

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

**Zhodnocení potřeb ověřování deklarovaného původu
sadebního materiálu**

Diplomová práce

Autor: Bc. Andrea Mrázová

Vedoucí práce: Ing. Jiří Korecký, Ph.D.

2018

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Zhodnocení potřeb ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu vypracovala samostatně pod vedením Ing. Jiřího Koreckého, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma 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 18.4.2018

Bc. Andrea Mrázová

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu své práce panu Ing. Jiřímu Koreckému, Ph.D. za vedení práce, jeho trpělivost a cenné připomínky. Děkuji také své rodině, která mě ve studiu podporuje.



ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Autorka práce:	Bc. Andrea Mrázová
Studijní program:	Lesní inženýrství
Obor:	Lesní inženýrství
Vedoucí práce:	Ing. Jiří Korecký, Ph.D.
Garantující pracoviště:	Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin
Jazyk práce:	Čeština
Název práce:	Zhodnocení potřeb ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu
Název anglicky:	Assessment of needs for verification of planting material
Cíle práce:	Popis stávajícího stavu legislativních pravidel přenosu sadebního materiálu na území České republiky a možností kontroly jejich dodržování. Analýza faktické potřeby ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu. Identifikace podezřelých toků a nejrizikovějších dřevin. Zpracování modelové studie ověření deklarovaného původu sadebního materiálu v produkčním řetězci.
Metodika:	V rešeršní části práce budou rozebrána pravidla přenosu sadebního a semenného materiálu v ČR a způsoby jejich evidence. Budou popsány nástroje, které mohou být využity pro ověření deklarovaného stavu (kontrolní mechanismy ÚHÚL). Bude provedena analýza faktické potřeby ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu ve vztahu k legislativním pravidlům a případným evidenčním disproporcím v produkčním řetězci. Ve výzkumné části bude posouzena potřeba ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu. Budou popsána rizika záměny materiálu v celém produkčním řetězci a identifikovány nejrizikovější dřeviny a možné toky nelegálního materiálu ze zahraničí. Součástí výzkumné části práce bude popis procesu ověřování deklarovaného původu na modelovém příkladu sazenic jedle bělokoré z osiva původem ze semenného sadu pomocí molekulárních markerů.

Doporučený rozsah práce: 50 stran

Klíčová slova: reprodukční materiál, kontrolní mechanismus, identifikace rizik

Doporučené zdroje informací:

1. Degen B, Hóltken A, Rogge M (2010) Use of DNA-fingerprints to control the origin of forest reproductive material. *Silvae Genet* 59:268–273.
2. Konnert M, Behm A (2006) Proof of identity of forest reproductive material based on reference samples. *Mitteilungen der Bundesforschungsanstalt*. 221/2006:61-71.
3. Nybom H, Weising K, Rotter B (2014) DNA fingerprinting in botany: past, present, future. *Investigative Genetics*. 5:1-35.
4. ÚHÚL (2016), Informace o nakládání s reprodukčním materiálem lesních dřevin České republiky 2016, výzkumná zpráva, Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem.
5. White TL, Adams WT, Neale DB (2007) *Forest genetics*. CABI Publishers, Wallingford, Oxfordshire, UK, Cambridge, MA.

Předběžný termín obhajoby: 2017/18 LS – FLD

Elektronicky schváleno: 15. 11. 2017
prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc, Ph.D.
Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno: 5. 2. 2018
prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.
Děkan

Abstrakt

Diplomová práce popisuje stávající legislativní systém o přenosu sadebního materiálu na území České republiky a možností kontroly jeho dodržování. Popisuje způsob sběru a nakládání s reprodukčním materiálem. Práce poukazuje na nutnost zlepšení kontrolního systému ověřování deklarovaného původu sadebního materiálu pomocí molekulárních markerů, jakož je tomu např. v Německu. Tato potřeba vyvstává z důvodu předpokládaných, ovšem v současnosti neprokazatelných nelegálních toků reprodukčního materiálu. V práci je zmíněna identifikace podezřelých toků a nejrizikovější dřeviny na území České republiky. Ve výzkumné části je popsána modelová studie ověření deklarovaného původu sadebního materiálu v produkčním řetězci na modelovém případě deklarovaného osiva (sazenic) jedle bělokoré původem ze semenného sadu.

Klíčová slova: reprodukční materiál, kontrolní mechanismus, identifikace rizik

Abstract

This diploma thesis describes the current legislative system of transfer of planting material in the Czech Republic, current state and future possibilities of control mechanism. In the review part, it is described how to collect and handle the reproductive material. It is pointed out the need to improve the control system for verifying the proven origin of planting material by means of molecular markers, likewise in other countries, e.g. in Germany. This need arises due to the presumed, but currently undetectable, illegal flows of reproductive material. The work identifies indistinct flows and predisposed species in the Czech Republic. The research part deals with a model study of verification of the declared origin of the plant material in the production chain on the model case of the declared seed (seedling) origin of Silver fir from the seed orchard.

Key words: reproductive material, control mechanism, risk identification

Obsah

1	Úvod	10
2	Cíl práce.....	12
3	Rešeršní část – rozbor problematiky	13
3.1	Reprodukční materiál	13
3.1.1	Zdroje reprodukčního materiálu kategorie identifikovaný	15
3.1.2	Zdroje reprodukčního materiálu kategorie selektovaný	16
3.1.3	Zdroje reprodukčního materiálu kategorie kvalifikovaný	16
3.1.4	Zdroje reprodukčního materiálu kategorie testovaný	17
3.1.5	Nakládání s reprodukčním materiálem	19
3.1.6	Uvádění reprodukčního materiálu do oběhu.....	28
3.1.7	Přenos reprodukčního materiálu lesních dřevin.....	30
3.1.8	Možnosti přenosu osiva a sadebního materiálu do ČR ze zahraničí.....	32
3.2	Stávající kontrolní mechanismy pro přenos sadebního materiálu v ČR	35
3.3	Situace v sousedních zemích.....	38
3.3.1	Pravidla přenosu	38
3.3.2	Kontrolní mechanismy v ostatních zemích.....	39
3.4.	Molekulární genetické markery	43
4	Výzkumná část	51
4.1	Analýza potřeby ověření původu sadebního materiálu	51
4.2	Modelová studie ověření deklarovaného původu sadebního materiálu v produkčním řetězci (Jedle bělokorá)	51
4.3	Nejrizikovější dřeviny	56
5	DISKUZE	63
6	ZÁVĚR.....	66
7	LITERATURA	68

Seznam obrázků

Obrázek č. 1: Fiktivní schéma spotřebitelského řetězce (<i>modifikováno podle PAŘÍZKA</i>).....	21
Obrázek č. 2: Schéma systému kontroly reprodukčního materiálu (ÚHÚL)	37
Obrázek č. 3: Schéma získávání referenčních vzorků dle ZüF (Kotrla, Pařízek 2008)	40
Obrázek č. 4: Schéma průběhu PCR analýzy (ZORNÍKOVÁ 2012)	49

Seznam grafů

Graf č. 1: Určení původu osiva sebraného v semenném sadu.....	55
Graf č. 2: Cena osiva jehličnatých a listnatých dřevin (Kč/kg)	58
Graf č. 3: Potřeba sadebního materiálu podle let 2019 – 2022 u vybraných dřevin (tis.ks)	59
Graf č. 4: Potřeba sadebního materiálu pro roky 2019–2022 u nejrizikovějších dřevin (tis. Ks).....	59
Graf č. 5: Výhledové potřeby sadebního materiálu pro Krušné hory	61
Graf č. 6: Výhledové potřeby sadebního materiálu pro Nízký Jeseník.....	61

Použité zkratky

AFLP – Amplified fragment length polymorphism

BFV – Bundesforschungszenrum für Wald

BNL – Buiro Nasiennictwa Leśnego

DNA – Deoxyribonukleová kyselina

PCR – polymerázová řetězová reakce

PLO – Přírodní lesní oblast

RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism

SSR – Simple Sequence Repeats

ZüF – Zertifizierungsring für überprüfbare Forstliche Herkunft Süddeutschland e. V.

1 Úvod

Nejdokonalejší metodou zachování genofondu lesních dřevin je přirozená obnova. Avšak i přes příznivý vývoj v jejím využívání v poslední době, přetrvává velký podíl umělé obnovy. V roce 1999 byla v ČR realizována umělá obnova lesa na výměře cca 23 000 ha. Z toho necelá 2% činila síje, zbytek byl obnoven sadbou. S tím je spojena potřeba značného množství vhodného reprodukčního materiálu. Obecně je známo, že kvalitní a odolné lesní porosty je možno založit pouze použitím kvalitního reprodukčního materiálu. Reprodukčním materiálem pro umělou obnovu lesa jsou nejčastěji sazenice lesních dřevin. Kvalita sazenice je vyjádřena vnějšími a vnitřními znaky. Vnějšími znaky jsou např. tloušťka kořenového krčku, výška apod. Vnitřní kvalita je dána genetickou hodnotou, odvozující se od použitého osiva. Ta je pak determinována genetickou hodnotou zdroje osiva, podle principů zákonů dědičnosti. Genetickou hodnotu zdrojů lze ovlivnit tím, že se použije selekce a ke sklizni osiva jsou používány zdroje vykazující žádoucí fenotypové a produkční znaky a dobrý zdravotní stav. Tato selekce je v praxi realizována při uznávání lesních porostů ke sklizni osiva. Uznání porostů má na trhu se sazenicemi zajistit garanci obtížně zjistitelné informace o původu osiva (RAMBOUSEK 2001). Použitím geneticky a morfologicky vhodného reprodukčního materiálu lesních dřevin zlepšíme zdravotní stav lesních porostů, zachováme jejich biologické rozmanitosti a naplníme všechny produkční a mimoprodukční funkce lesa. Ke genetickým zdrojům lesních dřevin řadíme reprodukční materiál, zdroje reprodukčního materiálu a genové základny, které mají současnou nebo potenciální fenotypovou a genotypovou hodnotu a jsou shromážděné, hodnocené a dokumentované pro účely Národního programu ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin (ÚHÚL 2016).

Systematická a dlouhodobá péče o genofond lesních dřevin dává předpoklady pro dosažení základního cíle- obnovu lesních porostů takovým způsobem, aby tyto porosty byly vhodného původu, odpovídaly svým složením cílové druhové skladbě a v budoucnu dávaly záruku stabilních lesních ekosystémů požadovaných vlastností, jako jsou např. odolnost, produkce, jakost a dobrý zdravotní stav. Uvedený vklad ve fázi obnovy porostu je později těžko ovlivnitelným faktorem s dopadem na stav budoucího porostu (SVOBODA 2010). Obecně závazné požadavky na genetickou kvalitu reprodukčního materiálu lesních dřevin jsou v rámci České republiky stanoveny prováděcími předpisy lesního zákona č. 289/1995 Sb. ze dne 15. prosince 1995

„o lesích a o změně a doplnění některých zákonů“, zejména pak vyhláškou Ministerstva zemědělství ČR č. 139/2004 Sb. ze dne 23. března 2004, „kterou stanoví podrobnosti o přenosu semen a sazenic lesních dřevin, o původu a evidenci reprodukčního materiálu a podrobnosti o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa“. Tyto předpisy určují závazná pravidla horizontálních a vertikálních přenosů reprodukčního materiálu lesních dřevin. Nařízení EU zavedlo do české legislativy směrnici Rady 1999/105/ES ze dne 22. prosince 1999 „O obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin na trh“. Jedním z cílů směrnice bylo spojení roztržité legislativní úpravy představované směrnicemi č. 66/404/EHS a č. 71/61/EHS. Tato směrnice přinesla několik změn, například zavedla úpravu nakládání s geneticky modifikovanými organismy, sjednotila kategorizace reprodukčního materiálu s kategorizací OECD a upřesnila podmínky pro uznání zdrojů jednotlivých kategorií reprodukčního materiálu, upřesnila terminologii (zamezila vzniku nejasností a umožnila snazší přijetí směrnice do národních právních řádů členských států). Zanesení směrnice Rady 1999/105/ES, vyústilo v zákon č. 149/2003 Sb. ze dne 18. dubna 2003, „o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů“. Tento zákon provádí vyhlášku č. 29/2004 Sb., „o obchodu s reprodukčním materiálem“. Zákon č. 149/2003 Sb. a zákon č. 114/1992 Sb. ze dne 25. března 1992, „o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů“ jsou novelizovány zákonem č. 387/2005 Sb. ze dne 19. srpna 2005. K zákonu č. 149/2003 Sb. byla rovněž vydána prováděcí vyhláška č. 29/2004 Sb. ze dne 20. ledna 2004. Nakládání s reprodukčním materiálem je řízeno podle výše zmíněných legislativních předpisů, nedostatkem je nemožnost dokázat případné porušení těchto předpisů objektivní metodou, která by umožnila ověření skutečného původu vybraného vzorku reprodukčního materiálu. V Evropě již existují objektivní metody k nezávislému ověřování původu reprodukčního materiálu, včetně jejich využití v praxi. Nejdále pravděpodobně pokročilo Německo, díky certifikačnímu systému ZüF, který umožňuje kontrolu identity reprodukčního materiálu využitím genetických markerů. V České republice je stávající systém odkázán pouze na přísný dohled zaměřený na evidenci a pohyb reprodukčního materiálu. Metodika možností využití nástrojů molekulární biologie pro sledování a dodržování legislativních předpisů v ČR zatím není zpracována.

2 Cíl práce

Cílem práce je popsat stávající stav legislativních pravidel týkajících se přenosu sadebního materiálu na území České republiky a možností kontroly jejich dodržování. Vzhledem k tomu, že deklarovaný původ je v současnosti možno potvrdit pouze na základě průvodní dokumentace sadebního materiálu, je posuzována účelnost a reálnost využití molekulárních genetických markerů jako součást kontrolního mechanismu. Je pravděpodobné, že se v současné době uskutečňují nelegální toky reprodukčního materiálu, které by mohly být v případě využití vhodného nástroje podchyceny a eliminovány. Taktéž jsou posouzeny kontrolní mechanismy, které jsou uplatňovány v sousedních zemích. Jedním z cílů práce je také identifikace podezřelých toků a identifikace v tomto směru nejrizikovějších dřevin. Cílem výzkumné části práce je kromě analýzy podezřelých toků rizikových dřevin zpracování modelové modelová studie ověření deklarovaného původu sadebního materiálu v produkčním řetězci – osivo (sazenice) jedle bělokoré s deklarovaným původem ze semenného sadu.

3 Rešeršní část – rozbor problematiky

3.1 Reprodukční materiál

Reprodukčním materiálem se rozumí semenný materiál (šišky, semena, plody a plodenství), části rostlin (řízky, očka, hříženci, pruty, explantáty a jiné části rostlin) a sadební materiál (rostliny získané ze semenného materiálu, části rostlin nebo vyzvednuté v lese z přirozeného zmlazení) (ÚHÚL 2016).

Aby mohly být lesy trvale udržitelným zdrojem suroviny a mohly plnit i všechny ostatní funkce, musíme je po těžbě přirozeně nebo uměle obnovovat. Po mnoha chybách, ke kterým došlo v minulosti používáním geneticky a provenienčně nevhodného osiva pro umělou obnovu lesa na základě poznatků z genetiky, se začaly prosazovat snahy využívat jako zdroje osiva pouze kvalitní porosty (PALÁTOVÁ 2007).

Kvalitní zdroj a vhodný původ reprodukčního materiálu je nejlevnějším a nejefektivnějším prostředkem podpory kvality, vitality a stability lesních porostů. Dobrý genetický základ reprodukčního materiálu je navíc jednorázovým vkladem do produkčního cyklu lesa (LONGAUER 2014).

Zdrojem reprodukčního materiálu se podle ZÁKONA č.149/2003 Sb. rozumí:

1. Zdroj semen, jímž je strom nebo skupina stromů rostoucí na pozemku určeném k plnění funkcí lesa, popřípadě i strom rostoucí mimo les, pro generativní způsob reprodukce.
2. Porost, jímž je ohraničená populace stromů má-li odpovídající stejnorodé složení, pro generativní i vegetativní způsob reprodukce.
3. Semenný sad, jímž je účelová výsadba selektovaných klonů nebo reprodukčního materiálu získaného z rodiče rodiny, který je izolován nebo obhospodařován tak, že sprášení pylem pocházejícím z rostlin nacházejících se mimo semenný sad je vyloučeno nebo omezeno, pro generativní způsob reprodukce.
4. Rodič rodiny, jímž je strom určený k produkci potomstva kontrolovaným nebo volným opylováním určeného jednoho samičího rodiče pylem jednoho samčího rodiče nebo pylem více určených nebo neurčených samčích rodičů, pro generativní způsob reprodukce.

5. Klony, jimiž je skupina vegetativních potomků (ramety) získaná z jediného výchozího jedince (ortet) vegetativním množením, například řízkováním, mikrovegetativním množením, roubováním, hřížením nebo dělením.
6. Směs klonů, jíž je směs určených klonů se stanovenými podíly jednotlivých klonů pro vegetativní způsob reprodukce.
7. Ortet, jímž je strom určený k odběru částí rostlin pro vegetativní způsob reprodukce.

Genetickým zdrojem se rozumí jakýkoli materiál současné nebo potenciální hodnoty obsahující funkční jednotky dědičnosti. ZÁKON č. 149/2003 SB. o obchodu s reprodukčním materiálem uvádí jako genetické zdroje:

- 1) Reprodukční materiál,
- 2) Zdroje reprodukčního materiálu,
- 3) Genové základny.

Genové základny, jsou soubor lesních porostů s významným podílem cenných regionálních populací lesních dřevin o rozloze, jež postačuje k udržení biologické různorodosti populace, která je při vhodném způsobu hospodaření schopna vlastní reprodukce (ZÁKON č. 149/2003 SB.).

Genové základny mohou být využity např. jako významné prvky v systému zvyšování stability lesů, mohou rozšiřovat a doplňovat soustavu přírodních rezervací vyhlášených rezortem ochrany přírody a krajiny, plnit funkce významné pro lesnický výzkum aj. Genové základny jsou vyhlášeny buď pouze pro jednu nebo pro více druhů lesních dřevin. Většina genových základen byla vyhlášena pro hospodářsky významné druhy lesních dřevin; z hlediska zachování genetických zdrojů mají však význam i ostatní druhy dřevin, jejichž genofond je v souvislosti s tímto opatřením chráněn spíše samovolně (NOVOTNÝ, FRÝDL, ČÁP 2008). Uznávání zdroje reprodukčního materiálu se provádí u všech druhů dřevin. Uznávání zdroje identifikovaného, selektovaného a testovaného reprodukčního materiálu provádí pověřená osoba na základě žádosti vlastníka zdroje.

Zdroj reprodukčního materiálu se uznává na dobu určitou, stanovenou v dokladu nebo v rozhodnutí o uznání. Tato doba může být na žádost vlastníka zdroje rozhodnutím pověřenou osobou prodloužena, nejdéle o 12 měsíců. Uznávání zdroje identifikovaného, selektovaného, kvalifikovaného a testovaného reprodukčního materiálu provádí pověřená osoba na základě žádosti vlastníka zdroje. Zdroj reprodukčního materiálu se uznává na dobu určitou, stanovenou v dokladu nebo v rozhodnutí o uznání. Porosty lze

uznávat jako zdroje identifikovaného, selektovaného nebo testovaného reprodukčního materiálu pouze na základě údajů platného lesního hospodářského plánu nebo platné lesní hospodářské osnovy (ZÁKON č.149/2003 SB.).

V České republice nachází nejčastější uplatnění reprodukční materiál lesních dřevin kategorie identifikovaný (listnaté druhy dřevin) a selektovaný (jehličnany). Obdobně tomu tak bývá i ve většině evropských zemí. Oproti lesnický vyspělým zemím Evropské unie nicméně ČR částečně zaostává ve využívání semenných sadů, tedy u reprodukčního materiálu lesních dřevin kategorie kvalifikovaný (NĚMEC 2015).

Do uznané jednotky se řadí pouze uznané zdroje poskytující reprodukční materiál stejné kategorie (VYHLÁŠKA č.29/2004 SB.).

3.1.1 Zdroje reprodukčního materiálu kategorie identifikovaný

Za zdroj identifikovaného reprodukčního materiálu se uznávají zdroje semen nebo porosty zařazené do fenotypové třídy C. Za zdroj identifikovaného reprodukčního materiálu lze uznat i porosty zařazené do fenotypové třídy A nebo B, nebyly-li uznány jako zdroj selektovaného nebo testovaného reprodukčního materiálu. Plocha porostů fenotypové třídy A a C určených pro sběr osiva v rozmezí let 2014 – 2016 výrazně klesla. Naopak plocha porostů fenotypové třídy B určených pro sběr osiva od roku 2014 stoupla o necelých 1 000 ha. Porosty se uznávají jako zdroje identifikovaného reprodukčního materiálu na dobu platnosti lesního hospodářského plánu nebo lesní hospodářské osnovy navýšené o 1 kalendářní rok (ZÁKON č.149/2003 SB.)

Tato kategorie představuje nejnižší stupeň kvalitativní selekce. Vzhledem k nekvalitě tohoto typu zdroje a nevhodnosti využití pro lesní hospodářství je jejich počet v jedné známé jednotce vysoký, přičemž trend vývoje počtu stromů ve zdrojích semen je vzrůstající. Reprodukční materiál použitý pro obnovu lesa nebo zalesňování pocházející z těchto zdrojů je pro vlastníka lesa tou nejhorší investicí. V roce 2016 byly evidovány zdroje reprodukčního materiálu u 15 druhů jehličnatých dřevin.

Celková plocha činila 4 213,52 ha s největším zastoupením jedle bělokoré (*Abies alba*), které tvořilo 2 060,97 ha. U listnatých dřevin bylo evidováno 48 druhů s plochou 59 378,81 ha, s největším zastoupením buku lesního (*Fagus sylvatica*), které tvořilo 21 433,50 ha (ERMA 2016).

3.1.2 Zdroje reprodukčního materiálu kategorie selektovaný

Tato kategorie patří k nejdůležitější kategorii vzhledem k tomu, že je nejrozšířenější a nejčastěji využívaným zdrojem reprodukčního materiálu lesních dřevin používaného k obnově lesa. Za zdroj selektovaného reprodukčního materiálu se uznává pouze porost zařazený do fenotypové třídy A nebo B, který vyhovuje požadavkům na genetickou a morfologickou kvalitu, polohu, rozlohu, věk, strukturu a zdravotní stav a vyhovuje z hlediska vhodnosti stanoviště. Podle původů, objemové produkce, morfologických znaků a zdravotního stavu se porost při fenotypové klasifikaci zařazuje do fenotypových tříd „A“, „B“, „C“ nebo „D“. Porosty fenotypové třídy „A“ jsou hospodářsky vysoce hodnotné porosty, které jsou autochtonní, nebo jde-li o porosty, které nejsou autochtonní, avšak vynikají množstvím nebo kvalitou produkce, morfologickými znaky a odolností. Porosty fenotypové třídy „B“ jsou ostatní porosty nadprůměrné objemové produkce a morfologických znaků a dobrého zdravotního stavu. Porosty fenotypové třídy „A“ se neslučují, a proto jeden porost tvoří vždy jednu uznanou jednotku. Porosty fenotypové třídy „B“ je možné se souhlasem vlastníka, téhož druhu dřeviny, v rámci stejné přírodní lesní oblasti, popřípadě v téže genové základně, stejného lesního vegetačního stupně a téhož vlastníka zdroje sloučit do jedné uznané jednotky. Plocha porostů obou fenotypových tříd od roku 2014 klesla průměrně o 2 500 ha.

V roce 2016 bylo evidováno 12 druhů jehličnatých dřevin, plocha činila 49 253,85 ha s největším zastoupením hlavní dřeviny České republiky smrku ztepilého (*Picea abies*) 37 469,15 ha. U listnatých dřevin bylo evidováno 31 druhů o rozloze 19 523,23 ha, s největším zastoupením buku lesního (*Fagus sylvatica*) o rozloze 13 269,27 ha. (ERMA 2016).

3.1.3 Zdroje reprodukčního materiálu kategorie kvalifikovaný

Za zdroj kvalifikovaného reprodukčního materiálu lze uznat pouze semenný sad, rodiče rodiny, ortet, klon nebo směs klonů, který vyhovuje požadavkům na postup při založení zdroje a při jeho dalším udržování, jakož i požadavkům na jeho genetickou a morfologickou kvalitu, polohu, rozlohu, věk, strukturu a zdravotní stav, který splňuje podmínku vhodnosti stanoviště. Zdroje kvalifikovaného reprodukčního materiálu se neslučují.

a) Rodiče rodiny/ klony

K 31.12.2016 je v databázi Rejstříku uznaných zdrojů reprodukčního materiálu evidováno 8 891 kusů klonů (6 095 ks jehličnanů a 2 796 ks listnáčů). Hlavním důvodem pro uznávání klonů je zakládání semenných sadů.

b) Semenné sady

Semenný sad se zakládá podle dokumentace registrované a schválené pověřenou osobou. Za zdroj kvalifikovaného reprodukčního materiálu ho lze uznat, pokud zůstal zachován potřebný počet a skladba klonů s dobrým zdravotním stavem a semenný je ve věku, kdy nastoupila plodnost, na které se podílí nadpoloviční většina zastoupených klonů. Semenné sady je nutné obhospodařovat tak, aby bylo dosaženo cíle semenného sadu. V Rejstříku uznaných zdrojů je evidováno 136 semenných sadů (106 uznaných a 30 registrovaných) o ploše 312,13 ha (ERMA 2016).

Semenné sady jsou nejčastěji používané produkční populace v lesním hospodářství po celém světě. Semenné sady můžeme vnímat jako produkční vektory spojující postupy šlechtění lesních dřevin a zalesňování. U nás i ve světě převažující klonální sady jsou výhodné, protože jsou z hlediska využití méně omezeny pozdějším nástupem kvetení. Každý klon je v rámci sadu reprezentován libovolným počtem geneticky identických kopií označovaných jako ramety. Je-li zakládán nový semenný sad. Musí být zváženy faktory, jako je souhrn genotypů, které přispívají, počet rameret jednotlivých klonů, jakož i jejich fyzická alokace (design sadu). Všechny tyto faktory ovlivňují realizovanou odezvu na selekci a úroveň genetické rozmanitosti. Proto by kvalitní design měl podporovat náhodné páření (blízké panmixii) a minimalizovat inbreeding. Inbreeding popisuje páření mezi příbuznými klony. Hlavním cílem sadu je produkovat pravidelně a v hojné míře osivo vysoké genetické kvality pro následnou produkci geneticky vylepšených sazenic pro zalesňování. Tato genetická kvalita osiva ze semenných sadů je dána mírou genetického zisku a genetické diverzity, která je ovlivněna reprodukční fenologií, synchronizací, jakož i tokem genů v rámci i mimo sad (EL-KASSABY 1995; BURCZYK A PRAT 1997).

3.1.4 Zdroje reprodukčního materiálu kategorie testovaný

Za zdroj testovaného reprodukčního materiálu lze uznat pouze porost, semenný sad, rodiče rodiny, klon, směs klonů nebo ortet, který vyhovuje požadavkům stanoveným pro uznání zdroje selektovaného reprodukčního materiálu nebo kvalifikovaného reprodukčního materiálu, pokud jeho vlastnosti byly ověřeny

srovnávacími nebo genetickými testy. Zdroje testovaného reprodukčního materiálu se neslučují (ZÁKON Č.149/2003 SB.). V roce 2005 byl uznán první zdroj reprodukčního materiálu lesních dřevin kategorie testovaný. Jedná se o směs klonů rodu topol ze sekcí Aigeiros a Tacamahaca založenou a spravovanou VÚLHM výzkumnou stanicí v Kunovicích. Užití tohoto testovaného zdroje je možné po celé České republice podle přírodně klimatických podmínek. Z tohoto původního zdroje pocházejí prozatím všechny další uznané zdroje testovaného reprodukčního materiálu šlechtěných topolů (ERMA 2016).

Uznané lesní porosty pro sběr osiva

Cílem uznávání lesních porostů je zabezpečení dostatečné semenné základny pro sběr kvalitního lesního osiva k umělé obnově lesa, k zalesňování nelesních půd a ke šlechtitelským účelům, dále pak chránit před poškozením a předčasným smýcením stromy a porosty mimořádných kvalit, vyloučit z přirozené obnovy a sběru semen porosty a stromy stanovištně a hospodářsky nevhodné. Stanovištně vhodné a hospodářsky hodnotné ekotypy lesních dřevin pěstovat v takových polohách, které jim odpovídají stanovištními a klimatickými podmínkami, a tím napomoci dědičné podstaty našich lesů.

Pro obhospodařování uznaných porostů je třeba zdůraznit nutnost zvýšené péče o zkvalitnění stromové zásoby a vytváření předpokladů pro zvyšování semenné produkce. Vhodnými pěstebními zásahy je třeba také sledovat zvyšování odolnosti uznaných porostů proti všem škodlivým činitelům a postupně nahrazovat porosty hospodářsky málo hodnotné porosty stanovištně a hospodářsky hodnotnými (KANTOR A KOL. 1975).

Podle ZÁKONA Č.149/2003 SB. se provádí fenotypová klasifikace lesních porostů. Při fenotypové klasifikaci se porost podle původu, objemové produkce, morfologických znaků a zdravotního stavu zařazuje do:

- 1) fenotypové třídy A, jde – li o hospodářsky vysoce hodnotný porost, který je autochtonní, nebo jde – li o porost, který není autochtonní, avšak vyniká množstvím nebo kvalitou produkce, morfologickými znaky a odolností,
- 2) fenotypové třídy B, jde – li o ostatní porosty nadprůměrné objemové produkce a morfologických znaků a dobrého zdravotního stavu,
- 3) fenotypové třídy C, jde – li o porost průměrné objemové produkce a morfologických znaků a dobrého zdravotního stavu,

- 4) fenotypové třídy D, jde – li o porost, který je geneticky a hospodářsky nevhodný se zřetelně zhoršeným zdravotním stavem nebo se znatelně zhoršenou kvalitou.

Kritéria pro zařazování dřevin v porostech do fenotypových tříd nalezneme ve vyhlášce č. 29/2004 Sb. v příloze č.19.

3.1.5 Nakládání s reprodukčním materiálem

Distribuční řetězec sadebního materiálu

Pro reprodukci lesů je vhodné volit zdroje na základě původu a hospodářské hodnoty- zejména produkce, stability a zdravotního stavu. Tento materiál by se měl dále využívat na vhodných stanovištích, na jeho podmínky je buď dlouhodobým přirozeným výběrem adaptován, nebo kde jsou předpoklady, že s ohledem na svůj adaptační potenciál se bude moci zvoleným lokalitám hodně přizpůsobit.

BERNHARDT (1996), HOSIUS ET EL. (1996) ve své literatuře uvádějí příčiny vzniku záměn reprodukčního materiálu. Manipulace s reprodukčním materiálem lesních dřevin od sklizně plodů a semen lesních dřevin, až po jeho využití pro obnovu lesních porostů nebo zalesňování představuje dlouhý proces s četnými fázemi. Tento postup je vedle povinnosti kontinuální evidence původu a základních charakteristik zdrojů původu, upraven předpisy, které jsou zmíněny výše. Tato ustanovení musí být dodržována, předpokládá se však s tím, že mohou být při konkrétních realizacích porušována, jako tomu bývá obecně u všech předpisů odborné nebo právní povahy. Při porušení některých předpisů jsou taxativně stanoveny pokuty, a to v případě, kdy dochází k neoprávněnému sběru semen a plodů lesních dřevin, k neoprávněnému vyzvedávání semenáčků a sazenic a k porušení předpisů o evidenci semen a sazenic lesních dřevin. K případům porušování zákona o lesích a příslušné vyhlášky o lesním reprodukčním materiálu může docházet prakticky ve všech fázích procesu, počínající volbou zdroje pro sklizeň plodů nebo osiva, jeho využívání pro sběr a dále ve všech fázích procesu počínaje sklizní až po výsev nebo výsadbu semenáčků či sazenic. V této souvislosti může docházet k porušování předpisů i ve vedení povinné evidence. Evidence nemusí být vedena vůbec, nebo je neúplná či dokonce nesprávná, a to buď z neznalosti předpisů, z nedbalosti, nebo v extrémním případě může dojít i k úmyslné falzifikaci. K porušování zásad evidence může docházet dále v lesních školkách – výsevem osiva, školkováním semenáčků, při sklizni sazenic a při expedici. Tyto

nedostatky mohou spočívat v tom, že původ reprodukčního materiálu je na záhonech špatně označen, to se paralelně objevuje i v písemných dokladech. Problém může nastat v souvislosti s vyzvedáváním sazenic, při jejich přípravě k expedici. Nejčastější příčinou může být omyl, úmyslné zkreslení nebo nedostatečná péče při práci (ŠINDELÁŘ 2000).

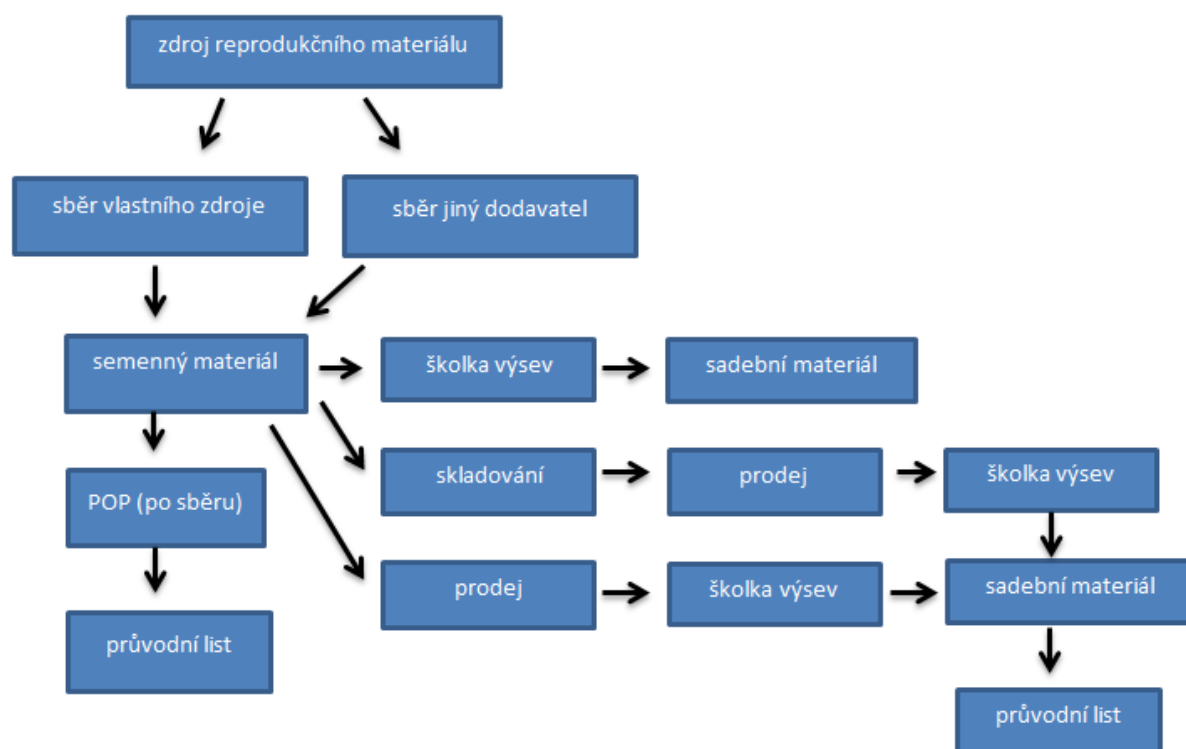
Problémy s evidencí vznikaly a nadále vznikají u plodů a semen dřevin, které se vykupují od sběračů. Jde prakticky o sklizeň žaludů a bukvic. Další možný případ je porušování předpisů o evidenci o původu, který navazuje na vhodný či nevhodný způsob organizace sklizně, je smíchání plodů nebo semen při skladování, dopravě. V semenářském závodu dochází ojediněle k chybné evidenci, ovšem dojde – li do semenářského závodu zásilka plodů a semen se špatně indikovaným původem, pak se tato chyba vleče dále ve všech navazujících operacích až po využití osiva a sazenic na zalesnění.

Vypěstovaný sadební materiál je možné uvádět do oběhu. Kontrolovaná je vazba mezi získaným osivem, sadebním materiálem v držení a sadebním materiálem uvedeným do oběhu. Kritickým místem je výpěstnost, která udává kolik bude vypěstováno sazenic z určitého počtu čistých klíčivých semen. Dalším kritickým místem je v případě školkařských provozů s více provozovny záměna původu u pěstovaného sadebního materiálu za účelem snížení nákladů na transport sadebního materiálu požadované provenience z místa pěstování do místa výsadby, obdobně může platit mezi různými školkařskými subjekty na základě dohody. V případě obchodování se sadebním materiálem mezi dodavateli prací v lese musí množství uvedené do oběhu odpovídat nákupu. Kritickým místem je záměna původu různých oddílů sadebního materiálu z organizačních důvodů (PAŘÍZEK 2008).

Obchodní úspěchy firem jsou kromě kvality sazenic závislé také na obchodních dovednostech a společenském uznání osob, které reprezentují společnost, stejně jako v jakémkoli jiném oboru. Odběrateli sadebního materiálu lesních dřevin jsou vlastníci lesů a to jak soukromých, tak státních. Dodavatel sadebního materiálu musí sazenice dodávat v příslušné kvalitě, která odpovídá standardům dle vyhlášky nebo případné dohodě obou stran. Samozřejmostí musí být vybavení dodávky dokumentací dle příslušných právních předpisů. Dodržení standardů sadebního materiálu je nutností v případě, že stát poskytuje vlastníkům lesa na tyto rostliny dotace na obnovu lesa (FRANKE 1996). Některé provozy v České republice jsou založeny a mají dlouhou historii v příznivých pěstebních podmínkách, mají dobrou polohu a jsou ideální pro

pěstování sazenic, ale nacházejí se v oblasti, která není příliš lesnatá. Proto se tyto provozy zaměřují na obchod a dodávky sadebního materiálu pro poměrně vzdálené oblasti.

Naproti tomu školky, které existují v podmínkách velké lesnatosti daného území, pokryjí se svojí produkcí daleko menší rozlohu regionu (BURDA 2009). Provozy, které dlouhodobě působí v některých regionech, nebo mají dlouholetou spolupráci se stálými odběrateli jsou specialisté pro potřeby daného regionu a potřeby svých odběratelů.



Obrázek č. 1: Fiktivní schéma spotřebitelského řetězce (modifikováno podle PAŘÍZKA)

Semenářské firmy z oblasti lesního hospodářství mohou získávat osivo pro účely LH pouze z uznaných zdrojů. Školkaři pak nakupují semena podle jejich původu tak, aby sazenice jimi vypěstované byly geneticky použitelné v regionech jejich odběratelů. Zajišťování osiva lesními školkami je různé dle provozů. Pokud je vlastníkem lesa vyžadováno dodání sazenic z vlastních porostů, pak zpravidla dodává producentu sazenic také osivo. Pokud se jedná o školku bez vazby na konkrétní vlastníky lesů, osivo bývá nakupováno od různých semenářských firem a požadavky na genetiku druhů se řídí dle odběratelů. Mnohé menší školky si osivo dokáží i při dnešní poměrně vysoké administrativní náročnosti zajistit ve vlastní režii, větší provozy si osivo částečně nebo

úplně zajišťují centrálním nákupem od semenářských firem. Stav porostů, ze kterých se osivo sbírá, zcela nepochybně ovlivňuje budoucí kvalitu porostu. První příznaky kvality nebo nekvality rostlin jsou patrné již ve školkách. Proto je v současném systému obchodování s reprodukčním materiálem lesních dřevin zaveden systém kontroly sběru osiva, který zabezpečují orgány státní správy lesů, a vedle toho vzniká kontrolní systém vedený pověřenou osobou, který má za úkol kontrolovat producenty sadebního materiálu a dodržování daných pravidel (BURDA 2009).

Je možnost semenný materiál uznané jednotky CZ – 2 – 2A – DB – 00001 – 17 – I – E původem z ČR vyvézt do zahraničí, tam vypěstovat sazenice a poté navrácené do ČR zde použít pro umělou obnovu lesa. Semenný materiál uznané jednotky SK003/4/LM původem ze Slovenska může být do ČR dovezen, vypěstován sadební materiál, nesmí však být v ČR použit pro umělou obnovu lesa, musí být opět vyvezen do země původu nebo do země, která použití takové proveniencí reprodukčního materiálu umožňuje. Reprodukční materiál ze semenného sadu modřínu opadavého z českých ortetů/klonů umístěný na Slovensku může být využit pro obnovu lesa v ČR (ÚSTNÍ KOMUNIKACE PAŘÍZEK, 2018).

Sběr reprodukčního materiálu

Celý proces sběrů semen a plodů lesnický významných druhů dřevin z uznaných zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin podléhá zákonu o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin (VYHLÁŠKA č.149/2003 SB.). Oprávněné osoby mohou sbírat reprodukční materiál lesních dřevin pro účely umělé obnovy lesa a zalesňování. Sběr mohou provádět pouze osoby s licencí udělenou podle zákona Ministerstvem zemědělství České republiky (KOTRLA, PAŘÍZEK, CAFOUREK 2003).

Před začátkem sběru reprodukčního materiálu je dodavatel povinen oznámit pověřené osobě nejméně 15 dnů předem:

- a) konání sběru semenného materiálu, odběru částí rostlin nebo vyzvedávání sadebního materiálu z přirozeného zmlazení, jde-li o identifikovaný, selektovaný, kvalifikovaný nebo testovaný reprodukční materiál,
- b) konání odběru částí rostlin, jde-li o následně vegetativně množený selektovaný, kvalifikovaný nebo testovaný reprodukční materiál,
- c) sloučení reprodukčního materiálu (ZÁKON č.149/2003 SB., §5A).

Tato kontrola spočívá buď v provedení úkonů předcházející kontrole, nebo provedením fyzické kontroly sběru na místě přítomností po celou dobu sběru. Pokud byly splněny všechny podmínky stanovené tímto zákonem a jeho prováděcími právními předpisy, vystaví orgán veřejné správy po sběru semenného materiálu dodavateli na jeho žádost pro získaný oddíl potvrzení o původu do 10 dnů ode dne doručení žádosti.

Sběr může být uskutečnitelný za následujících podmínek:

- b) Identifikovaný reprodukční materiál (DB, DBZ, BK) – sběr z min. 10 stromů z uznané jednotky
- c) Selektovaný reprodukční materiál (SM, BO, MD, DB, DBZ, BK) – sběr z min. 20 stromů z uznané jednotky
- d) Semenné sady – min 50% klonů plodí (BO, MD, SM)
- e) Semenné sady – min 30% klonů plodí – ostatní dřeviny (ÚHÚL 2016).

Dobu sběru z fyziologického hlediska mají semena nejvyšší kvalitu bezprostředně po dosažení zralosti. Vysoká kvalita může být negativně ovlivněna především nevhodně zvolenou dobou sběru. Z hlediska udržení klíčivosti a skladovatelnosti osiva je rozhodující, ve které etapě zralosti semena sklídíme.

Zrání je proces, který trvá určitou dobu, a v jeho průběhu semena procházejí několika etapami zralosti:

- a) Zralost fyziologická – semena jsou schopná klíčit a dosahují maximální klíčivosti
- b) Zralost morfoloická – semeno dosáhlo maximální velikosti a je do jisté míry vyschlé a odděluje se od mateřské rostliny
- c) Zralost morfoloická – semeno má nižší obsah vody, pevnější konzistenci a je pružné
- d) Zralost mléčná – semeno má vysoký obsah vody a při zmáčnutí z něj vyteče bělavá tekutina

Semena je třeba sbírat v morfoloické zralosti. Kdy nastupuje morfoloická zralost, závisí na botanické příslušnosti k rodu nebo druhu. V rámci druhu ovlivňuje dobu dosažení zralosti průběh počasí (sucho a teplo dobu zrání urychlují, chlad a vlhko zpomalují).

Po dosažení morfoloické zralosti se semena oddělují od mateřské rostliny různě rychle:

- a) Po dozrání plody zůstávají na stromě delší dobu, i když je semeno zralé (borovice, smrk, modřín)
- b) Po dozrání plody zůstávají několik týdnů na stromě, poté se uvolní (lípy, javory, jasany)
- c) Po dozrání dochází ihned k opadu (dub, buk), rozpad šišek jedle, otevírání šišek douglasky, borovice vejmutovky nebo pozvolný opad šištice břízy

Délka období mezi zralostí a opadem je důležitá pro organizaci a zajištění sběru, čím je delší, tím lépe. Sběr nedokonale vyzrálých semen plodů má řadu nepříznivých fyziologických a morfologických změn, a to:

- Nárůst sacharidů, tuků a bílkovin na úkor monomerů, ze kterých vznikají
- Prudký pokles respirace po dosažení zralosti
- Rychlý snižování obsahu vody u suchých semen a plodů, dosažením maximálního obsahu vody u plodů dužnatých
- Změna barvy, vůně a chutí
- Změna aktivity růstových regulátorů
- nárůst klíčivosti, která u dormantních semen v době zralosti dosahuje maxima, u dormantních semen se klíčivost v průběhu zrání snižuje až na nulovou hodnotu.

Průběh uvedených fyziologických a biochemických změn závisí na podmínkách, ve kterých stromy rostou. Skutečná doba zralosti závisí na geografické poloze, na nadmořské výšce, na expozici svahu a na průběhu počasí daného roku. Proto je obtížné stanovit, kdy je semeno daného druhu zralé. Ve světě se k tomuto účelu používají různé ukazatele, které lze podle charakteru rozdělit do tří skupin:

- a) Klimatické ukazatele zralosti
- b) Chemické ukazatele zralosti
- c) Fyzikální zralosti

V České Republice se uvedené ukazatele s výjimkou barvy k posouzení zralosti nepoužívají. V suchých plodech dochází v průběhu zrání k odbourávání chlorofylu a změně barvy, nejčastěji na slámově žlutou a různé odstíny hnědé. Kromě barvy se u jehličnanů posuzuje i obsah vody v megagametofytu. U semen podélně rozříznutých a ponechaných přes noc volně v laboratorních podmínkách nesmí docházet k jeho zmenšování. Zmenšování megagametofytu a jeho oddělování o semenění značí, že obsah vody je stále příliš vysoký a sběr by měl být pozdržen. (PALÁTOVÁ 2008).

Způsob sběru semen se volí tak, aby sběrem podstatně neutrpěl mateřský porost, aby nedošlo k poškození sbíraného osiva a neutrpěla jakost. V současné semenářské praxi se užívá několik způsobů sběru:

- 1) Ze stojících stromů- provádí trhači vybaveni lezeckými pomůckami. K tomuto postupu byly často používány stupačkové soupravy, s jejichž pomocí trhač vystoupal nahoru, ovšem při častém používání stupaček na tomtéž stromě docházelo k jeho poškozování. Stupačkové soupravy byly nahrazovány různými druhy žebříkových a lanových systémů. V poslední době se setkáváme se sběrem osiva ze stojících stromů pomocí horolezecké techniky. Tento způsob je velmi šetrný ke stávajícím porostům (BURDA 2009).
- 2) Sklepávání na plachty- v příhodných podmínkách, a nebo sběrem semen ze země (u některých listnáčů)
- 3) Z pokácených stromů- bezpečný způsob, lze využít jen u některých dřevin, při mýtní úmyslné těžbě jen u uznaných porostů (KUNEŠ 2015).

Zpracování osiva

Sběrem získáváme tzv. semennou surovinu, což jsou technicky neupravené části rostlin obsahující semena. Jen výjimečně lze takový materiál použít bezprostředně po sběru bez jakékoli úpravy. Většinou je třeba semennou surovinu zpracovat a určitým způsobem upravit, aby byla vhodná pro výsev nebo skladování.

Nejjednodušší způsob zpracování vyžadují plody, které se sbírají ručně ze země (bukvice, žaludy, ořechy...). Ty se pouze přečistí na síťovém třídíči před dlouhodobým skladováním pneumatickou čističkou. Plody a semena některých listnatých dřevin jsou pevně spojené listeny (habr, lípa), jiné druhy mají semena uložena v luscích (akát, dřevovec, janovec,..). Křídlaté nažky javorů, jasanů, pajasanu nebo jilmů se neodkřídľují, ale zbavují se pouze stopek. Listeny, lusky, stopky a ostatní přímíšeniny (větvičky, listy,..) se musí odstranit, protože zvětšují objem materiálu, komplikovaly by výsev a mohly by také negativně ovlivňovat i vlhkost plodů a semen při skladování. Semenná surovina uvedených druhů se nyní v semenářských závodech zpracovává na upravených zemědělských mlátičkách, kde se odlámou listeny, stopky a pak se čistí na zemědělské čističce Petkus. Tato čistička zbaví i prachových částic.

Semena ze šišek a šištíc

Většina jehličnatých dřevin má semena uložená za šupinami zdřevnatělých šišek, nažky olší dozrávají v dřevnatých šištících, semena osiky v tobolkách sestavených v jehnědovitých květenstvích. Technologie zpracování šišek a šištíc se liší podle toho zda, se samovolně rozpadají nebo zůstávají celistvé. Rozpadavé šišky a šištice jedle a limby se v dobře větrané místnosti rozprostřou a přehazují se, až se začnou rozpadat. Semenná surovina se obvykle luští pomocí hřebíkové mlátičky a vzniklá směs se přečistí na mlátičce Petkus. Jehnědy s tobolkami osiky a vrb se nechávají v tenkých vrstvách prosychat, dokud tobolky neprasknou a neuvolní semena s chomáčky chmýří.

Nerozpadavé šišky a šištice

V průběhu zrání šišek smrku, borovice, modřínu a šištíc olší dochází k postupné ztrátě vody a dřevnatění pletiv. I po dozrání šišky zůstávají určitou dobu na stromě. Při teplém a sušším počasí se postupně samovolně otevírají a semeno z nich vypadává. Chceme-li z nerozpadavých šišek a šištíc získat osivo, musíme je sebrat dřív, než se otevrou a docílit jejich otevření v prostředí, kde můžeme zachytit uvolněná semena. Proces získávání osiva z nerozpadavých šišek se označuje jako luštění. Luštění nasbíraných šišek je založeno na stejném principu jako je uvolňování semen ze šišek v přírodě (PALÁTOVÁ 2008).

Pěstování sadebního materiálu

Pro pěstování sadebního materiálu lesních dřevin jsou určeny lesní školky. Jde převážně o oplocené plochy velké od několika arů až po desítky hektarů. Nezbytnou podmínkou je přítomnost zdroje vody a elektrické energie. Sazenice se pěstují buď na venkovních záhonech, ve fóliovnících nebo ve sklenících k tomu uzpůsobených. Na venkovních záhonech se pěstují prostokořenné sazenice. Výsev se provádí buď jako řádková síje (modřín a borovice, dále listnáče), nebo plnosíje (smrk, jedle). Způsobu výsevu odpovídá i další postup výroby. Ve fóliovnících jsou pěstovány krytokořenné sazenice, tzn. v plastových obalech nebo sadbovačích. Produkce krytokořenného sadebního materiálu je typická pro skandinávské země, především pro Švédsko, kde tvoří až 90 % celkové produkce sazenic. V několika posledních letech začínají krytokořenné sazenice nabývat na významu i v České republice. Jejich hlavní výhodou je, že jsou vypěstovány do výsadbyschopné podoby za kratší dobu než sazenice

prostokořenné a při výsadbě v lesních porostech vykazují vyšší ujmavost. Nevýhodou je vyšší cena. Doba potřebná pro vypěstování výsadbyschopných sazenic se liší v závislosti na dřevině a způsobu pěstování. Prostokořenný smrk je výsadbyschopný ve 3 – 4 letech, borovice ve 2 letech, jedle ve 4 letech, listnáče obvykle ve 2 letech (ČEŠKA 2009).

Pěstování sadebního materiálu dělíme do několika technologií:

1) Dělení sadebního materiálu podle původu

- a) Generativní – byl vypěstován ze semene,
- b) Vegetativní – byl vypěstován z části rostlin (řízky, rouby, očka,..)

Předností vegetativně množeného sadebního materiálu je, že víme jaké vlastnosti bude rostlina mít (stejně jako rodičovský strom –klon). Nedostatkem vegetativně množeného sadebního materiálu je skutečnost, že jde o klonové množení a proto může dojít k zúžení genofundu nově zakládaných porostů.

2) Dělení sadebního materiálu podle ochrany kořenového systému

- prostokořenný – kořenový systém není nijak chráněn
- krytokořenný – kořenový systém je obalen substrátem nebo zeminou. Kořenový bal chrání kořenový systém proti mechanickému poškození a vyschnutí. V kořenovém balu je zásoba živin a vody, proto krytokořenné rostliny po výsadbě netrpí šokem z přesazení, rychle odrůstají a tím dochází k rychlejšímu zajištění kultury.

3) Dělení sadebního materiálu podle morfologických parametrů

- rostliny celistvé (mají nadzemní část i kořenový systém)
- bezkořenné (nemají kořenový systém)
- pahýlové (nemají nadzemní část)

4) dělení sadebního materiálu podle technologií pěstování

- klasická technologie (částečná regulace výživy a vody, téměř žádná regulace počasí)
- fóliovníky, skleníky, pařeniště (pěstování v umělém organickém substrátu, střední regulace výživy, vody a faktorů prostředí)
- hydroponie (pěstování ve vodě s živinami ve sklenících, plná regulace výživy a vody, střední regulace faktorů počasí)
- In vitro (pěstování v umělých a řízených laboratorních zkumavkách, plná regulace všech faktorů prostředí)

- Kombinace technologií (př. Semenačky jsou vypěstovány ve fóliovnicích nebo v hydroponii a sazenice z nich klasickou metodou)

Při pěstování sadebního materiálu je třeba postupovat racionálně a využívat nejnovějších technologií, aby se z daného množství lesního osiva vypěstoval co největší počet kvalitních, výsadby schopných sazenic (KANTOR ET AL, 1975).

3.1.6 Uvádění reprodukčního materiálu do oběhu

Podle Zákona č. 149/2003 Sb., uváděním do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin se rozumí: „nabízení reprodukčního materiálu k prodeji, prodej nebo dodávka třetí osobě včetně dodávky na základě smlouvy o poskytnutí služeb, anebo jakýkoliv jiný způsob převodu práva nakládat s reprodukčním materiálem na jinou osobu při podnikání, a dovoz za účelem prodeje anebo poskytování vzorků genetických zdrojů; za uvádění do oběhu se nepovažuje převod práva nakládat s reprodukčním materiálem, pokud jde o první převod tohoto práva z vlastního zdroje reprodukčního materiálu na jinou osobu a vlastník zdroje reprodukčního materiálu ani jeho zaměstnanci se v souvislosti s tímto převodem nepodílí na produkci reprodukčního materiálu“. Reprodukční materiál lesních dřevin mohou uvádět do oběhu pouze dodavatelé- držitelé licencí.

Reprodukční materiál zůstává ve všech fázích produkce a uvádění do oběhu rozdělen do oddílů, přesně známé velikosti, sklizených ve stejném čase z téhož zdroje reprodukčního materiálu. Oddíl semen je zpracován, skladován, ošetřen společně stejným způsobem.

U sazenic má oddíl stejný způsob a stejnou dobu pěstování. Každý oddíl musí být počínaje sběrem v celém průběhu produkce opatřen průvodní dokumentací a označen tak, aby nemohlo dojít k záměně s jiným oddílem. Do oběhu lze reprodukční materiál uvádět pouze s připojeným průvodním listem, vystavený dodavatelem, obsahující údaje (LONGAUER 2014):

- a) označení dodavatele,
- b) identifikační číslo a číslo licence dodavatele,
- c) označení odběratele,
- d) množství reprodukčního materiálu a počet balení,
- e) údaj o tom, zda byl reprodukční materiál množen vegetativně.

Každý průvodní list se skládá ze dvou částí- vlastního dokumentu a průvodního štítku. Průvodní štítek se k jednotlivým typům reprodukčního materiálu připojuje následovně:

- f) U semenného materiálu se ke každému balení jednou vkládá průvodní štítek dovnitř, a jednou se připojuje vně formou štítku.
- g) U částí rostlin se průvodní štítek připojuje vně ke každému balení.
- h) U sadebního materiálu se průvodní štítek připojuje k celé zásilce (ÚHUL 2016).

Průvodní list semen a plodů uváděných do oběhu jako identifikovaný, selektovaný, kvalifikovaný nebo testovaný reprodukční materiál, musí mít průvodní list, který obsahuje dále dle ZÁKONA Č.149/2003 SB. následující údaje:

- a) o čistotě, tedy hmotnostním podílu čistých semen nebo plodů, semen nebo plodů jiných druhů a neškodných nečistot připadajících na produkt uváděný do oběhu jako oddíl osiva,
- b) o klíčivosti čistých semen nebo plodů; v případě, že klíčivost není možné zjistit, o životaschopnosti zjištěné za pomoci specifických metod,
- c) o hmotnosti 1 000 čistých semen plodů,
- d) o počtu klíčivých semen nebo plodů na kilogram produktu uváděného do oběhu jako semenný materiál.

Každý oddíl reprodukčního materiálu lesních dřevin v celé EU – od sklizně semene resp. odběru částí rostlin vegetativním množením až po jeho použití provází potvrzení o původu s evidenčním číslem zdroje a údaji o původu oddílu. Potvrzení o původu je základním dokladem (“rodným listem“) každého oddílu reprodukčního materiálu. V návaznosti na potvrzení o původu je každý oddíl reprodukčního materiálu identifikován:

- i) českým a vědeckým názvem dřeviny, popřípadě označení klonu nebo směsi klonů
- j) oblastí provenience,
- k) původem,
- l) výškovým pásmem,
- m) typem zdroje reprodukčního materiálu,
- n) účelem použití reprodukčního materiálu,
- o) rokem zrání, u směsi roky zrání, jde-li o semenný materiál,
- p) stářím a druhem semenáčků nebo řízků použitých jako sadební materiál a to, zda byly podřezány, školkovány nebo obaleny,
- q) kategorií reprodukčního materiálu.

Mimo výše uvedené údaje, musí být každý oddíl identifikovaného, selektovaného, kvalifikovaného nebo testovaného reprodukčního materiálu opatřen:

- a) číslem potvrzení o původu
- b) evidenčním číslem uznané jednotky
- c) údajem o tom, zda se jedná o geneticky modifikovaný reprodukční materiál

Evidenční číslo zdroje je klíčovou součástí potvrzení o původu a slouží k identifikaci oddílů reprodukčního materiálu v rámci EU. Pověřená osoba po ukončení sběru semenného materiálu, odběru částí rostlin nebo vyzvednutí sadebního materiálu z přirozeného zmlazení dodavateli na jeho žádost pro získané oddíly vystaví potvrzení o původu do 10dnů ode dne jeho žádosti, pokud byly splněny podmínky stanovené zákonem a předpisy vydanými jeho provedením (ZÁKON č.149/2003 SB.).

3.1.7 Přenos reprodukčního materiálu lesních dřevin

Přenos reprodukčního materiálu má mimořádně velký vliv na stabilitu a produkci zakládáných lesních porostů. Demonstruje to řada provenienčních pokusů, ve kterých například provenience smrku z území České republiky nebo ze Slovenska se již ve věku 45 let liší v objemu středního kmene o čtvrtinu až polovinu a v zásobě na jednotku plochy jsou mezi nimi zjištěny až dvojnásobné rozdíly (LONGAUER 2014). Proto by mělo být cílem všech vlastníků lesa používat pro umělou obnovu lesa reprodukční materiál co nejbližší místu, kde se nachází zdroj tohoto materiálu. Rámcem pro přenos reprodukčního materiálu jsou tzv. oblasti provenience. Pro podmínky ČR a účely zákona č. 149/2003 Sb. a vyhlášky č. 29/2004 Sb. jsou oblasti provenience ztotožněny s přírodními lesními oblastmi. Jsou to oblasti s obdobnými růstovými podmínkami, v nichž jednotlivé druhy lesních dřevin, při zohlednění nadmořské výšky vykazují obdobné fenotypové znaky. Území České republiky je v horizontálním směru rozčleněno na 41 PLO.

Ve vertikálním směru se člení území České republiky na 9 lesních vegetačním stupňů, které vyjadřují vertikální členitost vegetace v závislosti na změnách zemského meziklimatu. Jednotlivým lesním vegetačním stupňům odpovídá určitá klimaxová vegetace, kterou charakterizuje dřevinná složka (PALÁTOVÁ 2007). Nelze –li pokrýt potřebu reprodukčního materiálu v rámci dané PLO, lze provádět jeho přenos mezi jednotlivými oblastmi způsobem stanoveným ve Vyhlášce č. 139/2004 Sb., která určuje přenos reprodukčního materiálu mezi 1. – 4. lesním vegetačním stupněm bez omezení s výjimkou přírodních lesních oblastí 17 (Polabí), 34 (Hornomoravský úval) a 35

(Jihomoravské úvaly), ve kterých nelze do prvního lesního vegetačního stupně přenášet reprodukční materiál ze třetího a čtvrtého stupně.

Od pátého lesního vegetačního stupně lze přenášet reprodukční materiál s vertikálním posunem o plus nebo minus jeden lesní vegetační stupeň s tím, že lze přenášet reprodukční materiál ze čtvrtého do pátého stupně a naopak. Smrk a kleč nelze přenášet z nižších stupňů do osmého a devátého lesního vegetačního stupně, lze provést jejich vzájemný přenos mezi osmým a devátým lesním vegetačním stupněm.

Pokud je nezbytný přenos mezi PLO, řídí se pravidly stanovenými pro jednotlivé dřeviny vyhláškou 139/2004 Sb. Ve vyhlášce jsou uvedeny pro jednotlivé dřeviny přehledy s taxativním vymezením, ze kterých PLO je možné reprodukční materiál do dané PLO vnášet. Při přenosu je třeba respektovat povolený vertikální posun, jehož zásady jsou stejné jako při přenosu v rámci PLO (PALÁTOVÁ 2007).

Ústřední evidence oddílu reprodukčního materiálu, které jsou u dodavatelů v držení a jdou uváděny do oběhu, je stejně jako u všech předchozích vedena v databázi ERMA2. Dodavatelé jsou povinni pověřené osobě předat údaje do 15.1. každého kalendářního roku se stavem k 31.12. kalendářního roku předcházejícího. Tyto údaje jsou tipovány do databáze ERMA2 buď ručně samotnými dodavateli přes webové rozhraní na portálu Ministerstva zemědělství „AGRI“ nebo pracovníky pověřené osoby na základě analogových podkladů dodavatelů. Tato možnost je pro účastníka systému výhodná, neboť zde dochází k logickým kontrolám a kontrolám vnitřních vazeb (FOLTÁNEK 2007).

K identifikaci lesních porostů, dávajících dobře rostoucí a přizpůsobivé potomstvo, které lze využít pro umělou obnovu lesa se od druhé poloviny 19. století zakládají provenienční pokusy. Potřebu jejich zakládání vyvolaly katastrofální zkušenosti s používáním semen lesních dřevin neznámého původu. Mezinárodní obchod, zejména se semeny jehličnatých dřevin a dubů, se v Evropě rozšířil od 17. Století a praxe ukázala, jak důležité je vědět, jaký reprodukční materiál se hodí pro konkrétní klimatické a stanovištní podmínky. Problémy s nevhodnými proveniencemi byly a jsou známy u modřínu (‘‘alpský’’ modřín se šavlovitým kmenem je náchylný na rakovinu kmene), borovice lesní (problémy s poškozováním těžkým sněhem), dubu (problém s křivostí a sukovitostí kmene). V souvislosti s bukem lesním se v přehledu mezinárodního obchodu se semeny lesních dřevin (TULSTRUP 1959) uvedl jako výstražný příklad obchod s bukovicemi sbíranými v nekvalitních, ale pravidelně

plodících bukových porostech v Nizozemsku, která se distribuovala do celé západní Evropy (LONGAUER 2014)

3.1.8 Možnosti přenosu osiva a sadebního materiálu do ČR ze zahraničí

System pro reprodukční materiál lesních dřevin ustanovuje Směrnice Rady Evropských společenství 1999/105/ES o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. Obsahuje společné definice souvisejících pojmů pro celou Evropskou unii, vymezuje působnost i dřeviny, na které se vztahuje, povinnosti členských států a Evropské komise. Reprodukční materiál, který vyhoví požadavkům směrnice, nesmí na společném trhu EU podléhat žádným dodatečným omezením. Směrnice dovoluje, aby členské státy na jejich vlastním území stanovily dodatečné nebo přísnější požadavky na uznání zdrojů pro specifické klimatické nebo stanovištní podmínky. Připouští se také dodatečné požadavky na vnější kvalitu reprodukčního materiálu. Geneticky modifikovaný reprodukční materiál lesních dřevin se smí uvést do oběhu pouze po vyhodnocení rizika pro životní prostředí a dalších požadavků zvláštních předpisů EU.

Dovoz reprodukčního materiálu za účelem jeho propouštění do celního režimu volného oběhu lze uskutečnit pouze:

- a) Na základě povolení ministerstva,
- b) Na základě rozhodnutí Rady EU o rovnocennosti reprodukčního materiálu lesních dřevin vyprodukovaného ve třetích zemích.

Ministerstvo povolí dovoz reprodukčního materiálu na základě rozhodnutí Komise EU. Při podání celního prohlášení je dovozce povinen tuto skutečnost oznámit celnímu úřadu a současně mu předložit povolení k dovozu reprodukčního materiálu vydané ministerstvem. Nepředloží-li dovozce celnímu úřadu povolení k dovozu reprodukčního materiálu, celní úřad zboží nepropustí do celního režimu volného oběhu. Dodavatel musí mít při dovozu zaevidovaný každý oddíl reprodukčního materiálu, který uvedl do oběhu, a tuto evidenci musí uchovávat po dobu 10 let od uvedení do oběhu (ZÁKON Č. 149/2003 SB.). Pohyb reprodukčního materiálu lesních dřevin mezi ČR a členskými státy ES, začal být centrálně evidován v souladu s platnými legislativními předpisy od roku 2004 (ÚHÚL 2016).

Reprodukční materiál může být uváděn na trh pouze v oddílech s následujícími údaji:

- a) kódem a číslem o původu;
- b) botanickým názvem;
- c) kategorií;
- d) účelem;
- e) typem zdroje;
- f) registračním označením nebo kódem oblasti provenience;
- g) oblastí provenience- pro reprodukční materiál kategorií „identifikovaný zdroj“ a „selektovaný“ nebo případně jiný reprodukční materiál;
- h) popřípadě určením původu materiálu (je či není autochtonní nebo indigenní anebo je neznámého původu);
- i) u semenného materiálu rokem zrání;
- j) stářím a druhem semenáčků nebo řízků použitých jako sadební materiál a údajem o tom, zda byly podřezány, školkovány nebo obaleny;
- k) zda jde o geneticky modifikovaný materiál.

Dále musí být reprodukční materiál opatřen etiketou nebo jiným dokumentem dodavatele, v němž musí být uvedeny následující údaje:

- a) číslo listu o původu;
- b) jméno dodavatele;
- c) dodané množství;
- d) v případě reprodukčního materiálu kategorie „testovaný“ jehož zdroj byl uznán, slova „předběžně uznáno“;
- e) zda byl materiál množen vegetativně (SMĚRNICE RADY 1999/105/ES).

Podle obecného prohlášení by měly být při zalesňování a obnově lesa používány přednostně původní domácí druhy a druhy místní provenience, které jsou plně přizpůsobeny místním stanovištním podmínkám. Je třeba zajistit, aby vedle požadovaných fenotypových a genetických znaků mohl být reprodukční materiál, který je nebo má být uveden na trh, správně určen od okamžiku sběru až do dodání konečnému spotřebiteli. Uvažovat o dovozu reprodukčního materiálu ze zahraničí a jeho realizaci by se mělo jen v případě nedostatku, které se mohou zejména u některých druhů dřevin vyskytnout, podle možnosti obnovy a zalesňování odložit na blízké období, kdy by již mělo být domácí osivo k dispozici (ŠINDELÁŘ J., FRÝDL J.

2008). Semenný materiál by měl být uváděn na trh pouze v uzavřeném obalu. Uzávěr musí být zhotoven tak, aby jej po otevření nebylo možné znovu použít.

V roce 2016 podle informací o nakládání s reprodukčním materiálem lesních dřevin České republiky, který je vydán každý rok Ústavem pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem bylo vyvezeno z České Republiky 5 112,25 kg osiva listnatých a 190,05 kg jehličnatých dřevin. Z listnatých dřevin převažoval buk lesní (*Fagus sylvatica*), u jehličnatých dřevin převažovala jedle bělokorá (*Abies alba*). Dále bylo vyvezeno 2 821 934 ks sazenic jehličnatých dřevin, nejvíce smrku ztepilého (*Picea abies*). A dovoz představoval 56,25 kg semenného materiálu jehličnatých dřevin a 5 925 kg semenného materiálu listnatých dřevin. V největším množství byl dovezen dub zimní (*Quercus petraea*) a to 5 000 kg semenného materiálu. Dále byl pověřené osobě nahlášen dovoz celkem 1 380 ks sadebního materiálu, s největším množstvím modřínu opadavého (*Larix decidua*).

3.2 Stávající kontrolní mechanismy pro přenos sadebního materiálu v ČR

Na základě ustanovení §26 Zákona č. 149/2003 Sb. veřejnou správu v oblasti ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin a uvádění reprodukčního materiálu do oběhu vykonávají:

- a) obecní úřady s rozšířenou působností,
- b) krajské úřady,
- c) ministerstvo
- d) Česká inspekce životního prostředí,
- e) celní úřad,
- f) vojenský lesní úřad- ve vojenských lesích.

Mimo výše zmíněné orgány veřejné správy je ministerstvem pověřena k provádění odborných úkonů a kontrolou v oblasti nakládání s reprodukčním materiálem tzv. pověřená osoba. Orgány veřejné správy a pověřená osoba na základě pověření jsou povinny kontrolovat dodržování povinností stanovených tímto zákonem.

Pověřenou osobou je na základě pověření Ministerstva zemědělství České republiky od roku 2015 Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem. Do roku 2005 byl pověřenou osobou Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti Jíloviště- Strnady. Od roku 2014 na portálu Ministerstva zemědělství je webová aplikace o evidenci reprodukčního materiálu ERMA2.

Tuto evidenci vede pověřená osoba v Rejstříku uznaných zdrojů reprodukčního materiálu, přičemž u každé uznané jednotky eviduje druh dřeviny, kategorii reprodukčního materiálu, typ zdroje reprodukčního materiálu, evidenční číslo, polohu, nadmořskou výšku nebo výškové pásmo, plochu, původ a v případě testovaného reprodukčního materiálu údaj o tom, zda jde o geneticky modifikovaný organismus (ÚHUL 2016).

Dochází ke kontrolám sběrů reprodukčního materiálu. Kontrola může probíhat několika způsoby:

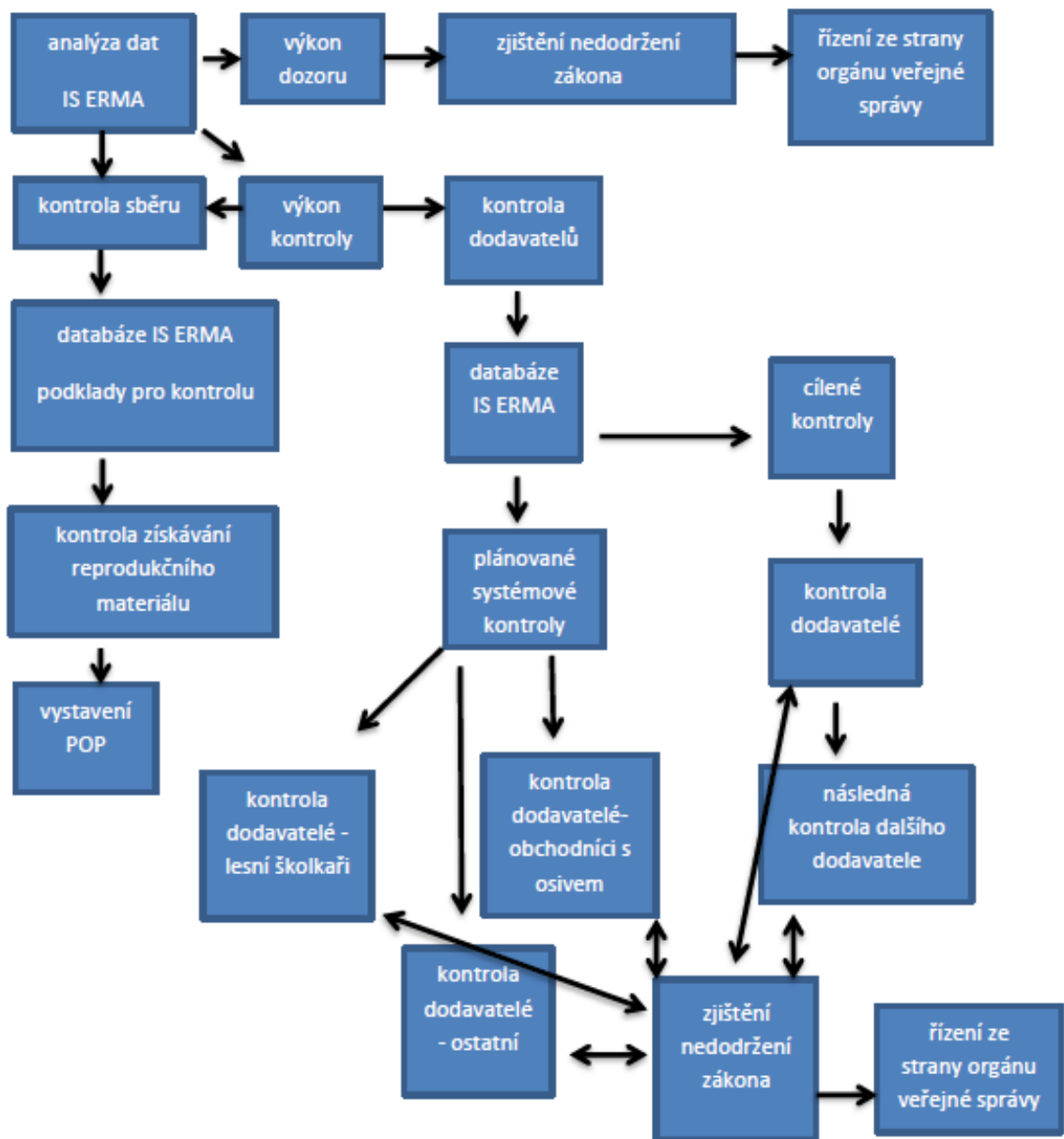
1) Úkon předcházející kontrole

Během provedení úkonů předcházejících kontrole pracovník pověřené osoby prověří správnost údajů uvedených v Oznámení o sběru, zejména uznanou jednotku a plánované množství sbíraného reprodukčního materiálu, na základě zjištěných skutečností je rozhodnuto o možném konání kontroly sběru.

2) Fyzická kontrola sběru

Pověřená osoba doručí dodavateli Oznámení o zahájení kontroly sběru. Doručení Oznámení mohou a nemusí předcházet úkony předcházející kontrole. Dodavatel je povinen oznámit minimálně 2 pracovní dny předem přesný datum a hodinu sběru tak, aby se pověřená osoba mohla sběru účastnit. Během kontroly musí dodavatel zajistit součinnost; veškerý reprodukční materiál je vážen na kalibrované váze a tento údaj je poté použit v potvrzení o původu.

Další kontrolou je kontrola dodavatelů, kterou lze rozdělit na periodickou-plánovanou (podle typu dodavatele) a cílenou (cílené prověření skutečností na základě získaných indicií). Pro tuto potřebu jsou využívány podklady databází IS ERMA, mimo jiné údaje poskytované jednotlivými dodavateli na základě povinností vyplívající ze zákona a také informace ze vzájemné komunikace mezi členskými zeměmi ES o pohybu reprodukčního materiálu v rámci obchodní výměny mezi zeměmi ES. Cílem kontrol dodavatelů je v první řadě ověřovat údaje o deklarované identitě jednotlivých oddílů reprodukčního materiálu a tím zajistit ochranu spotřebitele – vlastníka lesa (PAŘÍZEK, KOTRLA 2016).



Obrázek č. 2: Schéma systému kontroly reprodukčního materiálu (ÚHÚL)

3.3 Situace v sousedních zemích

3.3.1 Pravidla přenosu

Pravidla přenosu reprodukčního materiálu v sousedních zemích určuje Směrnice Rady 1999/105/ES. V podstatě ve všech členských státech Evropské Unie platí stejná pravidla pro přenos reprodukčního materiálu mezi zeměmi. Měly by být dodržena pravidla přenosů v rámci jednotlivých přírodních proveniencí a to v rámci výškových pásem. Vymezení hranic horizontálního přenosu vychází z podobnosti klimatických (v menší míře půdních) podmínek (KRAJMEROVÁ, GÖMÖRY 2017).

V některých oblastech Společenství se stanovují zvláštní požadavky na vnější jakost reprodukčního materiálu některých druhů lesních dřevin z důvodů klimatických a stanovištních podmínek, jedná se o alpské, středomořské nebo severské regiony (SMĚRNICE RADY 1999/105/ES).

Při vývozu reprodukčního materiálu do členských států EU je dodavatel povinen informovat Ústav pro hospodářskou úpravu lesa do 1 měsíce ode dne vývozu na předepsaném formuláři. Dodavatel při vyvážení reprodukčního materiálu z ČR vystavuje průvodní list v souladu s naší legislativou. Pokud dodavatel dováží reprodukční materiál do ČR, informaci o dovozu předává Ústavu pro hospodářskou úpravu lesa příslušná instituce dané země. Potvrzení o původu je po formální stránce řešeno v rámci členských zemí EU jednotnou formou, průvodní listy mají jednotný obsah (MAEUR, PALÁTOVÁ, KOTRLA, 2009).

Na **Slovensku** je horizontální a vertikální přenos reprodukčního materiálu lesních dřevin regulován na základě semenářských oblastí a výškových zón. ZÁKON č. 138/2010 Z. z. nahradil výškové zóny lesními vegetačními stupni, co ale nemění na principu regulace vertikálního přenosu.

Podle **rakouského** systému se na území členských států EU nemůže prodávat reprodukční materiál následujících dřevin: *Abies alba*, *Acer pseudoplatanus*, *Alnus glutinosa*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus excelsior*, *Larix decidua*, *Larix kaempferi*, *Picea abies*, *Picea sitchensis*, *Pinus cembra*, *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris*, *Prunus avium*, *Pseudotsuga menziesii*, *Quercus petraea*, *Quercus robur*, *Quercus rubra*, *Tilia cordata*. Jedná se o dřeviny, pro které není v Rakousku povolena produkce „reprodukčního materiálu chráněného zdrojem.“ Je proto nutné zajistit, aby se reprodukční materiál zdrojů těchto dřevin nedostal ke konečnému spotřebiteli z jiných členských států. Distribuce pro zahraniční zákazníky je však povolena. Proto se například osivo

douglasky pocházející z **Německa** nesmí prodávat konečnému spotřebiteli v Rakousku. Avšak, provenienci Douglasky ze třetích zemí mohou být dováženy a dodány konečnému spotřebiteli.

Reprodukční materiál může být dovezen pouze se souhlasem BFW. Ustanovení o dovozu a vývozu reprodukčního materiálu se vztahují i na reprodukční materiál, který není uveden na trh. Dovezený reprodukční materiál může být uveden na trh pouze tehdy, pokud byla vydána dovozní licence. U reprodukčního materiálu určeného k vývozu do třetích zemí může být požadováno od BFW osvědčení OECD.

Pro země, které jsou členy OECD (např. Švýcarsko, Srbsko atd.), je vydání osvědčení OECD povinné. Osivo, které je v Rakousku schválené zařazuje do kategorie „vybrané“ (BFW 2017).

3.3.2 Kontrolní mechanismy v ostatních zemích

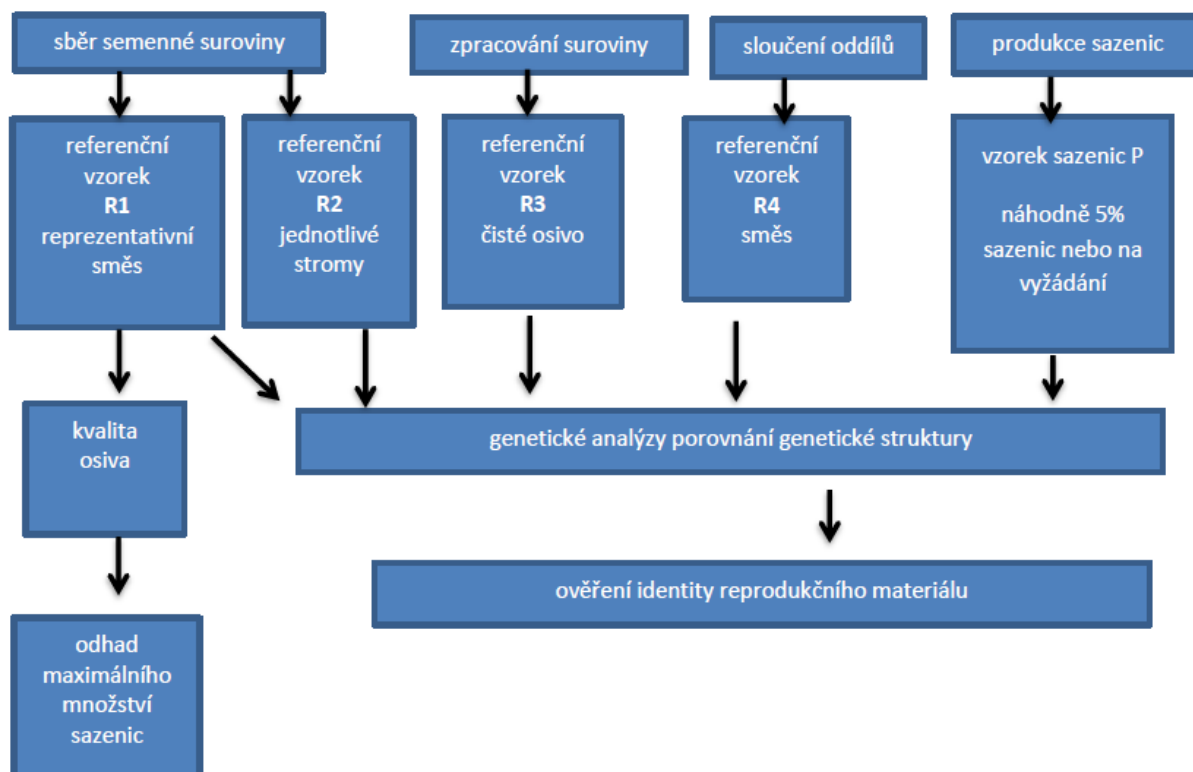
Každá členská země ES je povinna vytvořit takový kontrolní systém, aby v celém průběhu nakládání s reprodukčním materiálem lesních dřevin byla zachována pravdivá identita daného oddílu reprodukčního materiálu (KOTRLA, PAŘÍZEK 2008). Průvodní dokumentace jsou obvykle jediným důkazem o původu reprodukčního materiálu lesních dřevin.

Německo

V Německu byl v roce 2002 zaveden ZüF certifikační systém, pomocí kterého je zjišťován původ sadebního materiálu, k jeho ověření jsou využity genetické markery (izoenzymové a DNA analýzy). K ověření identity se porovnávají referenční vzorky osiva získaného v definovaných momentech se vzorky sadebního materiálu z lesních školek. Výhodou lesních školek tedy je, že produkují sadební materiál s ověřeným původem, jehož cena se pohybuje cca o 10 % výše oproti ceně běžného sadebního materiálu. K zavedení ZüF certifikačního systému vedly především pravidelně zfalšované listy, což vedlo k použití nevhodného sadebního materiálu pro danou oblast, s nižším růstem, špatným tvarem, zvýšenou úmrtností nebo zvýšenou náchylností k onemocnění.

Při sběru semenné suroviny je z konkrétního oddílu odebrán buď vzorek z jednotlivých stromů nebo reprezentativní směs suroviny z celého oddílu. Po zpracování oddílu semenné suroviny se z čistého osiva odebírá další referenční vzorek, který pro účely kontroly doplňuje referenční vzorky předchozí. Referenční vzorky osiva

jsou uchovány ve skladu po dobu 10 let při teplotě – 20 °C. Ke každému oddílu osiva je přiděleno identifikační číslo a je zařazen do ZüF certifikačního systému. Na výsadbyschopný sadební materiál je certifikační agenturou vydán producentům ZüF certifikát, který dokládá, že je sadební materiál s ověřeným původem (KOTRLA, PAŘÍZEK 2008, KONNERT & RUETZ 2006).



Obrázek č. 3: Schéma získávání referenčních vzorků dle ZüF (Kotrla, Pařízek 2008)

Slovensko

Na Slovensku podle ZÁKONA č. 138/2010 Z. z. dochází ke kontrolám sběru reprodukčního materiálu. Držitel osvědčení, který vykonává sběr semen, semenné suroviny, semenáčků z přirozeného zmlazení nebo částí rostlin k vegetativnímu množení, je povinen nejméně tři dny před plánovaným začátkem sběru oznámit příslušnému okresnímu úřadu začátek a místo sběru. Prováděn kontroly může orgán státní správy a orgán státní odborné kontroly v rámci své územní působnosti. V případě uvádění reprodukčního materiálu lesních dřevin na trh mohou kontrolu vykonávat i odborníci z Evropské komise.

Dozor kontroluje:

- a) původ, balení, označení, evidenci, kvalitu reprodukčního materiálu a vykonávání činností s lesním reprodukčním materiálem od jeho získání až po dodávku konečnému odběrateli,
- b) stav a obhospodařování uznaných zdrojů reprodukčního materiálu,
- c) použití stanovištně a geneticky vhodného reprodukčního materiálu na obnovu lesa a zalesňování a na jiné lesnické účely,
- d) genetickou identitu klonů, směsí klonů a multiklonálních variet,
- e) použití reprodukčního materiálu z obchodní výměny a dovozu (ZÁKON č.138/2010 Z. z.).

Polsko

V Polsku je registrační systém BNL (Buiro Nasiennictwa Leśnego), kde dodavatelé zadávají informace o původu reprodukčního materiálu, oznamují sběr osiva. Podle DZ. U. 2001 NR 73 POZ. 761 mezi obecně dostupné registry patří: registr dodavatelů, Národní registr o původu reprodukčního materiálu lesních dřevin, regionalizace osiva, zprávy o množství sebraného lesního reprodukčního materiálu. Princip je podobný jako v ČR, před zahájením sběru musí držitel licence sběr oznámit ve dvou termínech: měsíc před plánovaným sběrem a 7 dní před plánovaným sběrem. Po sběru producent získá z ministerstva osvědčení o původu.

Od roku 2011 – 2035 v Polsku testují původ lesního reprodukčního materiálu borovice lesní, pomocí genetických markerů. V roce 2017 prozkoumaly 258 nově přijatých vzorků z 13 krajských ředitelství státních lesů (PASLAWSKA, BARTKOWIAK 2017).

Maďarsko

REŠÁTKO (2000) představuje kontrolní systém reprodukčního materiálu lesních dřevin, který je zajišťován Státním zemědělským zkušebním ústavem kvality řízení v rámci Ministerstva zemědělství. V Maďarsku se nachází kolem 1 000 lesních školek, rozdělených dle velikosti do pěti skupin. Každý rok zaniká 50 – 60 lesních školek a přibližně stejný počet je uváděn do provozu. Kontrola je provedena inspektorem, jsou vyžadovány doklady o původu osiva, sadby a řízků dle jednotlivých druhů lesních dřevin a grafická evidence lesní školky, vedená dle jednotlivých záhonů a jednotlivých oddílů reprodukčního materiálu. Každý inspektor navštíví během roku všechny

přidělené lesní školky. Za provedení kontroly je vybírán poplatek, jehož výše je odvozena od množství zkontrolovaného reprodukčního materiálu. V případě zjištění porušení předpisů jsou předepisované uděleny pokuty, které mohou dosáhnout až desetinásobku hodnoty sadebního materiálu, u kterého byly nedostatky zjištěny. V Maďarsku je tedy pod stálou kontrolou sběr, pěstování, skladování a použití sadebního materiálu včetně dovozu a vývozu. Certifikaci reprodukčního materiálu lesních dřevin provádí Státní zemědělský zkušební ústav na základě osvědčení o původu osiva s ohledem na skutečné ověřené množství a stav, vždy je označen etiketou.

Rakousko

Základem zjištění původu reprodukčního materiálu jsou výsledky provenience výzkumu a empirické hodnoty lesnické praxe. Institut genetiky má řadu dlouhodobých pozorovacích oblastí jehličnanů a listnáčů, které jsou navrženy jako pokusy provenience nebo klonování. Tyto testy poskytují informaci o proměnlivosti provenience a klonů tuzemských i exotických dřevin z hlediska vhodnosti pro pěstování a odolnost vůči biotickým a abiotickým faktorům. V Rakousku se využívají genetické markery za pomoci certifikačního systému BFW (Bundesforschungszentrum für Wald), který řídí část projektu, která má za cíl zlepšit přidělování osiva na trhu k původním populacím. To by mělo být pro všechny strany v produkčním řetězci výhodné (vyšší kvalita reprodukčního materiálu). Na tomto aspektu pracuje celkem partnerských laboratoří, zvláštní pozornost je věnována dubu, borovici, třešním, buku, smrku a topolu (BFW 2018).

3.4. Molekulární genetické markery

Obecně lze marker považovat za určitou vybranou značku, jednotku informace; úsek DNA či proteinu vypovídající o příbuznosti jedinců, druhů nebo populací. Molekulární genetické markery patří mezi nástroje používané ke studiu genetické variability. Jedná se o přístupy identifikující konkrétní oblast genomu zájmového organismu. Mohou to být např. specifické sekvence DNA, které se nacházejí v genomu a dědí se z generace na generaci podle principů mendelovské genetiky (SEMAGN ET AL. 2016).

DNA markery jsou založeny na polymorfizmu, tedy na variabilitě sekvencí DNA, které se nacházejí u dvou nebo více jedinců. Sekvence molekulárního markeru by měly mít vysoký polymorfizmus, tedy zacílení specificky na ty sekvence, které podléhají častěji mutacím. BEDNÁŘ A VYHNÁNEK (2011) udávají, že pomocí DNA markerů lze detekovat rozdíly v genetické informaci, kterou sledované buňky nebo jedinci nesou. Jejich společným znakem je přímá schopnost detekce alelických variant v sekvenci nukleotidů, vztah k určité vlastnosti či znaku a existence jejich genové vazby s významným znakem nebo vlastností. Největší nevýhodou DNA markerů je jejich nákladnost. Naopak pozitivní výhodou je jejich neomezený počet. Jsou aplikovatelné u všech organismů, u kterých je možná technika izolace DNA. Na rozdíl od fenotypových či biochemických markerů nejsou závislé na podmínkách vnějšího prostředí, ve kterém se nacházejí a lze je aplikovat i při minimálním množství biologického materiálu, jsou nedestruktivní a spolehlivé. Pomocí DNA markerů je možné charakterizovat i velmi raná ontogenetická stádia rostlin. Snadněji odlišují blízce příbuzné jedince, což je u fenotypových markerů velmi obtížné.

FREEDLAND (2005) uvádí, že výběr vhodných molekulárních markerů závisí na několika faktorech. Nejprve záleží na tom, jaký stupeň variability očekáváme. Některé úseky genomu mají rychlejší evoluci než jiné. Markery, které nám umožní rozlišit dva blízce příbuzné organismy, musejí být vysoce variabilní, zatímco vztahy mezi vzdáleně příbuznými taxony mohou být objasňovány pomocí méně variabilních markerů. K výběru markerů lze pohlížet i z praktického hlediska, kdy se rozlišují dvě hlavní kategorie: dominantní a kodominantní. Dominantní markery mohou odhalit jen jednu dominantní alelu. Kodominantní markery jsou takové, se kterými můžeme identifikovat všechny přítomné alely v určitém lokusu. Použití kodominantních markerů je tedy

preciznější, ačkoli vývoj dominantních markerů vyžaduje méně času a za některých podmínek mohou být k získání dat výhodnější.

Dominantní markery

Dominantní markery jsou známé jako multilokusové markery, protože se s nimi získávají data z několika lokusů. Používají se náhodné primery k amplifikaci neznámých úseků genomu a vzniku několika schémat u každého jedince. Díky použití náhodných primerů není třeba znát předem žádnou sekvenci a vývoj těchto markerů není časově tolik náročný. Dominantní markery často vykazují velký stupeň polymorfismu a mohou být použity pro studium genetických vztahů blízkce příbuzných organismů, ale nehodí se pro studia evolučně vzdálenějších vztahů. Nevýhodou dominantních markerů je neschopnost rozlišovat homozygoty a heterozygoty, což ztěžuje výpočet alelových frekvencí. Další problém může představovat anonymita dominantních markerů při detekci kontaminací a porovnání dat mezi různými studii (FREELAND 2005).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD analýza je rychlá a jednoduchá metoda založená na PCR technologii. Používá se pro rychlý screening a identifikaci vzorků, kde je potřeba jen velmi malé množství templátové DNA. Vzhledem k tomu, že při RAPD analýze jsou využívány náhodně generované primery, není pro její provedení vyžadována znalost cílových sekvencí a studovaného genomu, u kterého RAPD detekuje polymorfismus (OBORNÍK ET AL., 2000). RAPD markery byly úspěšně využitelné při analýze původu (LERCETAU ET AL., 1997) a při genetickém mapování (Reiter et al. 1992). Jedna z nevýhod této metody je nestabilita poskytnutých spekter v rámci opakování a rovněž rozdílů ve spektrech v závislosti na izolovaném pletivu a podmínkách kultivace (SCOTT ET AL. 1992).

AFLP (Amplified fragment length polymorphism)

Metoda AFLP kombinuje postupy jak RFLP tak i PCR. Jejím klíčovým rysem je schopnost analýzy DNA oblastí rozmístěných náhodně po celém genomu (MUELLER A WOLFENBARDER 1999). Tato metoda se uskutečňuje v několika krocích.

V prvním kroku se provede úplné štěpení DNA pomocí restričních endonukleáz. V dalším kroku jsou k DNA připojeny oligonukleotidové adaptory, které jsou navrženy tak aby nedocházelo k obnově restričních míst. Restriční fragmenty jsou selektivně amplifikovány pomocí jednoho nebo dvou AFLP primerů. Následuje amplifikace fragmentů s primery, které se komplementárně vážou na sekvence adaptorů a sousední selektivní nukleotidy. Finálním krokem je elektrofréza v polyakrylamidovém gelu a autoradiografie. Spektrum fragmentů je možné získat bez předcházejících znalostí sekvence a počtu fragmentů detekovaných v jedné reakci je vylepšen sadami specifických primerů. Pomocí metody AFLP můžeme studovat genetickou podobnost jedinců i populací (FREELAND 2005, ŘEPKOVÁ A RELICHOVÁ 2001).

Kodominantní markery

U diploidních organismů odhalí každý dominantní marker jednu alelu u homozygotů a dvě alely u heterozygotů. Schopnost rozlišovat heterozygoty a homozygoty je jedním z nejdůležitějších rysů kodominantních markerů, můžeme tak snadno spočítat frekvence alel pro velké vzorky (jako je populace). Výhodou je, že kodominantní markery mohou charakterizovat jediný lokus. Hlavní nevýhodou je jejich relativní časová náročnost a relativně vysoká cena, která může limitovat počet genotypových lokusů (FREELAND 2005).

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Molekulární markery na úrovni DNA můžeme rozdělit na markery založené na RFLP a na PCR.

Jedná se o kodominantní markery, které umožňují určit, zda je vázaný znak přítomen u určitého jedince v homozygotním nebo heterozygotním stavu. Markery jsou založeny na změnách sekvencí DNA, ke kterým došlo během evoluce. Tyto změny způsobují bodové mutace v místech, kde dochází ke štěpení DNA pomocí restričních enzymů a rozdíly ve velikosti vzniklých fragmentů pak lze snadno detekovat gelovou elektrofrézou.

Restriční fragmenty jsou poté přeneseny na membránu, kde hybridizují se značnými sondami specifickými pro polymorfní oblasti genomu. Selektivní hybridizace umírní snadnější interpretaci výsledků analýzy snížením počtu srovnávaných

fragmentů. Analýza je časově náročná a pracná a jen několik markerů má polymorfní charakter, což je nevýhodné u blízce příbuzných druhů.

Mikrosatelity (SSR) (Simple Sequence Repeats)

Jedná se o úseky DNA, které se skládají z tandemových repeticí, mikrosatelity se nacházejí napříč celým genomem jádra i chloroplastů, ale byly nalezeny v mitochondriích některých druhů. Tandemové repetice 1 – 5 nukleotidů v počtu opakování 10 – 60× (A)_n, (CAG)_n aj. jsou označovány jako mikrosatelity. Obvykle se takto polymorfní místa vyskytují v nekódujících oblastech, protože by měnily čtecí rámec odpovídajícího bílkovinného produktu (BEDNÁŘ A VYHNÁNEK, 2004). V dnešní době je dostupné velké množství dat sekvencí ze selektovaných eukaryotických organismů, což zrychlilo výzkum zaměřený na pochopení původu a funkce mikrosatelitů a hledání nových aplikací použití (SHARMA A KOL. 2007). Mikrosatelitní markery se vyznačují vlastnostmi jako je např. vysoký stupeň polymorfizmu, jsou relativně rovnoměrně zastoupeny po celém genomu, jsou založeny na PCR, jsou kodominantní a vyžadují minimální množství analyzované DNA (BEDNÁŘ A VYHNÁNEK 2004). Kodominantní charakter markerů SSR umožňuje rozlišit homozygoty od heterozygotů. Mikrosatelitové lokusy jsou amplifikovány polymerázovou řetězovou reakcí s primery, které jsou komplementární se sekvencemi sousedícími s mikrosatelitovým lokusem. Mikrosatelitové markery již byly široce použity v mnoha genetických výzkumech, např. pro sledování genetické diverzity, genového mapování, identifikace jedinců, určení rodičovství apod. (PFEIFFER ET AL. 1997; CHRISTIAKOV ET AL. 2006; OLIVEIRA ET AL. 2006).

Mutace mikrosatelitních markerů jsou většinou neutrální. Může dojít k akumulaci mnoha mikrosatelitních mutací v populaci. Výsledkem je přítomnost několika alel lišících se počtem opakování pro daný mikrosatelit. Tím se stávají z mikrosatelitů užitečné genetické markery, neboť délka repetice může být snadno zjišťována pomocí amplifikace metodou PCR s oligonukleotidovými primery umístěnými v unikátní sekvenci obklopující repetici, a porovnání délky amplifikovaných fragmentogelovou elektroforézou. Analýza založená na mikrosatelitech je relativně jednoduchá a levná, a proto se využívá ve vazebných a populačních studiích pro DNA diagnostiku. Díky jejich variabilitě (polymorfismu) a relativně snadné detekci, jsou považovány z jedny z nejvýhodnějších genetických markerů. Mikrosatelity velmi rychle nahrazují metody spočívající na RAPD a RFLP ve většině aplikací v populační

biologii, od identifikování příbuzných jedinců až po odvozování demografických parametrů (AGARVAL A KOL. 2008).

Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Aplikace a rozvoj metody genetických markerů byl umožněn díky objevu polymerázové řetězové reakce (PCR). Tento nápad umožnil vědcům izolovat a amplifikovat specifické úseky DNA z genomu. Principiálně je polymerázová řetězová reakce založena na replikaci nukleových kyselin a její podstatou je cyklicky se opakující enzymová syntéza nových řetězců vybraných úseků dvouřetězcové DNA ve směru 5' - 3'. Daný úsek DNA je vymezený pomocí dvou primerů, které se vážou na protilehlé řetězce DNA tak, že jejich 3' - konce směřují proti sobě (ŠMARDKA ET AL. 2008). Metody založené na PCR reakci jsou velmi užitečné při záchranných programech, kdy je potřebné získat data při zachování velikosti populace ohrožených druhů. Primery jsou nezbytným startovacím místem pro syntézu DNA. Každý cyklus polymerázové řetězové reakce má tři kroky: denaturaci DNA, připojení primerů a prodlužování nově vznikajících řetězců. Při konečné fázi (extenzi) se uplatňuje polymeráza a volné nukleotidy, které zajišťují prodlužování řetězců (FREELAND 2005).

Metoda PCR byla jedním z nejdůležitějších biologických objevů 20. století a získala svého objevitele, Kerryho Mullise a Nobela Prize (MULLIS 1990). Před PCR bylo k analýze specifického fragmentu DNA obecně vyžadováno klonování fragmentu a amplifikace v plazmidu nebo vektoru. PCR neboli polymerázová řetězová reakce je biotechnologická metoda založená na množení (amplifikaci) požadovaného úseku DNA *in vitro*. K amplifikaci se používá speciální DNA – polymeráza. Z jednoho úseku DNA, který amplifikujeme může vzniknout při 35 cyklech až 2^{35} kopií (SNUSTAD AND SIMMONS 2009).

PCR umožňuje produkci velkého množství specifické DNA sekvence bez klonování, počínaje pouze několika molekulami cílové sekvence. Jednou z výhod PCR-markerových metod před DNA – DNA hybridizační markerové metody je to, že pozdější způsob vyžaduje izolaci velkého množství DNA (KORECKÝ 2016).

Každý cyklus PCR reakce má tři kroky: 1) denaturaci DNA 2) nasednutí primerů na vlákno DNA (annealing) 3) prodlužování nově vznikajících řetězců (extension). Ve druhé fázi (annealing) teplota umožňuje primerům správné nasednutí na komplementární místo na DNA v řetězci. Při konečné fázi se uplatňuje polymeráza a volné nukleotidy, které zajišťují prodlužování řetězců (FREELAND 2005).

1) Denaturace

Jedná se o rozrušení struktury dsDNA (dvouvláknová DNA) na dvě jednotlivá vlákna. Tento děj se odehrává při teplotě 92-95 °C. Je nutné, aby došlo k úplné denaturaci a k rozestoupení jednotlivých řetězců, protože kdyby tomu tak nebylo, mohlo by dojít k renaturaci a nesprávnému nasednutí primerů na řetězec.

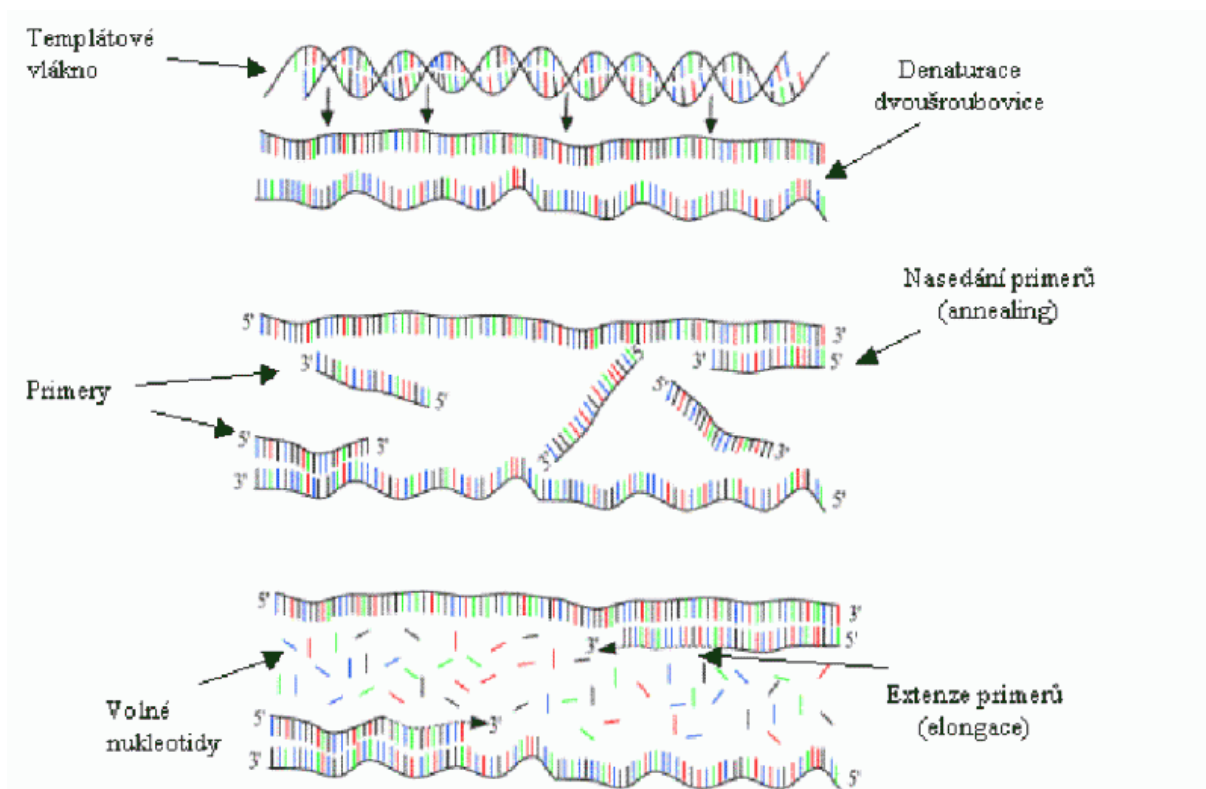
2) Připojování primerů (annealing)

Tento se označuje jako nasednutí primerů na jedno vlákno DNA. Jako primery se používají krátké úseky DNA o délce přibližně 18-26 bp, které se dále dělí na přímé a zpětné. Při této fázi se využívá komplementarity bází, což zajišťuje přesné umístění primeru. V této fázi je v termocykleru teplota 50-60°C.

3) Syntéza nových řetězců (extension)

Neboli prodlužování. Jedná se o enzymatickou reakci, která je katalyzována enzymem *Taq*-polymerázou. Tato reakce probíhá při teplotě 72°C a její princip spočívá v nasednutí DNA polymerázy na primery a připojování volných dusíkatých bází k vláknu DNA. I v tomto případě je využíván princip komplementarity bází.

V konečné fázi probíhá tzv. závěrečná polymerační reakce, při které dochází k dokončení syntézy jednotlivých řetězců při teplotě 72°C (BROWN 2007).



Obrázek č. 4: Schéma průběhu PCR analýzy (ZORNÍKOVÁ 2012)

Vyhodnocení amplifikovaných fragmentů DNA se provádí nejčastěji metodou elektroforézy v 3% agarosovém gelu. Fragменты jsou obarveny pomocí molekul ethidiumbromidu, který se váže na jednotlivé báze DNA. Gel je následně prosvícen UV světlem a tím se DNA zviditelní. Podle vzdálenosti proužků od nanesení se určuje délka jednotlivých fragmentů, proto platí, že čím je fragment kratší, tím rychleji prostupuje gelem (MANIATIS, FRITSCH AND SAMBROOK 1982).

Evoluční a fylogenetické vztahy (příbuznost genotypů)

Metody molekulární biologie umožňují získat podrobné informace o genetické struktuře přírodních populací. ŘEPKOVÁ A RELICHOVÁ (2001) popisují využití RFLP i PCR markerů k možnému využití při rekonstrukci fylogenetických vztahů u různých druhů. Často se pracuje se sondami pro repetitivně sekvence. Jejich homologní kopie byly často detekovány pouze u nejbližších příbuzných druhů. Sledují se evoluční vztahy určitých druhů s jejich platnými předky. Pro studium fylogenetických vztahů na mezidruhové úrovni se často využívá chloroplastová DNA. Genetickou skladbu organismů a její rozdílnosti mezi jedinci nebo populacemi lze zjišťovat s využitím genetických analýz. Genotyp představuje dědičnou informaci organismu a není na rozdíl od fenotypových znaků ovlivněn změnami vnějšího prostředí. Vyhledávají se DNA markery (lišící se úseky DNA), které jsou založeny na polymorfismu nukleotidových sekvencí nebo měnící se délce specifických úseků DNA. Aby bylo možné získat ze zkoumaných vzorků optimální informace o genetické proměnlivosti studovaných jedinců, je potřebné vyhledat DNA markery, které vykazují vysoký polymorfismus. Míry charakterizující genetickou strukturu a proměnlivost populací jsou založeny na alelických frekvencích jednotlivých alelických variant v lokusech (PAULE 1992).

Pro studium příbuzenské struktury a detekci variability jsou vhodné např. mikrosatelitové markery, které jsou využity v modelové studii výzkumné části. Tyto variabilní vlastnosti genomu jsou amplifikovány pomocí polymerázové řetězové reakce, amplifikovaná oblast je vymezena specifickými mikrosatelitovými primery. Vysoká variabilita je umožněna výskytem mikrosatelitových lokusů především v nekódujících oblastech genomu, tedy bez přímého vztahu k vnějšímu (fenotypovému) projevu jedinců. Výskyt konkrétní alelické formy tedy nemá vliv na fitness jedince. Principem analýzy blízké příbuznosti v přímé linii (rodičovství) je nutnost shody konkrétní alely potomka s genotypem domnělých rodičů a to na všech analyzovaných lokusech. Počítačové programy, které jsou pro tyto analýzy využívány, nicméně pracují taktéž se vstupním parametrem empiricky ověřených či předpokládaných genotypizačních chyb.

4 Výzkumná část

4.1 Analýza potřeby ověřování původu sadebního materiálu

Důležitost ověřování sadebního materiálu spočívá především k zabránění potenciálním škodám v narušení genetického složení současných populací, v ohrožení stability lesních porostů s ovlivněním možnosti plnění jejich vodohospodářské a půdoochranné funkce. Na území České republiky dochází každý rok k pohybu velkého množství reprodukčního materiálu lesních dřevin původem z domácích, částečně i zahraničních zdrojů. Roční potřeba semenné suroviny u čtyřech hospodářsky významných druhů lesních dřevin se pohybuje okolo 180 tis. kg u smrku ztepilého, 19 tis. kg u jedle bělokoré, 79 tis. kg u buku lesního a 59 tis. kg u dubu zimního. Orientační roční spotřeba sadebního materiálu těchto čtyř lesních dřevin pak dosahuje přibližně 144,3 mil. ks sazenic (Informace 2016). V lesním hospodářství se pracuje většinou s původními druhy lesních dřevin, což má za následek potřebu evidovat vertikální a horizontální přenos jejich reprodukčního materiálu, především pro udržení vysoké a kvalitní hospodářské produkce a ochrany přirozeného genofondu domácích populací.

4.2 Modelová studie ověření deklarovaného původu sadebního materiálu v produkčním řetězci (Jedle bělokorá)

Modelová studie je založena na hypotetických datech, které byly nadefinovány tak, aby se přibližovaly typickému charakteru provozní praxe.

Semenný sad jedle bělokoré – osivo a sadební materiál

V semenném sadu I. generace se vyskytuje 60 klonů, každý klon je zastoupen 8 – 12 rametami, celkem se v semenném sadu nachází 600 jedinců. Osivo deklarované příslušnými průvodními dokumenty původem právě z předmětného semenného sadu, bylo v lesní školce rozpěstováno v podobě dvouletého prostokořenného sadebního materiálu.

Ověření deklarovaného původu sazenic

Bylo rozhodnuto využít nástroj molekulární genetiky umožňující potvrdit či vyvrátit deklarovaný původ sadebního materiálu. Aby bylo možné získat z rostlinného materiálu genetickou informaci, je třeba nejprve izolovat DNA.

Průběh izolace DNA:

Vzorky byly nakrájeny a vloženy do zkumavky. Tyto vzorky byly zmrazeny v tekutém dusíku a pomocí oscilačního mlýnku vzorky rozdrobeny na jemný prášek. Následně docházelo k samotné izolaci DNA.

- 1) Práce probíhala se sérií 12 – ti vzorků. K rozdrobeným vzorkům byl přidán buffer GP1 a vzorky byly protřepány pomocí vortexu. Následně byla ke každému vzorku přidána RNase, která vyrušila RNA a ve vzorku zůstalo pouze DNA. Získaná směs byla inkubovaná po dobu 50 minut při teplotě 60 °C, při inkubaci docházelo k rozkladu buněčných stěn.
- 2) Po inkubaci byl ke každému vzorku přidán buffer GP2, pomocí kterého se vysráženy látky, které byly ve vzorcích navíc (protein, chlorofyl,..).
- 3) Vzniklý lyzát byl přepitován do zkumavek s filtrem, který vzorky zbavil zbylých sraženin.
- 4) Do přefiltrované frakce byl přidán buffer GP3 a směs vzniklá směs byla promíchána.
- 5) Byla odpipetovaná část směsi a byla přemístěna do nových zkumavek s filtrem, všechny vzorky byly zcentrifugovány a přefiltrovaná kapalina byla odstraněna.
- 6) Ve filtru s DNA se nacházely zbylé nečistoty, které byly odstraněny W1 Bufferem.
- 7) Do zkumavek s filtrem, který obsahoval DNA byl přidán Wash Buffer. Přefiltrovaná kapalina byla odstraněna. Filtr bylo potřeba vysušit pomocí centrifugy.
- 8) Vzorky byly zakápnuty přehřátým Elution Bufferem, díky kterému bylo získáno čisté DNA.

U vyizolované DNA lze zjistit její koncentraci v ng/μl a čistotu přístrojem Spektrophotometr. Optimální koncentrace DNA je 20 ng/μl z mladých jehlic. Hodnoty optimální čistoty by se měly pohybovat v rozmezí mezi 1,7 – 1,9, nižší nebo vyšší hodnoty indikují přítomnost dalších látek (proteinů, fenolických látek) Čistota je podstatná pro získání požadovaných PCR amplifikátů.

Po izolaci DNA následuje PCR amplifikace, pro tuto analýzu lze vybrat metodu jaderné mikrosatelity. Z testovaných mikrosatelitových markerů byl vybrán určitý počet polymorfních mikrosatelitových lokusů např. NFF3, NFH3 z publikace HANSEN et al.

(2005). Pro získání amplifikačních produktů těchto lokusů byly optimalizovány reakční směsi a teplotní cykly PCR a vypracovány protokoly. PCR s vybranými lokusy byly sestaveny do multiplexů. Byla připravena směs primerů v požadované koncentraci a v objemu dle počtu analyzovaných vzorků.

Pro získání amplifikačních produktů byly použity horizontální elektrofrézy na 2% agarózových gelech. K vizualizaci amplifikovaných fragmentů DNA bylo použito fluorescenční barvivo GelRed. Potřebná doba elektrofrézy se pohybuje cca okolo 30 minut při určitém napětí a dalších 120 – 150 minut při vyšším napětí. Po dokončení elektrofrézy byly gely dokumentovány pod UV zářením. Zjištění velikostí amplifikovaných fragmentů v hodnotách párů je prováděno na genetickém analyzátoru.

Jedle bělokorá má diploidní sadu chromozomů. U každého sledovaného lokusu budou získány pro každého jedince dvě shodné alely v případě homozygota a v případě heterozygota dvě různé hodnoty alel. Při ověřování klonové identity se porovnávají hodnoty sledovaných lokusů u jedinců příslušných klonů. Výsledkem je genotypizace (přehled hodnot alel zvolených lokusů pro šetřené klony).

Je v plánu použít sadební materiál pro založení polosesterských testovacích výsadeb, proto bylo osivo i při výsevu v lesní školce evidováno po jednotlivých klonech. Osivo evidováno po klonech je tvořeno směsným vzorkem (odpovídajících ramet). V případě, že by byla některá z ramet chybně evidovaná a fakticky by příslušela jinému klonu, došlo by ke zjištění, že deklarované polosesterské potomstvo nemá společnou matku. K čemuž by pravděpodobně došlo už při sběru osiva, kdy nebyl evidován rodičovský strom, evidence jednotlivých oddílů zřejmě nebyla provedena ani v lesní školce, jednalo by se o nestrukturované potomstvo.

Nezbytné je reprezentativně zmapovat celou potenciální rodičovskou populaci, tedy semenný sad. Budou vybrány dvě ramety od každého klonu a budou analyzovány. Možné scénáře jsou:

- a) Každí dva jedinci evidenčně příslušní klonu budou geneticky shodní a zároveň odlišní k porovnání se všemi ostatními klony
- b) Některé ramety se nebudou shodovat – buď budou příslušet jinému analyzovanému klonu a nebo to bude úplně identický genotyp – řešením je zanalyzovat větší počet ramet (3 – 4) od problematického klonu a na základě výsledku učinit závěr
- c) Zjistí se, že některé evidenčně odlišné klony mají stejnou genetickou informaci, jsou tudíž ve skutečnosti pouze jedním klonem

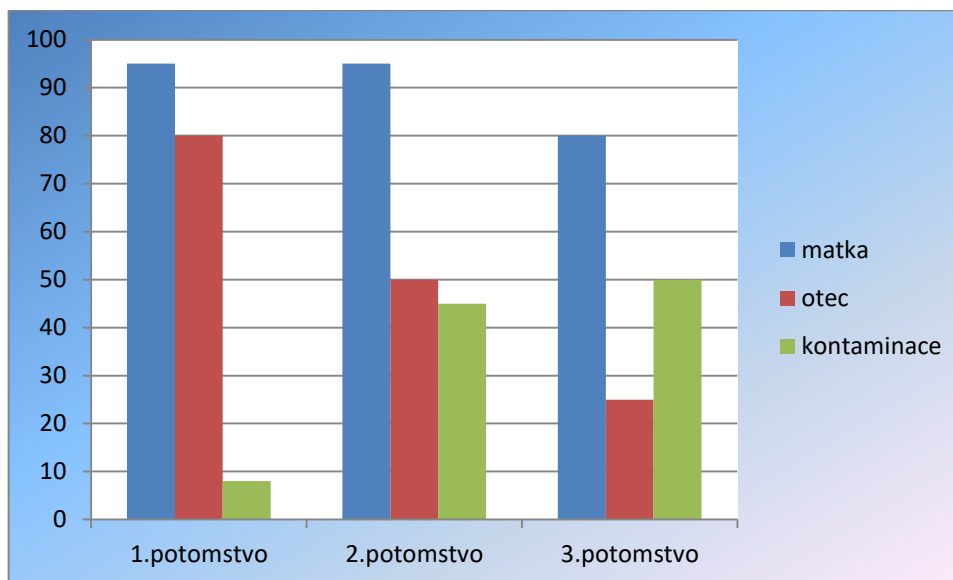
Pro ověřování deklarovaného původu a polymorfismu jedle bělokoré byly zvoleny jako DNA markery jaderné mikrosatelity (nSSR). Na pracovišti FLD je v současnosti vyvíjena metodika efektivní analýzy pomocí mikrosatelitových markerů u jedle bělokoré. Jedná se o analýzu na celkem 17 polymorfních mikrosatelitových lokusech, které jsou analyzovány ve dvou multiplexových reakcích. Ke zjištění amplifikovaných fragmentů v hodnotách párů bází se provádí na genetickém analyzátoru. Detekce fragmentových úseků je založena na hodnocení fluorescence z fluorescenčně označenými primery. Analyzátor je schopen souběžně detekovat vícebarevnou fluorescenci, to umožňuje v multiplexovém uspořádání hodnotit najednou více markerů. Vyhodnocení velikosti alel se provádí pomocí softwarového programu GeneMapper 4.1., který stanová kalibrační křivku a na jejím podkladě se vyhodnotí velikost analyzovaných fragmentů. Po získání genetických charakteristik se velikosti alel z hodnocených lokusů pro sledované soubory vzorků staticky zpracovávají za využití programu CERVUS.

Deklarovaná příslušnost jedince k danému klonu je ověřena, pokud jsou shodné hodnoty alel u všech analyzovaných lokusů. V případě, že hodnoty alel jsou shodné, je známý mateřský strom ze 100%, předpokladem tedy je, že bude dohledán i druhý rodič s minimální 50% pravděpodobností. Průběh ověřování druhého rodiče je založen na stejném principu jako ověřování prvního rodiče. Při zakládání semenných sadů, by měly být odebrány referenční vzorky z vysázených stromů a označeny číslem, tím by měly být známy genotypy všech jedinců v semenném sadu. Pokud se alely i v tomto případě shodují, jsou známy oba rodičovské stromy. Pokud se alely neshodují ze 100%, lze předpokládat výskyt možné chyby v genotypizaci a nízkého opylování pylem ze sadu, proto je možné z 95% jednoho rodiče považovat za původ ze semenného sadu a druhého rodiče při dohledaném prvním rodiči považovat z minimálně 30% za původ ze semenného sadu. Může nastat situace, kdy se shodují jen alely jednoho rodiče a druhého nikoli. To je pravděpodobně způsobeno opylením dřeviny, která se nachází mimo semenný sad.

Je možnost, že při analýze bude nalezen úplně neznámý genotyp, který při evidenci nebyl zaznamenán. S tímto genotypem lze počítat jako s potenciálním jedincem generace semenného sadu. Mnohdy se naráží na soulad, že obě ramety nesouhlasí, což může být způsobeno tím, že první genotyp je identický ke všem ostatním genotypům nebo druhý genotyp může být přiřazen k jinému klonu.

Příklad:

Bude analyzováno cca 300 jedinců po třech evidenčních mateřských potomstvech se 100 jedinci. Při získání osiva ze semenného sadu je předpokladem, že bude z 95% dohledán mateřský strom, vzhledem k tomu, že osivo se sbírá přímo z onoho stromu. Dohledání druhého rodiče (otce) je ovlivňováno spousty faktory.



Graf č. 1: Určení původu osiva sebraného v semenném sadu

V grafu jsou graficky znázorněny podíly dohledaných rodičů jedinců. V prvním mateřském porostu byl dohledán první rodič u 95 jedinců (mateřský strom). U 80 jedinců byl dohledán druhý rodič, kontaminace pylem je v malé míře, to může být způsobeno lokalizací semenného sadu, který se nachází v dostatečné vzdálenosti od okolních porostů. U druhého mateřského potomstva byl dohledán první rodič také u 95 jedinců, ovšem druhý rodič byl dohledatelný pouze u 50 jedinců a výše kontaminace oproti prvnímu porostu byla podstatně vyšší. Ve třetím mateřském potomstvu byl dohledán první rodič u 85 jedinců, to nasvědčuje tomu, že zřejmě došlo ke špatné evidenci mateřských stromů, při zakládání semenného sadu. Nebo došlo k neshodě mateřského potomstva na jednom nebo dvou místech, k čemuž mohlo dojít nesprávným homozygotním genotypem matky nebo potomstva nebo díky mutaci mezi generacemi. U 25 jedinců byl dohledán otcovský strom, vyskytující se v semenném sadu. U 50 jedinců je uvedena kontaminace pylem. Z grafu je viditelné, že přítomnost mateřská populace převyšuje ve všech třech případech nad otcovskou populací. U prvních dvou potomstvech je znám mateřský strom z 95% lze tedy říci, že se jedná o polosesterské potomstvo.

4.3 Nejrizikovější dřeviny

Podle LČR je vyzpozorováno, že mezi nejrizikovější dřeviny patří smrk ztepilý (*Picea abies*), jedle bělokorá (*Abies alba*), buk lesní (*Fagus sylvatica*) a dub zimní (*Quercus patraea*). V případě smrku ztepilého se jedná o nejdůležitější hospodářskou dřevinu, je tedy největší zájem o osivo a sadební materiál, v takovém množství může snadno dojít k záměně. O sadební materiál jedle bělokoré je také zájem, ale osiva na trhu je podstatně méně. Což může být způsobeno náročností sběru osiva. Sběr šišek z dospělých stromů jedle bělokoré může jeden trhač v některých případech stihnout jen 4 až 5 stromů za den.

Sběr osiva jedle bělokoré se provádí v září, výstupem do korun stromů a před sběrem je potřeba se ujistit, že jsou v šiškách semena, což se zjistí rozřezáním šišky. Šišky jedle obsahují až 50 % vody a jsou velmi náchylné k zapaření. Proto se musí ihned po sběru vysypat na volné plochy v tenké vrstvě. Se sběrem smrku ztepilého se začíná v prosinci, může se s ním pokračovat i po novém roce, do chvíle než se šišky začnou otevírat a semena vypadávají. Sběr semen dubu zimního a buku lesního se uskutečňuje v říjnu, kdy začíná hlavní sběrová sezóna. Nejprve opadávají suché plody, poškozené hmyzem nebo hluché. Teprve pak opadávají plody plné a zdravé. Žaludy i bukvice se sbírají ze země nebo je možnost pod plodící strom umístit síť, do kterých semena opadají. Hlavní výhodou sběru semen ze sítě je, že je zajištěn přesný původ a semena se nedostanou do kontaktu s půdou, kde může dojít k vyvolání houbové plísně. Vzhledem k vysokému obsahu vody v semenech je potřeba skladovat žaludy i bukvice v chladnějších místech v nízké vrstvě a přehazovat je, aby nedošlo k zapaření. Ze sběru semen jehličnatých a listnatých je zřetelný rozdíl v náročnosti sběru, od čehož se odvíjí cena osiva. V následující tabulce je cenový příklad podle semenného sadu v Týništi nad Orlicí.

Proč je potřebné znát původ reprodukčního materiálu lesních dřevin?

Je potřeba, aby sazenice včas s co nejmenšími ztrátami po výsadbě odrostly do fáze zajištěné lesní kultury, a aby z hlediska druhového složení a původu vytvářely předpoklad pro budoucí naplnění všech požadovaných funkcí lesa včetně zajištění odolnosti a stability zakládaných lesních porostů (JURÁSEK, MARTINCOVÁ 2000). Dobrý dědičný základ reprodukčního materiálu je jednorázovým vstupem do produkčního cyklu lesa a k tomu, aby se realizoval, není zapotřebí průběžně vynakládat dodatečné

prostředky. Pro produkci a ekologickou stabilitu lesa je důležitý kvalitní zdroj a vhodný původ reprodukčního materiálu než technická kvalita sadebního materiálu.

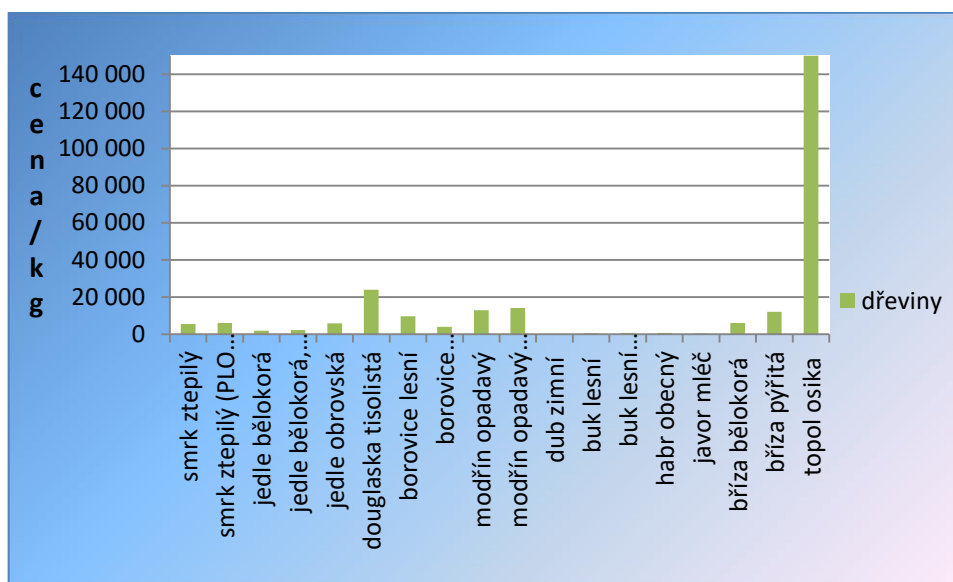
Při uvedení sadebního materiálu do nevhodného výškového pásma se mohou objevovat hromadné korunové zlomy již ve stadiu tyčkovin, nejen v případě smrku ztepilého, ale i u buku lesního ve vyšších polohách v důsledku námrazy. Mezi důležitý znak lesních dřevin je produkční schopnost, v případě použití nekvalitního sadebního materiálu, dochází k produkčním ztrátám. Mimo produkční ztráty se jedná i o růst dřevin, který je pomalý, dochází ke křivosti kmene, k vidličnatosti, koruny stromů jsou řídké. Konkrétním případem, kde byl použit nepůvodní sadební materiál je porost na Šumavě, konkrétní lokalita je Soumarský most, kde je smrkový porost tvořen ze 70% dvojáky.

Rizikových míst záměny reprodukčního materiálu je několik, počínaje od zdroje pro sběr osiva až po expedici sazenic. Problém je z evidencí, osivo je sebráno z jiného stromu nebo například z neuznané jednotky, k čemuž by nemělo docházet, když se sběry kontrolují. Dále může dojít ke smíchání semen při skladování a dopravě. Tyto nedostatky mohou vznikat zejména v souvislosti se sklizní semen výkupem. K porušování zásad může dojít i v lesních školkách, kde je původ reprodukčního materiálu na místech použití nesprávně indikován. Při vyzvedávání sazenic a při expedici může dojít k úmyslné záměně.

Úmyslné záměny reprodukčního materiálu bezpochyby nejvíce ovlivňuje ekonomická stránka, kdy buď velký zájem nebo naopak nezájem o reprodukční materiál. V roce 2007 byl na jižní Moravě nezájem o sadební materiál smrku ztepilého a dubu zimního, v tomto případě by se mohlo předpokládat, že školkaři poskytli sadební materiál vypěstovaný pro jižní Moravu i do jiných lokalit, kde nejsou vhodná stanoviště pro dané dřeviny. Problémem jsou i příhraniční přenosy, kdy se jedná o cenu sadebního materiálu (např. v Polsku je k dispozici podstatně levnější sadební materiál než v České republice). Je prokázáno, že i z České republiky byl nelegálně vyvezen sadební materiál s doklady, které neodpovídaly skutečnosti, konkrétně se jedná o Lotyšsko. Tento problém se může odhalit až s odstupem času, kdy už je pozdě, ale na postih dodavatele nikoli. Já osobně si myslím, že by měl být kontrolován každý nahlášený sběr, tím bychom se vyhnuli omylům při sběru semenné suroviny. V případě, že dojde k problému v jiném kroku produkčního řetězce, mohli bychom zpřísnit postihy (okamžitý odběr licence s nenávratnou možností získání).

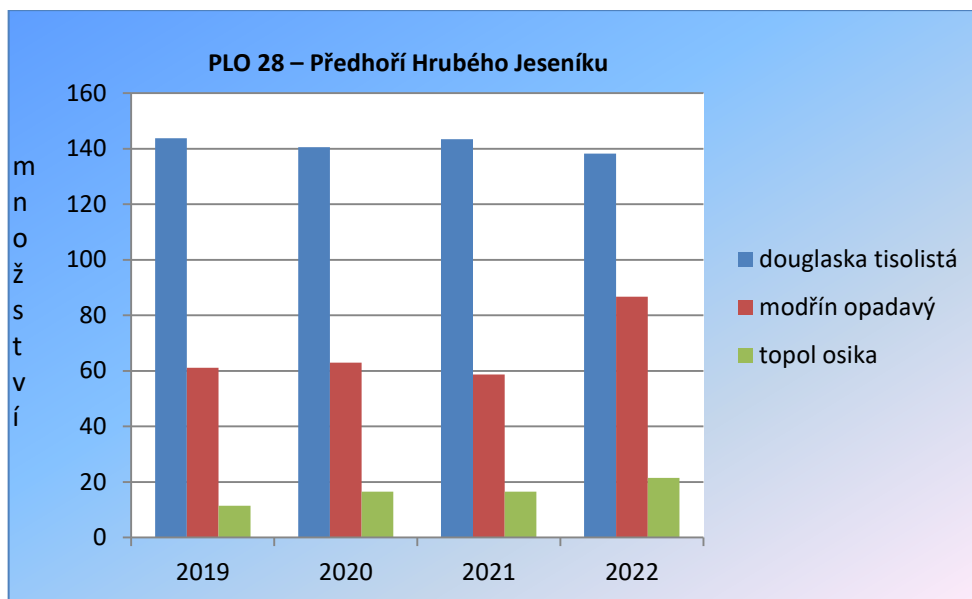
Výhledové potřeby sadebního materiálu pro roky 2019 – 2022

Lesy České republiky vychází z předpokládaného rozsahu obnovy lesa, zajišťovaného sadebním materiálem z externích zdrojů, aktuálního podílu přirozené obnovy, která činí 30% a odhadovaného vývoje klimatické situace v ČR. Na webových stránkách www.lesy.cz je možné najít seznam pověřených pěstitelů LČR.

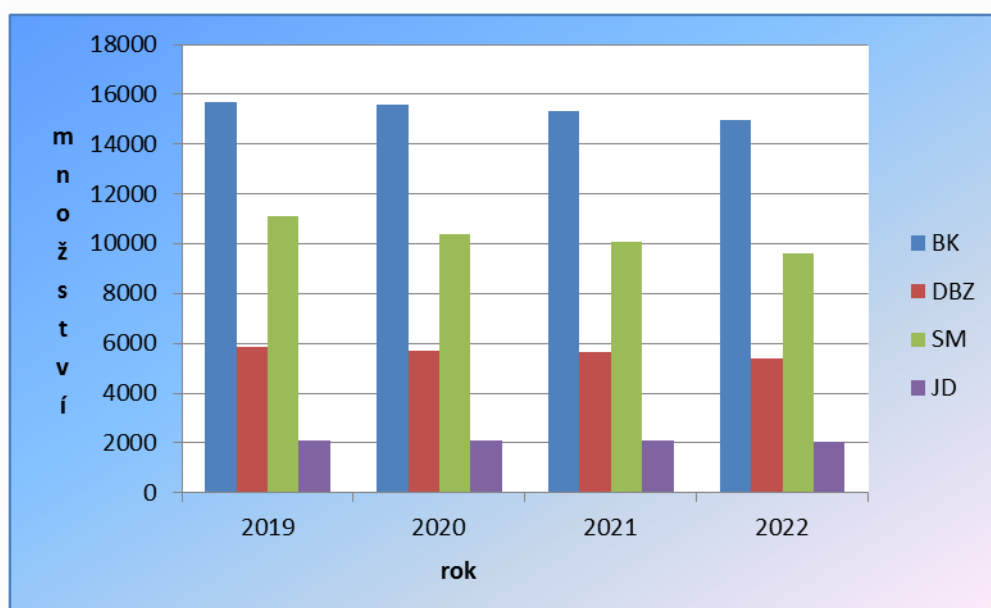


Graf č. 2: Cena osiva jehličnatých a listnatých dřevin (Kč/kg)

Z grafu jsou viditelné ceny osiva vybraných jehličnatých a listnatých dřevin. Můžeme vidět, že nejvyšší cena je u topolu osiky, jehož cena sahá až na 150 000,- Kč/kg, ale zájem o osivo topolu osiky je minimální. Nejvyšší potřebu osiva topolu osiky má v PLO 28 – Předhoří Hrubého Jeseníku. Potřeba není tak vysoká oproti jiným dřevinám, na grafu č. 2 můžeme vidět rostoucí potřebu tohoto osiva. Vzhledem k ceně osiva by se mohlo předpokládat, že dojde k záměně materiálu v produkčním řetězci. Podobný případ se vyskytuje i u modřínu opadavého, kde je největší potřeba v roce 2022. Rozdíl oproti potřebě v roce 2021 je 28 000 sazenic. Ovšem modřín opadavý je žádaný i v jiných přírodních lesních oblastech např. PLO 27 – Hrubý Jeseník a PLO 1 – Krušné hory. Cena osiva se odvíjí podle náročnosti sběru. Specializované trhačské firmy požadují za sběr osiva z 1 stromu cca 600 – 700 Kč/jehličnan a více než 1 000 Kč/listnáč, ač sklizeň některých listnatých stromů je snazší ve srovnání s jehličnatými stromy. Skutečnou výši cena za sklizeň osiva ovlivňuje celá řada faktorů. Jde například o vzájemnou vzdálenost mezi stromy, z nichž je osivo sklízeno, bohatost úrody, možností výstupu do korun, apod.



Graf č. 3: Potřeba sadebního materiálu podle let 2019 – 2022 u vybraných dřevin (tis.ks)



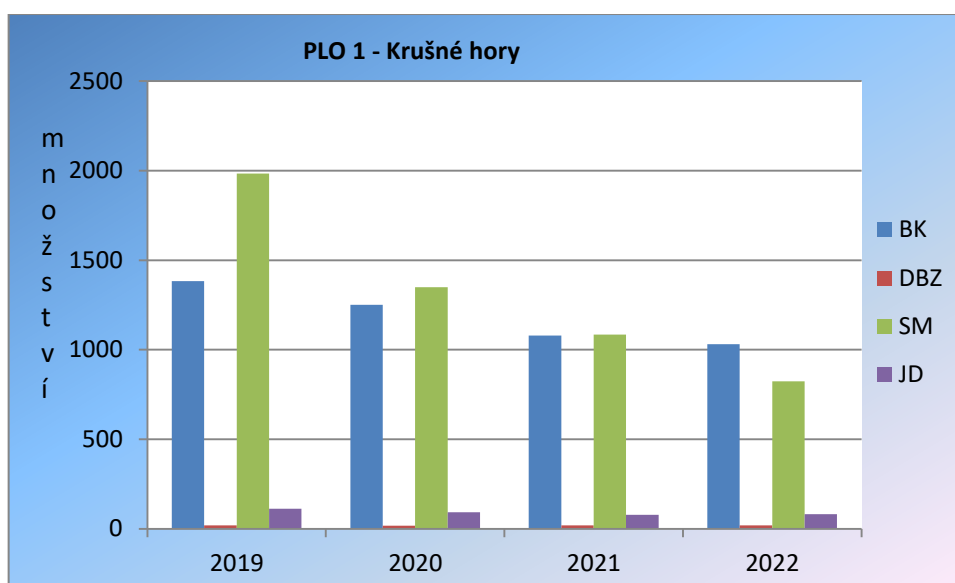
Graf č. 4: Potřeba sadebního materiálu pro roky 2019–2022 u nejrizikovějších dřevin (tis. Ks)

Graf byl vytvořen pomocí dat, které jsou k dispozici na portálu <http://lesy.cz>. Byla použita data ze všech PLO, mimo PLO 22, na jejímž území Lesy České republiky neobhospodařují majetek. V tomto grafu můžeme vidět předpokládané potřeby sadebního materiálu pro rok 2019 – 2022. Jak je již výše zmíněno, mezi nejrizikovější dřeviny na území České republiky patří smrk ztepilý, jedle bělokorá, dub zimní a buk lesní. V následujícím grafu č.3 jsou znázorněny potřeby sadebního materiálu pro roky

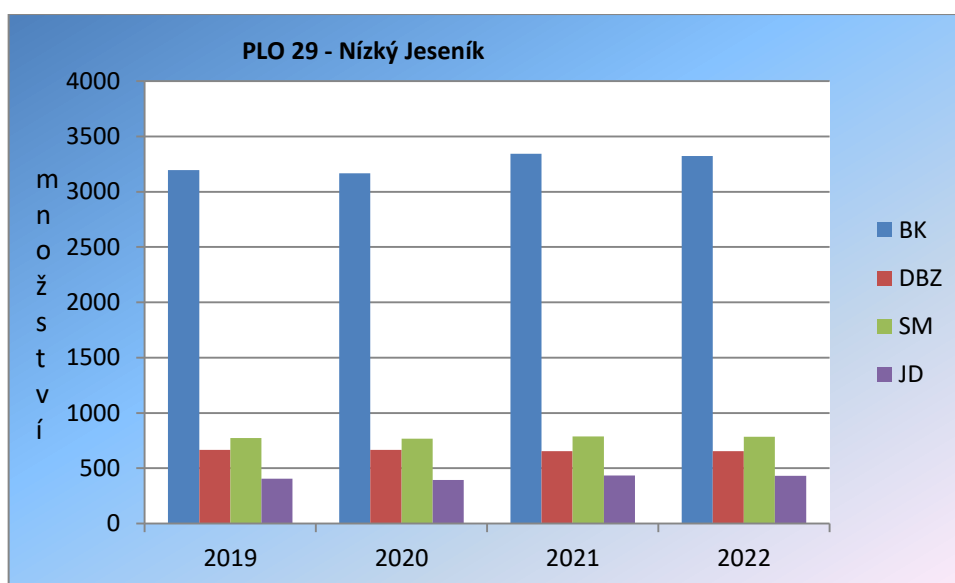
2019 – 2022. Převažuje buk lesní, na druhé pozici se nachází smrk ztepilý. Otázkou je zda – li je vhodné smrk ztepilý nadále vysazovat v tak velkém množství, když právě smrkové porosty na území České republiky odumírají díky abiotickým i biotickým faktorům. Bylo by dobré zvážit náhradu naší nejdůležitější dřeviny. Vysoké zastoupení smrku na území všech přírodních lesních oblastí se výrazně zvýšilo na úkor směsí jedle, buku, případně i dalších přimíšených dřevin. Došlo k narušení genetické kvality přirozených smrkových lesů, k zavedení borovice kleče ve vysokohorských polohách. Problémem lesů je tak nižší ekologická stabilita a malá část lesů s přírodě blízkou druhovou skladbou. Důsledkem toho jsou poměrně časté a rozsahem vysoké kalamity způsobené abiotickými a biotickými faktory. Sucho velmi výrazným způsobem ovlivňuje smrk, který pak napadají hlavně kůrovci a ničí náš nejvýnosovější strom. Ve východních Čechách odumírají borovice také důsledkem sucha. Borovice jsou poté napadeny různými houbami a dochází k masivnímu úhynu. Borovice rostoucí v nížinných oblastech a na velmi chudých půdách je těžko nahraditelná jinou dřevinou.

V úvahu připadá pouze bříza nebo dub. Na severní Moravě dochází k rychlému úbytku smrků. Dřevina, která by mohla nahradit smrk, je douglaska tisolistá (*Pseudotsuga menziesii*), ale jedná se o nepůvodní dřevinu, tudíž při její výsadbě vše závisí na dohodě s orgány ochrany přírody. Další náhradou za smrk by mohla být jedle nebo modřín. Smrk je nahraditelný i listnatými dřevinami, které by mohly lesy stabilizovat. Dub je na tom velmi dobře z hlediska odolnosti a stability lesa, mohl by brát v úvahu jako náhrada za borovici. Podobně je tomu tak i buku, který dokáže odolávat dlouhým obdobím lesa. Obecně by měly být v nižších polohách vysazovány zejména listnáče – javory, duby, topoly, na suchých a chudých stanovištích je nejvíce uplatňována borovice. Pravděpodobnou příčinou šíření lýkožrouta severského z míst jeho původního výskytu jsou klimatické změny a rozšíření smrkových porostů na nepůvodní stanoviště. Dochází i k napadení porostů mladších 40 – ti let, což vede k velké produkční ztrátě. Kalamita, která potkala severní Moravu, čeká v nejbližších letech podle Erbera například i Vysočinu, kde je velké procento těchto lesů.

Bylo by vhodné se zamyslet i nad tím, jak zalesňovat holinu vzniklou po kalamitě. Každá hlavní cílová dřevina by měla být vysazována s jednou pomocnou dřevinou, která cílové dřevině poskytne případný zástin a pomůže k vyššímu růstu vyšší kvality dřeva. Bylo by vhodné výrazně zvýšit druhové složení lesa, již při zalesnění. Žádná monokultura není dobrá, přírodě svědčí druhová pestrost. Čím je les pestřejší, tím je odolnější, vysazované monokultury v minulosti měly hlavní cíl zisk.



Graf č. 5: Výhledové potřeby sadebního materiálu pro Krušné hory



Graf č. 6: Výhledové potřeby sadebního materiálu pro Nížký Jeseník

Pro demonstraci byly vybrány dvě přírodní lesní oblasti Krušné hory a Nížký Jeseník, oblasti byly vybrány podle nejvyšší potřeby sadebního materiálu.

Pro PLO 1 je nejvyšší předpokládaná potřeba smrku ztepilého, nejvyšší potřeba je v roce 2019 a každý rok klesá. Otázkou je, zda – li je výsadba smrku v takovém množství rozumná, když se Krušné hory potýkají s kloubnatkou smrkovou (*Gemammyces picea*). Z grafu č. 5 vidíme potřeby sadebního materiálu pro Nížký

Jeseník, kde je nejvyšší potřebné množství buku a u zbývajících třech dřevin je potřeba téměř vyrovnaná. Tento graf vypovídá o náhradě smrku za buk. Příměs jedle, dubu a smrku by měla do budoucna vytvořit odolné a stabilní smíšené porosty. U jedle bělokoré a buku lesního je potřeba stoupající, u buku se potřeba navýší o 126 900 sazenic a u jedle o 26 520 sazenic, zde by mohlo dojít jednoduše k záměně sadebního materiálu vzhledem k potřebě velkého množství.

5 DISKUZE

Ve vlastní výzkumné části je popsán postup ověření identity sadebního materiálu jedle bělokoré ze semenného sadu I. generace. Byly hledány oba rodiče jedince, matka byla nalezena, ale otec byl těžko dohledatelný nebo vůbec nenalezený. Problém mohl nastat několika případy, jak je již výše zmíněno. Velkou pravděpodobností je, že došlo ke kontaminaci pylem z okolního porostu. Nalezení otce pocházející ze semenného sadu vykazuje nižší procento oproti nalezení mateřského stromu, který vždy nalezen s 95% pravděpodobností, 5% vzniká tím, že testovaný jedinec nezachytil profil rodičovské populace, nebo je nesprávný homozygotní genotyp matky nebo potomstva, který může vzniknout díky mutaci mezi generacemi, testovací program vygeneruje nulové alely. Ve výzkumné části práce bylo jedno potomstvo, kde byli z cca 90% dohledány oba rodiče, lze tyto soubory jedinců označit jako plnosesterské potomstvo.

Ke kontaminaci semenného sadu pylem z okolí značně kolísá, ale odhady jsou většinou poměrně vysoké, často sahají až k 50%. Např. borový pyl může v ideálních podmínkách doletět až desítky kilometrů, zdají se být opatření pro zabránění kontaminace z okolí zbytečná. Je však více než pravděpodobné, že právě vzdálenost pylového producenta a jeho receptora je pro úspěšné opylení zásadní a rozhodující. Podle WHITEA ET AL (2007) je zřejmé, že izolační vzdálenost 150 metrů efektivně nesnižuje možnou kontaminaci pylem u semenných sadů jehličnatých dřevin a pro minimální ochranu je třeba vzdálenost od 500 do 1000 metrů (ADAMS A BURZCZYK 2000). Ani tyto vzdálenosti nemohou zcela zabránit kontaminaci, je dokázáno, že pyl se přenáší i z porostů, které jsou vzdáleny více než 50 km (DIGIOVANNI ET AL., 1996).

Podle studie KORECKÝHO a EL – KASSABYHO (2016) se v semenném sadu douglasky tisolisté, kde probíhá víceletý výzkum, vyskytuje z celkové populace 37 – 52% rodičovské populace, 10 – 18% kontaminovaných jedinců a 12 – 17% samoopylených jedinců (LAI ET AL., 2010, KESS A EL-KASSABY 2015). Dále KORECKÝ, LSTIBŮREK a EL – KASSABY představují kontaminaci pylem v semenném sadu borovice lesní, kde uvádějí, že odhady kontaminace semenných sadů pylem jsou vysoké v rozmezí 21 – 70%. Podle jejich studie v semenném sadu borovice lesní byl deklarovaný původ rodičů 90% a 4,2 – 3,9 % kontaminace pylem. Identifikovali několik faktorů, díky kterým došlo ke snížení kontaminace pylem – 1) snížením znaků dědivosti 2) aktuální úroveň genového toku 3) výběr mezi rodiči sadu a dárců cizího pylu a za 4) podíl testu na potomstvu, na základě vhodného výběru. Jiní autoři, např.

MÁCHOVÁ, CVRČKOVÁ A MALÁ (2014) analyzovaly semenný sad smrku ztepilého kde, došlo ke shodě genotypových profilů jedinců až v 75 %, ve 20% byl odlišný jeden roubovanec a v 5% byla pozorována odlišnost u 2 roubovanců. Celkově byla deklarovaná klonová příslušnost potvrzena u 94% roubovanců. V semenném sadu borovice lesní je po Semenné sady jsou předmětem značného genetického toku (SLAVOV ET AL, 2005), jež v podstatě ovlivňuje genetickou efektivitu (EL-KASSABY, 1989). Rozsah genového toku je určen intenzitou produkce pylu v rámci semenného sadu (CHUNG, 1981) a stupněm asynchronie mezi rodiči v semenném sadu, stejně tak i případnými vnějšími zdroji opylení (TOTIMARU ET AL., 2009; NIKKANEN ET AL, 2002).

U porostů identifikované a selektované kategorie je podstatně náročnější podchytit oba rodiče, vzhledem k tomu, že neznáme jejich genotypy. Identifikace mateřského stromu v případě jedle, smrku, borovice a modřínu je snadná, vzhledem k tomu, že se šišky sbírají z konkrétních stromů. U listnatých dřevin už může být mateřský strom zavádějící, v případě, že je osivo sbíráno z plachet, které jsou pod stromy. WRIGHT (1976) zmiňuje, že se semena a pyl často šíří pouze na krátké vzdálenosti, a proto bývají stromy v určitém okruhu blízce příbuzné, tudíž volba donorových jedinců zohledňující, tento poznatek může zúžení genetické diverzity omezit. Lehká semena bříz, vrb nebo topolů může vítr odvádět až několik kilometrů. Smrk, modřín a borovice dokáží vytvořit souvislý nálet do 30 – 40 m. U dřevin s těžkými semeny (buk, dub) dochází v podstatě k svislému dopadu plodů pod korunu.

V zahraničí jsou mikrosatelity u lesních dřevin využívány již od počátku 90. let 20. století, kdy postupně nahrazovaly dříve používané biochemické markery (izoenzymy, monoterpeny) a dnes se staly standardním nástrojem pro využití v lesnické genetice a šlechtění lesních dřevin (WHITE ET AL. 2007). V České republice tomu bylo podobně, dříve se využívaly izoenzymy, které vylišovaly polymorfismus i v případě, kdy nebyl přítomný. To udávalo velmi diskutabilní výsledky. V současné době se pro výzkum využívají mikrosatelity, které jsou přesnější. Pro zavedení mikrosatelitů k ověření deklarovaného původu je problémem finanční náročnost zavedení tohoto systému, ovšem GILL (1983) srovnával ekonomickou efektivitu osiva ze semenných sadů s vegetativním reprodukčním materiálem. V porovnání s vegetativní propagací bylo osivo vyhodnoceno jako ekonomicky efektivnější způsob produkce reprodukčního materiálu.

System založený v České republice, spočívá pouze ve fyzické kontrole sběru reprodukčního materiálu a nakládání s ním. Aby došlo k předcházení falešných dokumentů spojených s reprodukčním materiálem, bylo by vhodné povznést tuto problematiku nahoru a zavést k ověření identity genetické markery. KONNERT A RUETZ (2006) zmiňují, že v Německu docházelo pravidelně k falšování dokumentů k reprodukčnímu materiálu, tudíž docházelo k použití nevhodného reprodukčního materiálu pro danou oblast, s nižším růstem, zvýšenou úmrtností. Proto bylo nutností v Německu zavést certifikační systém ZüF, který používá znaky, se kterými nelze manipulovat. K ověření identity se porovnávají referenční vzorky osiva se vzorky sadebního materiálu z lesních školek. Pokud by se tento systém založil i na území ČR jistě by o reprodukční materiál s ověřeným původem byl enormní zájem, vzhledem k situaci českého lesnictví. Při ověřování identity bylo sestaveno 8 mikrosatelitových lokusů, které byly sestaveny pomocí dvou multiplexů Tento postup k ověření identity dubu letního použili ve své studii i DEGEN, HÖLTKEN A ROGGE (2010). Tato studie ukázala, že pro vyšší přesnost testu by bylo vhodné použít více než 8 mikrosatelitů. Pro terénní studii bylo vybráno pět semenných sadů dubu letního, u kterých se úplný genotyp semenáčků shodoval v 65%.

Podle potřeby sadebního materiálu pro následující roky by bylo vhodné zvážit potřebu smrku ztepilého, mohlo by se pojednávat o náhradě jinou dřevinou, aby do budoucna nedocházelo ke stejnému stavu lesů, jakož je tomu v současné době. Ten a ten uvádí, že do vyšších (horských) poloh by bylo vhodné použití buku lesního, javoru klenu a jedle bělokoré. Při výsadbách by bylo vhodné použít silnější sadební materiál (výška 50 – 70 cm) než bývá v horách doporučováno (již od 30 cm výše, LOKVENC ET AL. 1992), případně obalované sazenice s dobře vyvinutým kořenovým systémem. Z pionýrských listnáčů připadá ve vyšších polohách v úvahu především bříza pýřitá, bříza karpatská, olše lepkavá, olše šedá, osika. U těchto dřevin je předpokládána pozitivní stabilizační a meliorační vliv na nově zakládané porosty. Do nižších poloh zpravidla smrk nepatří, proto stojí za zmínku náhrada této dřeviny i v těchto polohách. Jedná se o dřeviny jedle bělokoré, buku lesního a javoru klenu. V níže položených CHS plní bukové (jedlové a klenové) výsadby i funkci produkční, K vhodnému použití se řadí i modřín opadavý a pionýrské dřeviny, které jsou zmíněné výše u horských poloh (BALCAR A SPOL. 2007).

6 ZÁVĚR

Cílem práce bylo nastínit problém s nakládáním reprodukčního materiálu na území České republiky. Hlavním důvodem proč by měl být zaveden systém k ověřování deklarovaného původu pomocí nástrojů molekulární biologie je, zajištění jistoty reprodukčního materiálu od jeho získání až po dodání ke konečnému spotřebiteli jasně identifikovaného. Při zavedení nového systému ověření původu sadebního materiálu by došlo k velkému posunu problematiky garance původu sadebního materiálu. Kontrola reprodukčního materiálu lesních dřevin na bázi molekulárně – genetických metod by byla nastavena na téměř totožném systému jako v Německu (ZüF), kdy je reprodukční materiál sledován od sběru osiva až po vypěstování sazenic, referenční vzorky jsou odebírány při sběru osiva a jsou geneticky porovnávány s dopěstovanými sazenicemi. V momentě, kdy je k dispozici vhodný porovnávací materiál, lze ověřit původ, příslušnost sazenic k určitému oddílu apod. Národní program, jakožto podporovatel kvalitních genetických zdrojů v souladu s naplňováním svých cílů by měl stanovit metodické postupy molekulárně – genetického ověřování původu reprodukčního materiálu pro potřeby státní správy lesů, koordinátora Národního programu a budoucí účastníky Národního programu, tedy vlastníky genetických zdrojů lesních dřevin.

Molekulárně – genetické analýzy jsou zatím stále poměrně drahé, což je dáno především náklady na potřebné chemikálie a přístrojové vybavení. Získání znalostí o genetické struktuře domácích populací lesních dřevin má značnou hodnotu z vědeckého hlediska, ale i z hlediska praktického dopadu na lesní hospodářství ČR. Využívání zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin s vysokou genetickou variabilitou ve svém důsledku znamená i zvyšování kvality obnovovaných či nově zakládaných lesních porostů, a tím dosahování vyšších budoucích ekonomických efektů. V případě, že by se podařilo prosadit zavedení molekulárních – genetických metod do systému České republiky, byla by potřeba finanční podpory, která by byla jistě podpořena dotací od státu. Okamžitá úspora při pořízení levných sazenic ze zdrojů pochybné kvality nebo původu je přitom zanedbatelná v porovnání s komplikacemi, které jejich použití napáchá.

Bylo by vhodné zakládat, co nejvíce semenných sadů v České republice, kde by byla jistota maximální produkce semen, ale také dosažení vysoké genetické kvality osiva. Ověření původu sadebního materiálu pomocí genetických markerů by bylo mnohem jednodušší, vzhledem k tomu, že se při zakládání semenných sadů jsou

odebrány referenční vzorky a je vedena evidence o všech jedincích. V případě otcovského stromu nemusí dojít vždy ke shodě, vzhledem k tomu, že může dojít ke sprášení pylem stejné dřeviny nacházející se mimo sad, proto by bylo vhodné při zakládání semenného sadu dbát na volbu místa, aby se vyloučila kontaminace pylem. Samozřejmě, že může dojít i v semenném sadu k pochybení, které může vzniknout různými způsoby, počínaje chybným označením roubů při sběru, roubovanců při roubování při výsadbě, při vylepšování nebo přehlédnutí toho, že po uhynutí roubu v sadu roste pouze podnož, vedená jako roubovanec. IVANEK ET. AL (2009) zmiňuje, že problémy týkající se skutečné identity roubovanců jsou známy u semenných sadů borovice lesní, smrku ztepilého a modřínu opadavého a dokladovány i ze zahraničí (např. Německo, Lotyšsko). U reprodukčního materiálu kvalifikované kategorie je podstatně snazší zjistit původ, než u reprodukčního materiálu kategorie identifikované a selektované, kdy neznáme identitu jednotlivých stromů v porostu, tím pádem je mnohem složitější najít mateřský strom.

K hlavním problémům, které je třeba řešit v rámci návrhu semenného sadu jsou:

- 1) omezení kontaminace úrody osiva pylem z okolních porostů,
- 2) vytvoření takových podmínek, aby sprášení bylo rovnoměrné po celé ploše sadu,
- 3) zajištění maximálního počtu kombinací pomocí rozmístění, s cílem zajistit maximální genetickou proměnlivost,
- 4) minimalizace inbreedingu (křížení) (VAN BUIJTENEN 1971).

V kontrole původu reprodukčního materiálu lesních dřevin nejdále pokročilo pravděpodobně Německo (pracoviště Bavarian Office for Forest Seeding and Planting, Teisendorf), kde byla vytvořena široká databáze referenčních vzorků, které jsou odebírány již při sběru osiva a poté v následujících krocích produkce sazenic, a které jsou geneticky porovnávány pomocí izoenzymových a DNA analýz s dopěstovaným školkařským materiálem, což v současnosti představuje věrohodný způsob ověřování původu.

7 LITERATURA

ADAMS, W.T., BURCZYK, J.: Magnitude and implication of gene flow in gene conservation reserves. 2000. In: Forest Conservation Genetics: Principles and Practices, Young, A., Boshier, D. and Boyele, T. (eds), CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia, s. 215-224.

AGRAVAL, M., SHRIVASTAVA, N., PADH, H. (2008): Advance in molecular marker techniques and their applications in plant science. *Plant Cell Rep*, 27 s. 617-631.

ARBEZ, M., FADY, B., FERRANDES, P. (1990): Variable et amelioration genetique des sapins mediterranneens- Cas du sapin de Cephalonie (*Abies cephalonica* Loud.). International workshop: Mediterranean firs- Adaption, selection and silviculture. Avignon, France, 11.-15.6.1990, s.43-57.

BEDNÁŘ, J., VYHNÁNEK, T. (2011): Genetika rostlin. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, s.146. ISBN: 978-80-7157-814-7.

BERNHARDT, O.(1996): Forstbaumschulen in der Krise. *Allg. Forstz.*, 51, s. 1062.

BROWN, T.(2007): Klonování genů a analýza DNA: úvod. 1. České vyd. Překlad Martin Fellner. V Olomouci: Univerzita Palackého, 389 s. ISBN 978-802-4417-196.

BUIJTENEN, J. P. VAN. (1971): Seed orchard design, theory and practice. In: Proceedings of the 11 th Southern Forest Tree Improvement Conference. 15.16.June 1971, Atlanta, Georgia.

Bundesforschungszentrum für Wald. Ökologische Genetik und Biodiversität. Wien: Bundesforschungszentrum für Wald, [2017] [cit. 2018-18-04]. Dostupné z WWW:

< <https://bfw.ac.at/rz/bfwcms.web?dok=4167> >

BURCZYK, J., PRAT D. (1997): Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco: the effects of spatial structure and flowering characteristics. *Heredity* (Edinb), 79:638–647.

BURDA, P. (2009): Ověření pěstebních postupů a využití nových školkařských technologií při pěstování sadebního materiálu lesních dřevin a posouzení kvality vyprodukovaného materiálu. Praha, s.107.

CREMER, E., LIEPELT, S., SEBASTIANI, F., BUONAMICI, A., MICHALCZYK, I. M., ZIEGENHAGEN, B., VENDRAMIN, G.G. (2006): Identification and characterization of nuclear microsatellite loci in *Abies alba* Mill. *Molecular Ecology Notes*, 6:374-376.

CVRČKOVÁ, H., MÁCHOVÁ, P.(2016): Genetická charakterizace jedle bělokoré pomocí mikrosatelitových markerů. Lesní průvodce, ISBN 978-80-7417-117-8.

Česko. Ministerstvo zemědělství. Zákon č. 149 ze dne 23.5.2003 o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin). In *Sbírka zákonů České republiky*. 2003, částka 57, s. 3279. Dostupné také z WWW: <<https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-149>>

Česko. Ministerstvo zemědělství. Zákon č.29 ze dne 29.1.2004 o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. In *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 9, s.466-528. Dostupné také na z WWW: <<file:///C:/Users/NB/Downloads/sb009-04.pdf>>

ČEŠKA, P. (2009): Reprodukční materiál lesních dřevin. *Vesmír* 88. 2009/7, s.59.

DEGEN, B., HÖLTKEN, A., ROGGE, M. (2010): Use of DNA-Fingerprints to Control the Origin of Forest Reproductive Material. *Silvae Genetica* 59, s. 268-273.

DIGIOVANNI, F., KEVAN, P., ARNOLD, J. (1996): Lower planetary boundary layer profiles of atmospheric conifer pollen above a seed orchard in northern Ontario, Canada. *Forest Ecology and Management*. roč. 83, s.87-97.

EL – KASSABY, Y.A.(1989): Genetics of Douglas-fir seed orchards: expectation and realities. In *Proceeding of the 20th Southern Forest Tree Improvement Conference*, 20-30 June 1989, Charleston, South Carolina. Sponsored Publ. No.42, Southern Forest Tree Improvement Committee, s. 87-109.

EL-KASSABY, Y. A. (1995): Evaluation of the tree-improvement delivery system: factors affecting genetic potential. *Tree Physiol.* 15:545–550.

FOLTÁNEK, V. (2007): Aktuální problematika lesního školkařství. Brno. Sdružení lesních školkařů české republiky. Lesnická práce č.01/07.

FRANKE, A. (1963): Situation am Forstbaumschulen in progeny tests of Scots pine (*Pinus sylvestris L.*). *Studia forestalia suicca* 10, s.130.

FREELAND, J. R. (2005): *Molecular ecology*. – John Wiley and Sons, Ltd., England, 388 pp.

GILL, J.G.S. (1983): Comparison of production costs and genetic benefits of transplants and rooted cutting of *Picea sitchensis*. *Forestry*. roč. 56, s. 61-73.

GÖMÖRY, D., KRAJMEROVÁ, D., LONGAUER, R. (2012): Admixture of genetic lineages of different glacial origin: a case study of *Abies alba* Mill. In the Carpathians. *Plant Systematics and Evolution*, 298:703-712.

GÖMÖRY, D., PAULE, L.(1992): Inferences on mating system and genetic composition of a seed orchard crop in the European larch (*Larix decidua* Mill.). *Journal of Genetics and Breeding*, 46, č. 4, s. 309-313.

HANSEN, O.K., VENDRAMIN, G.G., SEBASTIANI, F., EDWARDS, K.J. (2005): Development of microsatellite markers in *Abies nordmanniana* (Stev.) Spach and cross-species amplification in the *Abies* genus. *Molecular Ecology Notes*, 5: 125-129.

HOSIUS, B., HENKEL, W., BERGMANN, F., HATTERMER, H. H.(1996): Erkennung von Verstößen gegen das Gesetz über forstliches Saat-und Pflanzgut. *Allg. Forstz.*, 53, č.26, s. 1450 – 1451.

CHELIAK, W. M., PITEL, J. A. (1984): Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Petawawa National Forestry Inst., Canadian Forestry Service, Agriculture Canada.

CHUNK, M.S. (1981): Flowering characteristics of *Pinus sylvestris* L. with special emphasis on the reproductive adaptation to local temperature factor. *Acta for Fenn.* roč.169, s.5-68.

JANEČEK, V. (2006): Novošlechtění jedle. Praha. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin.

JURÁSEK, A., MARTINCOVÁ, J. (2000): Návrh národního standardu kvality reprodukčního materiálu lesních dřevin. Sborník referátů z celostátního odborného semináře s mezinárodní účastí. Opočno, 7. – 8. března 2000. Jíloviště – Strnady, VÚLHM, s. 9 – 20.

KANÁK, J. (2011): Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní v západních a jižních Čechách. Praha. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin.

KANTOR, J. A KOL. (1975): Zakládání lesů a šlechtění lesních dřevin. Státní zemědělské nakladatelství Praha. s.526.

KONNERT, M., RUETZ, W. (2006): Genetic aspect of artificial regeneration of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in Bavaria. *Eur. J. For. Res.* 125, 261-270.

KORECKÝ, J., LSTIBŮREK, M., EL – KASSABY, Y.A. (2014): Congruence between theory and practice: reduced contamination rate following phenotypic pre-selection within the Breeding without Breeding Framework. Department of Genetics and Physiology of Forest Trees, Faculty of Forestry and Wood Science, Czech university of Life Science Prague. Vol.29, No. 6, 552-554.

KORECKÝ, J. (2016): Moderní školkařské technologie a jejich využití v lesnictví- Praktické využití nástrojů molekulární genetiky v lesnictví. Sdružení lesních školkařů z.s. Tečovice, s. 39-43.

KORECKÝ, J., EL – KASSABY, Y.A. (2016): Pollination dynamics variation in a Douglas-fir seed orchard as revealed by microsatellite analysis. *Silva Fennica*,, s. 1-12.

KOTRLA, P., PAŘÍZEK, M., CAFOUREK, J. (2008): Kontrola identity RM pomocí genetických markerů. *Lesnická práce.* 10/08.

LERCETEAU, E., ROBERT, T., PÉTIARD V., GROUZILLAT, D. (1997): Evolution of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 10-19.

LONGAUER, R., GÖMÖRY, D. (2014): *Lesnická genetika.* Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. s. 134.

MÁCHOVÁ, P., CVRČKOVÁ, H., MALÁ, J.: Využití mikrosatelitových markerů pro hodnocení semenného sadu smrku ztepilého. *Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Strnady*, 2014 (4). s. 243-249.

MANIATIS, T., FRITSCH, E., SAMBROOK, J.: *Molecular cloning: a laboratory manual.* Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982, 545 p. ISBN 08-796-9136-0.

MAUER, O., a kolektiv (2013): *Pěstování sadebního materiálu,* Mendelova univerzita v Brně, ISBN: 978-80-7375-698-7.

Ministerstvo zemědělství. *Informační systém Evidence reprodukčního materiálu* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2009-2018. Dostupné z WWW:

<<http://eagri.cz/public/app/uhul/ERMA2>>

MUELLER, U. G. – WOLFENBARGER, L. L.: AFLP genotyping and fingerprinting. Elsevier science, 1999, 14.

MULLIS, K.B. (1990): The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*. 262 (4):56-61. 64-5.

NIKKANEN, T.: Functioning of Norway spruce (*Picea abies*) seed orchard = Kuusen siemenviljelyksen toimivuus. Punkaharju: Punkaharjun Tutkimuskeskus, 2002. ISBN 951-40-1820-3.

NEI, M.: Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 1972. 106: 283–392.

NĚMEC, P. (2015): Současný stav lesního semenářství. In: Quo vadis lesnictví? I. Kam kráčí lesní semenářství a školkařství? Sborník příspěvků. Brno, ČLS při LDF MENDELU v Brně: s. 33–40.

NOVOTNÝ, P., FRÝDL, J., ČÁP, J. (2008): Metodické postupy ověřování zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin v České republice. Strnady, Lesnický průvodce, s. 63.

OBORNÍK, M., KLÍČ, M., ŽIŽKA, L. (2000): Genetic variability and phylogeny inferred from random amplified polymorphic DNA data reflect life strategy of entomopathogenic fungi. *Canadian Journal of Botany- revue Canadienne de Botanique*. 78: 1150-1155.

PALÁTOVÁ, E. (2008): Zakládání lesa I.: lesní semenářství. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN 978*80-7375-181-4.

PAŘÍZEK, M. (2008): Získávání reprodukčního materiálu lesních dřevin. Brandýs nad Labem. ÚHÚL. Lesnická práce č. 10/08.

PASLAWSKA, A., BARTKOWIAK, J. (2017): Weryfikacja pochodzenia zasobów genowych. Polsko.

PAULE L. (1992): Genetika šľachtenie lesných drevín. Bratislava, Príroda: 304 s.

POSTOLACHE D, LEONARDUZZI C., POTTI A., SPANU I., ROIG A., FADY B., ROSCHANSKI A., LIEPELT S., VENDRAMIN G.G. (2014): Transcriptome versus genomic microsatellite markers: highly informative multiplexes for genotyping *Abies alba Mill.* And congeneric species. *Plant Molecular Biology Report*, 32: 750 – 760.

Rada Evropské unie. Směrnice Rady 1999/05ES ze dne 22. prosince 1999 o uvádění reprodukčního materiálu lesních dřevin na trh. Dostupné také z WWW:

<<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:31999L0105>>

RAMBOUSEK, J. (2011): Uznávání zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin-proč a jak?. Úherské Hradiště. VÚLHM.

REŠÁTKO, M. (2000): Kontrolní systém reprodukčního materiálu lesních dřevin v Maďarsku. *Lesnická práce* č.3/00. r.79.

ŘEPKOVÁ, J., RELICHOVÁ, J.: *Genetika rostlin*. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2001. 269 s. ISBN 80-210-2736-3.

SLAVOV, G.T., HOWE, G.T., YAKOVLEV, I., KRUTOVSKIJ, K.J., TUSKAN, G.A., CARLSON, J.E., STRAUSS, S.H., ADAMS, W.T.: High variable SSR markers in Douglas-fir: Mendelian inheritance and map locations. *Theoretical and Applied Genetic*. 2004. Roč.35, s. 1592-1603.

SNUSTAD, D. SIMMONS, J.M.: *Genetika*. Vyd. 1. Překlad Jiřina Relichová. Brno: Masarykova univerzita, 2009, 871 s. ISBN 978-802-1048-522.

SCOTT, M., HAYMES, M., WILLIAMS, S.M.: Parentage analysis using *RAPD PCR*. *Nucleic Acids Res*, 1992. 20: 5493.

Slovensko. Zákon č.138 ze dne 1.7.2014 o lesnom reprodukčnom materiáli. In *Zákony pre ľudí Sk*. 2014. Dostupné také z WWW:

<<http://www.zakonypreludi.sk/zz/2010-138>>

SVOBODA, J. A KOL. (2010): Koncepce zachování a reprodukce genových zdrojů lesních dřevin u Lesů České republiky, s.p., na období 2010-2019. *Lesy České republiky*. Hradec Králové.

ŠINDELÁŘ, J. (2000): Možné důsledky porušování zákona o lesích a dalších normativních ustanovení při nakládání s reprodukčním materiálem lesních dřevin. *Zprávy lesnického výzkumu*. VÚLHM Jíloviště-Strnady, č.3.

ŠINDELÁŘ, J. (1992): Základní principy šlechtitelských programů pro hospodářsky významné lesní dřeviny jehličnaté. Lesnický průvodce, č. 1. 78 s.

ŠMARDA, J. (2008): Metody molekulární biologie. Brno: Masarykova univerzita. s.188, ISBN: 978-80-210-3841-7.

TORIMARU, T., WANG, X.R., ANDERSSON, B., LINDGREN, D. (2009): Evaluation of pollen contamination in and advanced Scots pine seed orchard in Sweden. *Silvae Genetica*. roč. 58, s. 262-269.

TULSTRUP, N.P. (1959): International trade in forest tree seed. *Unasylva*. 13(4): 196-201.

Ústav pro hospodářskou úpravu lesa. Informace o lesích [online]. Brandýs nad Labem: Ústav pro hospodářskou úpravu lesa, 2016 [cit. 2018-18-04]. Dostupné z WWW: <<http://www.uhul.cz/>>

WHITE, T.L., ADAMS, W., NEALE, D. B. (2007): Forest genetics. Cambridge, MA: CABI Publishers. Wallingford, Oxfordshire, UK, Cambridge, MA, s. 682. ISBN 08-519-9083-5.

WRIGHT, J.W. (1976): Introduction to forest genetics. New York, San Francisco, London; Academic Press, 463 s.

ZORNÍKOVÁ, G. (2012): Využití polymerázové řetězové reakce (PCR) pro detekci probiotických mikroorganismů. Brno: Mendelova univerzita v Brně.

ÚHÚL (2016), Informace o nakládání s reprodukčním materiálem lesních dřevin České republiky 2016, výzkumná zpráva, Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem.