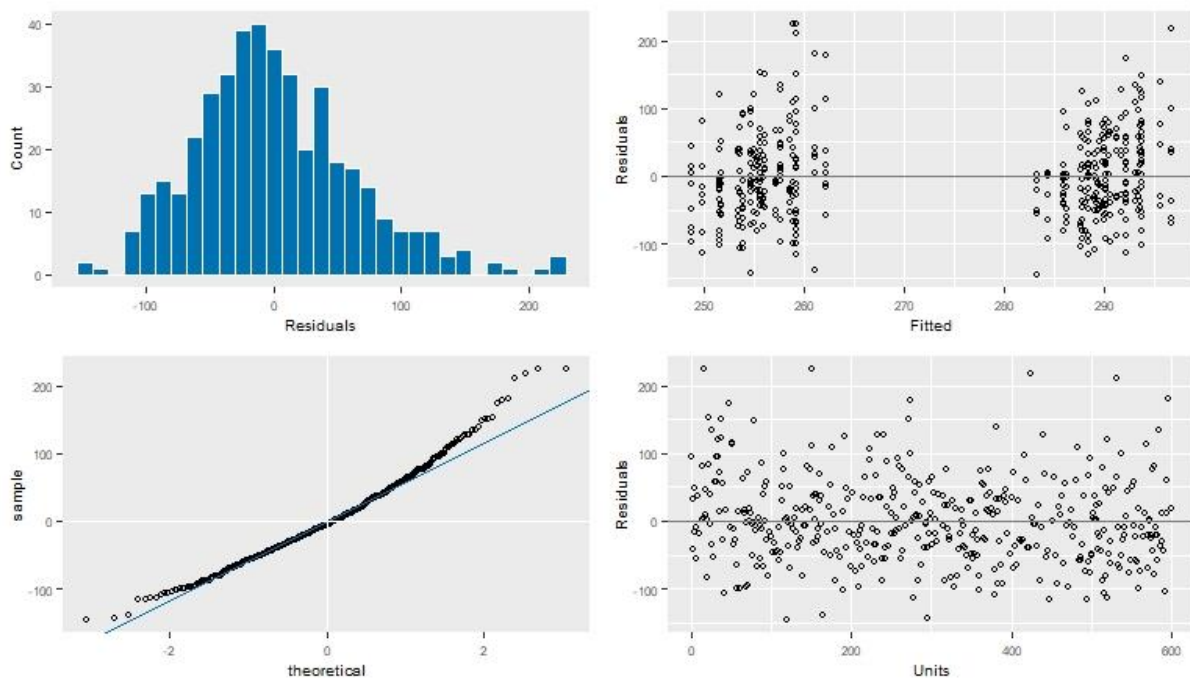
### 5.2.1. Chlorofyl *a*



Obrázek 5: Graf pro chlorofyl *a* v ASReml

Na Obrázku 5 vidíme první diagnostiku smíšeného lineárního modelu, který konvergoval v rámci software ASReml. Vlevo nahoře je potvrzeno, že naměřené hodnoty chlorofylu *a* mají normální rozdělení a můžeme s nimi dál pracovat v rámci parametrické statistiky. Vpravo nahoře je zobrazena distribuce residuí dat z měření za červen i září. Zde můžeme vidět, že data jsou rozprostřená po celé ploše, což potvrzuje že data jsou v lineární závislosti a naznačuje to také homogenitu rozptylu. Vlevo dole najdeme tzv. QQ plot, který se využívá především pro nalezení a odstranění možných outliers v rámci měření – v tomto případě k těmto krokům není nutné přikročit, jelikož všechny body jsou víceméně podél přímky.

## 5.2.2. Chlorofyl *b*



Obrázek 6: Graf pro chlorofyl *b* v ASReml

Obrázek 6 popisuje výsledky výpočtu hodnot za červen a září pro chlorofyl *b*. Vlevo nahoře je opět vidět, že hodnoty mají normální rozdělení. Na levém horním grafu je vidět že jednotlivé hodnoty naměřené pro chlorofyl *b* v červnu a září nejsou jako v minulém případě „promíchány“ mezi sebou, což potvrzuje hypotézu T-testu pro chlorofyl *b*, kdy jsme v předešlé kapitole 6.1.2 vyvrátili, že hodnoty jsou si vzájemně podobné.

```
> wald.asreml(model.csm)
Wald tests for fixed effects.
Response: chl_b
Terms added sequentially; adjusted for those above.

              Df Sum of Sq wald statistic Pr(Chisq)
(Intercept)   1    5772.3      5772.3 < 2.2e-16 ***
month         1     38.7       38.7 4.876e-10 ***
residual (MS) 1.0

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> |
```

Obrázek 7: Wald modifikovaná *F* statistika z programu ASReml

Na Obrázku 7 vidíme obdobu analýzy rozptyly v rámci tzv. Wald modifikované *F* statistiky, kterou standardně reportuje ASReml. *P* hodnota pro faktor month/měsíc je velice nízká. Tudíž víme, že právě v případě chlorofylu *b* je měsíc významným fixním faktorem tohoto modelu – tudíž průměry obou měsíců jsou statisticky významně odlišné.

```

> summary(model.csm)
$call
asreml(fixed = chl_b ~ month, random = ~mum, residual = ~id(ID):corv(month),
      data = data)

$loglik
[1] -1965.249

$nedf
[1] 422

$sigma
[1] 1

$varcomp
      component      std.error      z.ratio bound %ch
mum      65.7386306  111.74130466  0.5883109    P    0
ID:month!R      1.0000000           NA           NA    F    0
ID:month!month!cor  0.2932762   0.07792838  3.7634069    U    0
ID:month!month!var 4038.2394387  299.86474821 13.4668695    P    0

$bic
[1] 3948.633
attr(,"parameters")
[1] 3

$aic
[1] 3936.498
attr(,"parameters")
[1] 3

attr(,"class")
[1] "summary.asreml"
>

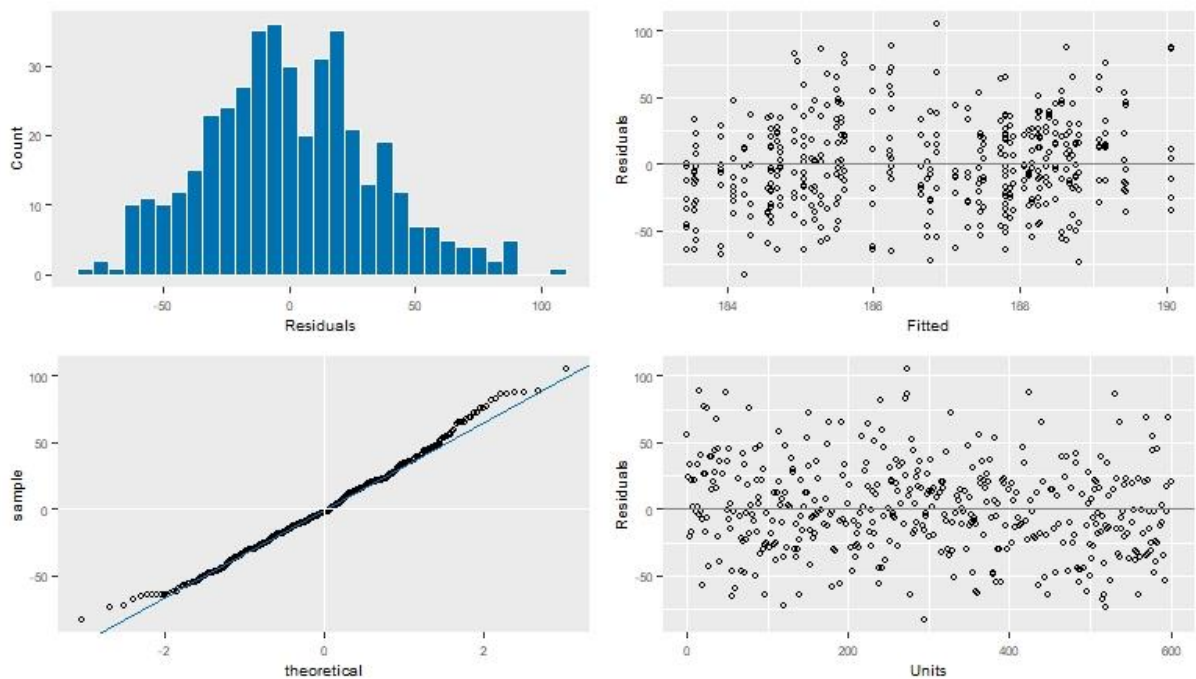
```

Obrázek 8: Souhrn modelu pro chlorofyl *b* z programu ASReml

Na Obrázku 8 vidíme souhrn modelu pro chlorofyl *b*. Zásadní informace z hlediska genetiky nalezneme v tabulce varcomp (komponenty rozptylu), kde je celkový rozptyl měření rozložen na jednotlivé příčinné složky. V řádku mum vidíme aditivní genetický rozptyl pro náhodný faktor matky (rodičovský strom, z něhož bylo získáno osivo). V třetím řádku pak vidíme korelaci reziduí mezi dvěma sledovanými měsíci – toto je správný způsob, jak ve statistické analýze zohlednit, že jsme sbírali vzorky opakovaně ze stejných jedinců na ploše. Korelace je poměrně výrazná a pozitivní a relativně nízkou chybou odhadu. Toto se však nedá říci o aditivním genetickém rozptylu (komponenta mum), který je naopak pod hranicí významnosti.

Můžeme usuzovat, že pro signifikantní odhad aditivního genetického rozptylu a následně heritability bychom museli výrazně navýšit velikost vzorku (kvalifikovaný odhad je 200 jedinců navíc). Víceméně ekvivalentní souhrny bychom mohli zobrazit pro oba další měřené pigmenty.

### 5.2.3. Karotenoidy



Obrázek 9: Graf pro karotenoidy v ASReml

Obrázek 7 nám popisuje výsledky programu ASReml pro karotenoidy. Vlevo nahoře je potvrzeno že rozdělení naměřených dat pro karotenoidy můžeme považovat za rozdělení normální. V pravé horní části obrázku je vidět, že data lineární regrese pigmentů jsou „promíchána“ což nám potvrzuje že data jsou si podobná, což nám potvrzuje hypotézu z T-testu v kapitole 6.1.3., ve které nám také vyšlo že data jsou si vzájemně podobná.

#### 5.2.4. Genetická korelace pigmentů s růstovými parametry:

```
> summary(mv.cor)$varcomp
              component      std.error  z.ratio bound %ch
trait:mum!trait!DBH:!trait!chl_b.cor  0.3945657  0.37380766  1.055531  U  0
trait:mum!trait_chl_b                151.1089792 122.07611542  1.237826  P  0
trait:mum!trait_DBH                   3.8346604  1.49100189  2.571868  P  0
units:trait!R                          1.0000000      NA      NA      F  0
units:trait!trait!DBH:!trait!chl_b.cor  0.1301533  0.05045715  2.579483  U  0
units:trait!trait_chl_b                4289.1218538 306.45968993 13.995713  P  0
units:trait!trait_DBH                   37.3314445  2.29094180 16.295239  P  0
> #redukovaný model pro ověření signifikance korelace mezi znaky
> mv.corred<-asreml(fixed=cbind(chl_b,DBH)~trait,
+                  #random=~corgh(trait):id(mum),
+                  residual=~id(units):corgh(trait),
+                  data=data)#[data$month==6,])
```

Obrázek 10: Redukovaný model pro signifikaci korelace pigmentů a tloušťky

Na Obrázku 10 vidíme odhady pro genetickou korelaci mezi fotosyntetickými pigmenty a růstovými parametry. V prvním řádku vidíme korelaci, která je zde také poměrně výrazná s relativně nízkou chybou. Z těchto výsledků lze odvodit, že se zde nachází genetická korelace mezi fotosyntetickými pigmenty a růstovým parametrem. U zbylých pigmentů dosáhl program ASReml velmi podobných odhadů.

```
> lrt(mv.corred,mv.cor,boundary=TRUE)
Likelihood ratio test(s) assuming nested random models.
(See Self & Liang, 1987)

              df LR-statistic Pr(Chisq)
mv.cor/mv.corred  3          23.658 6.847e-06 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> |
```

Obrázek 11: LRT test pro pigmenty a růstové parametry

Na Obrázku 11 vidíme LRT test, který nám porovnává odhadnuté hodnoty z minulého měření pomocí chí testu a říká nám v pátém řádku výslednou hodnotu chí testu, která nám potvrzuje, že tvrzení o genetické korelaci v předešlém odstavci je pravdivé.

#### 5.3. Heritabilita a šlechtitelská hodnota:

V případě odhadu heritability v užším smyslu a z ní vycházejícímu odhadu šlechtitelských hodnot jedinců, byly odhadnuty velmi nízké hodnoty. Tyto hodnoty vypovídali, že se zde nachází do budoucna možnost využití těchto jedinců, avšak pro tuto práci jsou tyto odhadnuté hodnoty statisticky nevýznamné.

## 6. Diskuse

### 6.1. Statistické analýzy:

Na začátku diskuse shrnu výsledné hodnoty obsahu pigmentů. Průměrná hodnota chlorofylu *a* za měsíc červen je 876,054 mg pigmentu na g jehlic, kdežto v září je již 878,274 mg pigmentu na g jehlic.

Průměrná hodnota chlorofylu *b* byla za červen 265,743 mg pigmentu na g jehlic a v září se zvýšila na 293,695 mg pigmentu na g jehlic.

Průměrná hodnota karotenoidů v jehlicích byla v červnu 187,560 mg pigmentu na g jehlic a v září byla 188,748 mg pigmentu na g jehlic.

Průměrná výška jedinců byla 269,23 cm s odchylkou 36,46 cm a průměrná tloušťka jedinců byla 28,07 mm s odchylkou 7,17 cm. Tyto hodnoty jsou s odstupem času velmi podobné s těmi, co uváděla (KUBCOVÁ, 2019).

Z průměrných hodnot z období června a září lze usuzovat, že v září mají jedinci více fotosyntetických pigmentů. Tyto hodnoty jsou však relativně velmi blízké. Největší rozdíl v obsahu mezi oběma měsíci je u chlorofylu *b*. Tento jev může být způsoben blížícím se koncem vegetačního období a s tím souvisejícím ubytkem chlorofylu.

Toto může být pravděpodobně způsobeno tím, že právě chlorofyl *b* je produktem řízené oxidace chlorofylu *a* a s většinou ostatních molekul chlorofylu *a* působí ve fotosyntetickém aparátu, jako usměrňovač fotonů. Tyto propojené chlorofylové systémy chlorofylu *b* a ostatních molekul chlorofylu *a* tvoří světlosběrné komplexy (LHC – Light Harvesting Complex) a dále je posílají na specifické páry chlorofylu *a*, který je dále zpracovává. Tento děj zvyšuje záchyt světla a tak využití celého fotosystému (TOMÁŠKOVÁ, a další, 2016).

Druhým důvodem může být senescence jehlic. Například KOVÁČ (2013) uvádí, že listy s vysokým obsahem chlorofylu mají nižší reflektanci v červeném maximu absorpce chlorofylu *a*, které je okolo 678 nm a v absorpčním spektru 400–480 nm, kde se nachází chlorofyly i karotenoidy. V průběhu senescence, kdy se odbourávají chlorofyly se zvyšuje spektrum reflektance a tím se objevují i další absorpční pásy chlorofylu *a* (okolo 590 a 625nm) a chlorofylu *b* (655 nm).

Měření fluorescence chlorofylu nám také poskytuje aktuální informace o poklesu či vzrůstu aktivity fotosyntetického aparátu. Fluorescenci tedy lze také použít pro monitorování a detekci stresu rostliny, jsou-li hodnoty fluorescence vysoké, rostlina trpí stresem a více světla odráží, nežli přijímá, tudíž intenzita fotosyntézy je nižší. Jsou-li hodnoty fluorescence vyšší, rostlina na stres netrpí, a tudíž je i vyšší intenzita fotosyntézy. Fluorescence není stálým a dlouhodobým parametrem, svou hodnotu mění v čase a závisí na fotosyntetických a teplotních procesech (MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ, 2015).

U rostlin se má za to, že tento způsob sledování, má vzhledem ke změnám klimatu, do budoucna velký potenciál, a to hlavně z důvodu, protože parametry ChlF velmi často dobře koreluje s odolností rostlin vůči různým stresům (FIORANI, a další, 2013; FAHLGREN, a další, 2015).

Jako vhodné parametry detekce stresu se jeví schopnost odrazivosti listu a fluorescence. Výhodou těchto nepřímých měření je jejich citlivost, časová nenáročnost a také že jsou tyto metody neinvazivní a je tu možnost využití metod dálkového průzkumu země (ŠAFRÁNKOVÁ, 2016).

Co se týče odhadu fenotypové korelace růstových a fotosyntetických pigmentů, jak uvádí tabulky, č. 6, 8 a 10, vychází hodnoty korelace pro fotosyntetické pigmenty a výšku v rozmezí 0,08 až 0,18, kdy platí, že hodnoty korelace jsou vždy vyšší za měsíc červen. Pro korelaci fotosyntetických pigmentů a tloušťku se hodnoty nachází v rozmezí 0,12 až 0,19 a zde jsou hodnoty korelace vyšší naopak pro měsíc září. Vzhledem k hodnotám v rozmezí 0,08 až 0,19, lze mluvit o velmi slabé korelaci, lze tedy usoudit, že jsem nenašel statisticky významný vztah mezi těmito veličinami.

Podobné tvrzení uvádí také ACKERLY, a další (2000), který uvádí, že vlastnosti ovlivňující asimilaci a využívání zdrojů jako je uhlík, voda, a živiny ovlivňují schopnost růstu rostlin.

## 6.2. ASReml a genetická korelace pigmentů s růstovými parametry:

Pokud budeme sledovat odhady genetické korelace fotosyntetických pigmentů a růstových parametrů, najdeme zde již vyšší odhady korelace v rozmezí 0,30 až 0,39, kdy můžeme již mluvit o slabé korelaci, která je však velmi blízko hranici střední pozitivní korelace. Je zajímavé, že v odhadech programu ASReml byla zjištěna vyšší korelace výčetní tloušťky s fotosyntetickými pigmenty, než tomu bylo u korelace výšky a fotosyntetických pigmentů. Zajímavý je pro nás především chlorofyl *b*, který nám vyšel významně rozdílně v červnu a září.

U tohoto pigmentu vychází komponenta pro aditivní genetický rozptyl z náhodného faktoru matky, jak znázorňuje Obrázek 8, 65,74 se standartní chybou 111,74, což je velmi vysoká hodnota. Korelace mezi měsíci vychází na 0,29 a standartní chybou 0,078, což můžeme považovat za velmi významnou korelaci s relativně nízkou, což nelze říci o aditivním genetickém rozptylu s matkou, která se nachází na hranici významnosti.

Například ČEPL, a další (2016) uvádí, že zbytková variance ve fotosyntéze je dle jeho hypotézy selektivně neutrální. Avšak také uvádí, že porovnává pouze dva růstové znaky (výšku a tloušťku) s fotosyntetickými pigmenty v podmínkách, kde stromy nebyly stresovány a pro vyhodnocení fitness jedinců by bylo třeba sledovat i životaschopnost, plodnost, klíčení anebo odolnost jedince proti abiotickému stresu.

FALCONER, a další (1996) uvádí, že znaky spojené s kondicí jedince vykazují nízkou heritabilitu z důvodu snížení genetické variability přirozeným výběrem těchto vlastností, zatímco vlastnosti, které jsou méně spojené s kondicí jedince mohou vykazovat vyšší genetickou variabilitu a tím mít i vyšší dědičnost .

Dále ČEPL a další (2016) uvádí, že odhad koeficientu vybraných parametrů ChlF společně s vybranými růstovými parametry neodhalil statisticky významnou korelaci jakéhokoliv parametru ChlF s výškou nebo s tloušťkou.

V práci ACKERLY, a další (2000) uvádí, že experimenty v kontrolovaných podmínkách, kde je minimální vliv prostředí a stresu má do budoucna zásadní význam pro odhalení fyziologických rozdílů mezi genotypy.

### 6.3. Heritabilita a šlechtitelská hodnota:

Při odhadu heritability v užším smyslu a z ní vycházejícímu odhadu šlechtitelských hodnot nebylo pro tuto práci dosaženo statisticky významných hodnot, a proto nejsou tyto hodnoty v této práci uvedeny.

Například ČEPL, a další (2018) prezentoval odhady vlnových pásem po 1 nm v rozmezí 400 až 2500 nm a také shledal, že reflektance v oblasti viditelného elektromagnetického spektra byly spíše nízké a statisticky nevýznamné. Výjimkou bylo zelené spektrum viditelného záření (524 až 578 nm). Dále odhady heritability ve spektru vyšší než 683 nm, což je vlnová délka odpovídá červené barvě, vyšli jako statisticky významné. Nevyšších hodnot odhadu bylo nabyto na vlnové délce 722 nm, která je na hraně červeného barevného spektra. Hodnoty ve spektru NIR (750 až 1400 nm) a SWIR (od 1400 nm) byly vyhodnoceny, jako vyšší hodnoty než ve viditelném spektru, avšak nedosáhli hodnot spektra odpovídajícího červené barvě.



Podobných výsledků dosáhl GARCÍA-VERDINGO, a další (2010), který sledoval fenotypové exprese osluněných listů olivovníku evropského (*Olea europaea*) subsp. *guanchica*, na Kanárských ostrovech, kde je tento strom endemickým druhem. Kdy potvrdil, že vzorce fenotypové a genetické variance mezi morfofunkčními a fyziologickými znaky jsou kontrastní, avšak s velmi nízkými odhady heritability.

Dále vystává otázka, zda není v mém případě stále ještě příliš brzy pro hodnocení šlechtitelsky významných jedinců. Jedinci, kteří byli v této práci vyhodnocováni mají věk 8 let.

Jak uvádí GUNNAR (2013) optimální věk pro hodnocení šlechtitelsky významných jedinců je mezi 10 a 15 lety, kdy jedinci dosahují výšky 3 až 5 m. Věk dále záleží na místě, kde se jedinci nachází, pokud se jedná o chladnější severské polohy optimální věk výběru nastává vlivem podnebí později. Pokud se jedná o jižnější provenience, tak vhodný věk pro určení šlechtitelsky vhodných jedinců díky rychlejšímu růstu nastává dříve. Optimální věk pro výběr vhodných jedinců se tedy mění v závislosti na nadmořské výšce a podnebí, kde se jedinci vyvíjejí.

Otázkou je, zda není potřeba, pro více vypovídající výsledky genetického rozptylu a následný odhad heritability, potřebné navýšit počty sledovaných jedinců (kvalifikovaný odhad je zhruba 200 dalších jedinců).

Tento výzkum je stále na počátku a bude potřeba dalších měření a zkoumání, aby mohl být opravdu uchopitelný v praxi.

## 7. Závěr:

Cílem této práce bylo zjistit pomocí laboratorních testů obsahy fotosyntetický pigmentů v jehlicích jedinců borovice lesní (*Pinus sylvestris*) vzešlých z polosesterských potomstev, které rostou na pozemcích pod správou Vojenských lesů a statků ČR s.p. divize Mimoň. Dále byly pomocí popisné statistiky zjištěny korelace a závislosti mezi pigmenty a různými růstovými parametry jedinců v opakovaných měřeních v červnu a září. V rámci těchto testů bylo potvrzeno, že existují genetické korelace mezi fotosyntetickými pigmenty a růstovými znaky. Přestože jejich hodnoty heritability a šlechtitelské hodnoty byly nízké, lze s těmito metodami do budoucna počítat jako s jednou z možností pro výběr šlechtitelsky vhodných jedinců.

Pomocí programu ASReml bylo provedeno lineární modelování, ve kterém byly zjištěny hodnoty genetické a fenotypové korelace, heritability v užším smyslu a posouzena genetická variabilita měřených parametrů. Avšak hodnoty byly velmi nízké, tudíž nenabývají dostatečné statistické významnosti, a proto nebyly tyto výsledky v této práci zveřejněny.

Nicméně toto testování je stále na svém počátku a týká se zatím mladých jedinců na hranici věku pro výběr šlechtitelsky významných jedinců. Pro další zpřesnění a pochopení dějů a souvislostí ohledně fotosyntetických pigmentů bude potřeba dalších studií se stejným zaměřením, aby bylo tyto výsledky možno použít pro výběr šlechtitelsky vhodných jedinců.

## 8. Citovaná literatura

**ACKERLY, David, D., a další. 2000.** The Evolution of Plant Ecophysiological Traits: Recent Advances and Future Directions: New research addresses natural selection, genetic constraints, and the adaptive evolution of plant ecophysiological traits. *BioScience*. 2000, Sv. 50, 11, stránky 979-995.

**ANDERSSON, Eric W. 1999.** *Gain and diversity in multi-generation breeding programs*. Umeå : Swedish Universtiy of Agricultural Sciences, 1999. ISBN 91-576-5629-0.

**BURGUEÑO, J, a další. 2000.** *User's guide for spatial analysis of field variety trials using ASREML*. Mexico : CYMMYT, 2000. str. 54. 9706480609.

**CARLISLE, A. a BROWN, A. H. F. 1968.** *Pinus sylvestis*. *Journal of Ecology*. 1968, Sv. 56, 1, stránky 269-307.

**ČEPL, Jaroslav, a další. 2016.** Genetic variability and heritability of chlorophyll a fluorescence. *Tree Physiology*. 2016, Sv. 36, stránky 883–895.

**ČEPL, Jaroslav, a další. 2018.** Heritable variation in needle spectral reflectance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) peaks in red edge. *Remote Sensing of Environment*. 2018, Sv. 219, 15.

**ČESKÁ GEOLOGICKÁ SLUŽBA. 2020.** Česká geologická služba. *Geovědní mapy 1 : 500 000*. [Online] Resort životního prostředí, 2020. [Citace: 05. Březen 2020.] <https://mapy.geology.cz/geocr500/?center=-706900%2C-978800%2C102067&level=6>.

**ČESKÝ HYDROMETEOROLOGICKÝ ÚSTAV.** Český hydrometeorologický ústav. *Územní srážky v roce 2019*. [Online] Český hydrometeorologický ústav. [Citace: 07. Březen 2020.] <http://portal.chmi.cz/historicka-data/pocasi/uzemni-srazky#>.

**ČEŠKA, Pavel. 2014.** *Zakládání a rozvoj semenných sadů lesních dřevin u VLS ČR, s.p.* Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin, Fakulta lesnická a dřevařská. Praha : Česká Zemědělská univerzita, 2014. Disertační práce.

**DANČÁKOVÁ, Hana. 2008.** Přírozená obnova borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) na hospodářském souboru 13 (přírozená borová stanoviště) u VLS ČR s.p., Divize Mimoň. *Přírozené zmlazování borovice lesní*. 2008, stránky 4-9.

**DEJMAL, Aleš. 2012.** *Šlechtění a genetické modifikace*. Lesnická a dřevařská fakulta. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2012. Prezentace.

**DEMMING-ADAMS, Barbara a ADAMS, William W. 1996.** The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science*. 1996, Sv. 1, stránky 20-26.

**EL-KASSABY, Yousry A. a LSTIBŮREK, Milan. 2009.** Breeding without Breeding. *Genetics Research*. 2009, Sv. 91, 2, stránky 111-120.

**EL-KASSABY, Yousry A. 1995.** Evaluation of the tree-improvement delivery system: factors affecting. *Tree Physiology*. 1995, Sv. 15, stránky 545-550.

**ERRIKSSON, Gösta, EKBERG, Inger a CLAPMAN, David. 2013.** *Genetics Applied to Forestry*. 3. Uppsala : Department of Plant Biology and Forest, 2013. ISBN 978-91-576-9187--3.

**FAHLGREN, Noah, GEHAN, MALIA, A. a BAXTER, Ivan. 2015.** Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. *Current opinion on plant biology*. 2015, Sv. 24, stránky 93-99.

**FALCONER, Douglas, S. a MACKAY, Trudy, F., C. 1996.** *Introduction to Quantitative Genetics*. 4. London : Longman, 1996. str. 339.

**FIORANI, Fabio a SCHURR, Ulrich. 2013.** Future Scenarios for Plant Phenotyping. *Annu Rev Plant Biol*. 2013, Sv. 64, stránky 267-291.

**GARCÍA-VERDUNGO, C., a další. 2010.** Contrasting patterns of morphological and physiological. *Oecologia*. 2010, Sv. 164, stránky 647-655.

**GÖMÖRY, Dušan, PAULE, Ladislav a LONAGUER, Roman. 2010.** *Genetika a šľachtenie lesných drevín Návodý na cvičenia*. Zvolen : Technická univerzita vo Zvolene, 2010.

**GUNNAR, Jansson, BAILIAN, Li a BJÖRN, Hannrup. 2003.** Time Trends in Genetic Parameters for. *Forest Science*. 2003, Sv. 49, 5.

**CHANGÉ, D., a další. 2004.** Cross-species transferability and mapping of genomic and cDNA SSRs in pines. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004, Sv. 109, stránky 1204-1214.

**IVANEK, Ondřej, a další. 2009.** *Zakládání semenných sadů druhé generace pro borovici lesní*. Strnady : Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v.v.i., 2009.

**KAŇÁK, Jan. 2011.** *Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní v západních a jižních Čechách*. Fakulta lesnická dřevařská. Praha : Česká zemědělská univerzita, 2011. Disertační práce.

**KAŇÁK, Jan, a další. 2008.** *Metodika zakládání semenných sadů*. Strnady : Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v.v.i., 2008.

**KLOUDA, Pavel. 2003.** *Moderní analytické metody*. Ostrava : autor neznámý, 2003. ISBN 80-86369-07-2.

**KOBLIHA, J. a LSTIBŮREK, M. 2006.** Význam semenných sadů jako produkčních populací lesních dřevin. *Semenné sady jako zdroj kvalifikovaného reprodukčního materiálu*. 20.-21. 06 2006, stránky 61-69.

**KOBLIHA, Jaroslav a LSTIBŮREK, Milan, KLÁPŠTĚ, Jaroslav. 2007.** *Význam lesní genetiky a šlechtění ve vztahu ke kvalitě reprodukčního materiálu ve Švédsku a v ČR.* Strážnice : autor neznámý, 2007. stránky 18-19. Kvalita reprodukčního materiálu lesních dřevin: sborník příspěvků..

**KOVÁČ, Daniel. 2013.** *Prostorová analýza asimilace oxidu uhličitého v.* Ústav ekologie lesa, Lesnická a dřevařská fakulta. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2013. Disertační práce.

**KUBCOVÁ, Tereza. 2019.** *Hodnocení testovacích výsadeb potomstev borovice lesní.* Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin, Fakulta lesnická a dřevařská. Praha : Česká zemědělská univerzita v Praze, 2019. Diplomová práce.

**LICHTENTHALER, Hartmut K. 1987.** Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology.* 1987, Sv. 148, stránky 350-382.

**MACHOVÁ, Pavlína, a další. 2016.** Genetická variabilita vybraných populací borovice lesní v České republice. *Zpráva lesnického výzkumu.* 2016, Sv. 61, 3, stránky 223 - 229.

**MATÍAS, Luis a JUMP , Alistair S. 2012.** Interactions between growth, demography and biotic interactions in determining species range limits in a warming world: The case of *Pinus sylvestris*. *Forest Ecology and Management.* 2012, Sv. 282, stránky 10-22.

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ. 2015.** Hodnocení fyziologických parametrů okrasných dřevin. [Online] 2015. [Citace: 9. červen 2020.] [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/files/23/23-03\\_hodnoceni\\_fyziologickych\\_parametru\\_\\_icc\\_adobe\\_rgb.pdf](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/23/23-03_hodnoceni_fyziologickych_parametru__icc_adobe_rgb.pdf).

— . 2001. Pěstování lesa. *Pěstování v heslech.* [Online] Mendelova univerzita v Brně, 2001. [Citace: 24. únor 2020.] [https://ldf.mendelu.cz/uzpl/pestovani\\_v\\_heslech/vychodiska/dreviny/drev\\_bo.html](https://ldf.mendelu.cz/uzpl/pestovani_v_heslech/vychodiska/dreviny/drev_bo.html).

**MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ. 2019.** *Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2018.* Praha : Ministerstvo zemědělství, 2019. ISBN 978-80-7434-530-2.

**MUSIL, Ivan a HAMERNÍK, Jan. 2007.** *Jehličnaté dřeviny : přehled nahosemenných i výtrusných dřevin : lesnická dendrologie 1.* Praha : Academia, 2007. str. 352. ISBN 9788020015679.

**MUŽÍK, V. 2006.** Ložiska uranu ve Strážském bloku. Stráž pod Ralskem : MS s.p. Diamo, 2006, str. 78.

**NAMKOONG, Gene, KANG, Hyun Chung a BROUARD, J. S. 1988.** *Tree Breeding: Principles and Strategies.* New York : Springer-Verlag, 1988. 03-879-67478.

**OLSON, John M. a BLANKNSHIP, Robert E. 2004.** Thinking about the evolution of photosynthesis. *Photosynthesis Research*. 2004, Sv. 80, stránky 373-386.

**PAULE, Ladislav. 1992.** *Genetika a šľachtenie lesných drevín*. Bratislava : Príroda, 1992. ISBN 80-07-00409-2.

**PAVLOVÁ, Libuše. 2006.** *Fyziologie rostlin*. Praha : Karolinum, 2006. ISBN 8024609851.

**PERSSON, Bengt. 1994.** Effects of provenance transfer on survival in nine experimental series with *Pinus sylvestris* (L). In northern Sweden. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 1994, Sv. 4, 3, stránky 275-287.

**POLENO, Zdeněk, VACEK, Stanislav a kolektiv, a. 2009.** *Pěstování lesů III - Praktické postupy pěstování lesů*. Kostelec nad Černými lesy : Lesnická práce, 2009. str. 951. ISBN 978-80-87154-34-2.

**QUITT, Evžen. 1971.** *Klimatické oblasti Československa*. Brno : Geografický ústav ČSAV, 1971.

**RUOTSALAINEN, Seppo. 2004.** Increased forest production through forest tree breeding. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 2004, Sv. 24, 4, stránky 333-344.

**SLODIČÁK, Marian a NOVÁK, Jiří. 2007.** *Výchova lesních porostů*. Jíloviště : Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., 2007. stránky 25-26. Sv. 4. ISBN 978-80-86461-89-2.

**SORENSEN, Franc C. 1992.** Genetic variation and seed transfer guidelines for lodgepole pine in central Oregon. *Research Paper*. 453, 1992, stránky 1-30.

**ŠAFRÁNKOVÁ, Anna. 2016.** *Markery fyziologického stavu borovice ve vztahu ke*. Katedra experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta. Praha : Univerzita Karlova v Praze, 2016. Diplomová práce.

**ŠINDELÁŘ, Jiří, FRÝDL, Josef a NOVOTNÝ, Petr. 2007.** Příspěvek k charakteristikám regionálních populací – ekotypů borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) v České republice. *Zpráva lesnického výzkumu*. 2007, Sv. 52, 2, stránky 148-159.

**TAXONOMICKÝ KLASIFIKAČNÍ SYSTÉM PŮD ČR. 2004.** Taxonomický klasifikační systém půd ČR. *Taxonomický klasifikační systém půd ČR*. [Online] Beneta, 2004. [Citace: 05. Březen 2020.]  
[https://www.klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showVariety&id\\_categoryNode=171](https://www.klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showVariety&id_categoryNode=171).

**TOMÁŠKOVÁ, Ivana a KUBÁSEK, Jiří. 2016.** *Fyziologie lesních dřevin I*. Praha : Česká zemědělská univerzita, 2016. str. 269. ISBN 978-80-2132608-8.

**TVRZNÍK, Lukáš. 2017.** *Změny krajinného pokryvu a využití krajiny bývalého VVP.* Katedra fyzické geografie a geoekologie, Přírodovědecká fakulta. Liberec : Univerzita Karlova v Praze, 2017. Diplomová práce.

**ÚSTAV PRO HOSPODÁŘSKOU ÚPRAVU LESŮ, BRANDÝS N. LAB., POBOČKA JABLONEC N. NIS. 2001.** *PLO 18 - Severočeská pískovcová plošina a Český ráj.* místo neznámé : Ústav pro hospodářskou úpravu lesů, 2001.

**USTIN, Susan, a další. 2009.** Retrieval of foliar information about plant pigment systems from high resolution spectroscopy. *Remote Sensing of Environment.* 2009, Sv. 113, 1, stránky 67-77.

**VAŠINKA, David. 2011.** *Možnosti využití přirozené obnovy u VLS divize Mimoň.* Ústav zakládání a pěstění lesů, Fakulta lesnická a dřevařská. Brno : Mendelova univerzita v Brně, 2011. Bakalářská práce.

**VÍTAMVÁS, Jan, a další. 2019.** Vzcházení, přežívání a kořenový systém semenáčků borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) Při různých intenzitách slunečního záření a závlahy. *Zprávy lesnického výzkumu.* 2019, Sv. 64, 2, stránky 102-110.

**VOJENSKÉ LESY A STATKY ČR, S.P. 2020.** Vojenské lesy a statky ČR. [Online] Vojenské lesy a statky ČR, 2020. [Citace: 03. březen 2020.] <https://www.vls.cz/cs/o-vls/historie-podniku>.

**WEI, R. 1995.** *Predicting genetic diversity and optimizing selection in breeding programs.* Department of Forest Genetics and Plant Physiology, Swedish University of Agricultural Sciences. místo neznámé : Sveriges Lantbruksuniversitet, S-750 07 Uppsala, Sweden, 1995. Disertační práce.

**WHITE, Timothy L., HODGE, G. R. a L., POWELL G. 1993.** An advanced-generation tree improvement plan for slash pine in the southeastern United States. *Silvae Genetica.* 1993, Sv. 43, 6, stránky 359-371.

**WHITE, Timothy L., NEALE, David B. a ADAMS, W. T. 2007.** *Forest Genetics.* Wallingford : Cambridge, 2007. ISBN 978-0-85199-083-5.

**WRIGHT, Jonathan W. 1967.** *Introduction to Forest Genetics.* New York : Academic Press, 1967. ISBN 978-0-12-765250-4.

**XIE, C. Y. a YING, C. C. 1993.** Geographical variation of Grand Fir (*Abies grandis*) in the Pacific coast region 10-year results from a provenances trial. *Canadian Journal of Forest Research.* 1993, Sv. 23, 6, stránky 1065-1072.

**ZOBEL, Bruce a TALBERT, John. 1984.** *Applied forest tree improvement.* místo neznámé : The Blackburn press, 1984. str. 505.