

Česká zemědělská univerzita

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin



**Využití semenných sadů smrku ztepilého pro studium  
adaptačních znaků**

Bakalářská práce

Autor: Monika Pilátová

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

2022



**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta lesnická a dřevařská**

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

- Autorka práce: Monika Pilátová
- Studijní program: Lesnictví
- Specializace: Ochrana a pěstování lesních ekosystémů
- Vedoucí práce: Ing. Jan Stejskal, Ph.D.
- Garantující pracoviště: Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin
- Jazyk práce: Čeština
- 
- Název práce: **Využití semenných sadů smrku ztepilého pro studium adaptačních znaků**
- Název anglicky: **Norway spruce seed orchards evaluation concerning the adaptation traits**
- 
- Cíle práce: Cílem této bakalářské práce je posoudit vliv klonální příslušnosti a dalších parametrů prostředí na roubovance smrku ztepilého. Tato studie nám umožní hodnotit adaptační znaky přes výrazný gradient prostředí. Práce se zaměří na lokální populaci Oderských vrchů, kde došlo k výběru rodičovských stromů pro dva zájmové semenné sady. Hypotéza, kterou chceme ověřit, předpokládá vliv

ortetů a klimatických podmínek v místě výběrových porostů na růst a vývoj sledovaných roubovanců.

**Metodika:** Semenné sady jsou celosvětově nejintenzivněji využívané produkční populace lesních dřevin. Naším záměrem je využít klonálních replikací v rámci série semenných sadů pro efektivní experimentální design, který nám umožní studovat adaptační znaky u smrku přes výrazný gradient prostředí. Studie se zaměří na lokální populaci Oderských vrchů, kde došlo k výběru rodičovských stromů pro dva zájmové semenné sady. Tyto sady byly replikovány se značným přesahem identických klonů na lokalitách Libavá a Lišice u Chlumce nad Cidlinou. Tato série semenných sadů smrku ztepilého je ve vlastnictví VLS ČR, s.p. Během vegetační sezóny 2021 dojde k terénnímu šetření v lokalitě Lišice a v lokalitě Libavá s cílem měřit růstové parametry a sledovat plodnost a fenologii zastoupených genotypů.

Analýza dat proběhne v zimě 2021/2022 s využitím smíšených lineárních modelů, přičemž kovariační struktura bude doplněna o klimatické proměnné původních porostů.

Odevzdání literárních rešerší a metodiky proběhne do konce února 2022.

**Doporučený rozsah práce:** 60 stran + tabulky, grafy a obrazové přílohy

**Klíčová slova:** smrk ztepilý, šlechtění, semenné sady, fenologie

Doporučené zdroje informací:

1. Čepl, J., Holá, D., Stejskal, J., Korecký, J., Kočová, M., Lhotáková, Z., ... & Kaňák, J. (2016). Genetic variability and heritability of chlorophyll a fluorescence parameters in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *TREE PHYSIOL*, 36(7), 883-895.
2. Čepl, J., Stejskal, J., Lhotáková, Z., Holá, D., Korecký, J., Lstibůrek, M., ... & Hejtmánek, J. (2018). Heritable variation in needle spectral reflectance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) peaks in red edge. *REMOTE SENS ENVIRON*, 219, 89-98.
3. Češka, P. (2014). Zakládání a rozvoj semenných sadů lesních dřevin u VLS ČR,S.P. : disertační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze.
4. Eriksson, G., Ekberg, I., & Clapham, D. (2001). An introduction to forest genetics. Genetic Center, Department of Plant Biology and Forest Genetics, SLU. ISBN 91-576-6032-8
5. Neuwirthová, E., Lhotáková, Z., & Albrechtová, J. (2017). The effect of leaf stacking on leaf reflectance and vegetation indices measured by contact probe during the season. *SENSORS*, 17(6), 1202.
6. Pospíšil, J., Koblíha, J. (1988). Šlechtění lesních dřevin : Určeno pro posl. les. fak. Brno: Vysoká škola zemědělská.
7. White, T. L., Adams, W. T., & Neale, D. B. (Eds.). (2007). Forest genetics. Cabi. ISBN 9780851993485.

Předběžný termín 2020/21 LS – FLD

obhajoby:

Elektronicky schváleno: 30. 4.  
2021

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

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno: 13. 7.  
2021

**prof. Ing. Róbert Marušák,**  
**PhD.**

Děkan

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma **Využití semenných sadů smrku ztepilého pro studium adaptačních znaků** vypracovala samostatně pod vedením Ing. Jana Stejskala, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 11/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne.....

Podpis.....

## **Poděkování**

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu práce Ing. Janu Stejskalovi, Ph.D. za jeho trpělivost, připomínky, rady a odborné vedení při tvorbě této bakalářské práce. Za nenahraditelnou pomoc a velkou podporu v laboratoři děkuji Ing. Dagmar Zádrapové. Za nabyté vědomosti ohledně práce se spektrofotometrem děkuji Mgr. Zuzaně Lhotákové, Ph.D. a Mgr. Evě Neuwirthové z Univerzity Karlovy. Za vysvětlení principů dálkového průzkumu Země a rady pro práci s multispektrálními daty děkuji Ing. Martinu Slavíkovi. V neposlední řadě patří velké díky mé rodině, přátelům a spolužákům, kteří mě ve všem podporovali.

## **Abstrakt**

Klimatické změny v současnosti významně ovlivňují lesnictví. Na jejich negativní dopady můžeme reagovat několika možnými způsoby včetně změny druhové skladby, a to i s využitím nepůvodních druhů lesních dřevin. Racionální alternativu však nabízí šlechtění. Naši do nedávné minulosti nejvýznamnější dřevinou je smrk ztepilý, jehož domácí populace stále skýtají značný adaptační potenciál. Tento potenciál nejlépe vymezi hodnocení kombinace adaptačních znaků (fenologie, plodnost atd.) a znaků produkčních. Ve specifických případech můžeme využít i znaků fyziologických (např. spektrální) pro nepřímé posouzení produktivity sledovaných populací. Limitujícím faktorem takové evaluace je rychlá a efektivní fenotypizace celé škály adaptačních znaků. Řešení může představovat i kontaktní měření spektrálních parametrů, jímž se zabývala právě tato bakalářská práce. Tímto experimentem se podařilo prokázat vztah reflektance a fenologie rašení. Evaluace přes dvě klonálně replikované výsadby vymežila míru interakce genotypu a prostředí u sledovaných znaků a umožnila nám posoudit i úroveň stresu na jednotlivých lokalitách.

**Klíčová slova:** smrk ztepilý, šlechtění, semenné sady, fenologie

## **Abstract**

Climate change is currently having a significant impact on forestry. We can respond to its negative consequences in several ways, including a change in species composition and non-native forest tree species use. However, breeding offers a rational alternative. In the recent past, our most important tree species was the Norway spruce, whose domestic populations still offer considerable adaptation potential. This potential is best defined by evaluating a combination of adaptive traits (phenology, fertility, etc.) and production traits. In specific cases, we can also indirectly use physiological features (e.g. spectral) to assess the monitored populations' productivity indirectly. The limiting factor of such evaluation is the rapid and effective phenotyping of the whole range of adaptation traits. The contact measurements of spectral parameters, which were dealt with in this bachelor's thesis, can also be the potential solution. This experiment succeeded in proving the relationship between reflectance and flushing phenology. Evaluation through two clonally replicated sites defined the degree of interaction of genotype and environment in the monitored traits. Moreover, it allowed us to assess the stress level in individual localities.

Keywords: Norway spruce, breeding, seed orchard, phenology



## Obsah

Seznam obrázků, grafů a tabulek .....	13
1 Úvod.....	16
2 Cíle práce .....	16
3 Rozbor problematiky, řešerše .....	16
3.1 Smrk ztepilý .....	16
3.1.1 Taxonomie, areál a morfologie smrku ztepilého .....	17
3.1.2 Ekotypy smrku, přenos RM, semenářské oblasti.....	19
3.1.3 Smrk ztepilý jako dřevina s největším zastoupením v ČR.....	20
3.1.4 Fenologie.....	20
3.1.5 Fenologie smrku ztepilého.....	20
3.2 Genetika a šlechtění lesních dřevin .....	22
3.2.1 Šlechtění smrku, semenné sady .....	25
3.3 Fyziologické znaky a spektroskopie jako perspektivní nástroje pro genetickou analýzu .....	27
3.4 Hyperspektrální reflektance.....	28
3.5 Fotosyntetické pigmenty .....	31
3.5.1 Obsah pigmentů .....	32
4 Metodika .....	34
4.1 Experimentální materiál .....	34
4.1.1 Heřmánky.....	34
4.1.2 Lišice.....	36
4.2 Terénní šetření a sběr vzorků .....	37
4.3 Měření hyperspektrální reflektance jehlic .....	37
4.4 Obsah a extrakce fotosyntetických pigmentů.....	39
4.5 Vyhodnocování dat.....	43
4.5.1 T-test .....	43

4.5.2	ASReml – R.....	43
4.5.3	Genetická korelace.....	44
4.5.4	Heritabilita .....	45
4.5.5	MET – Multi Environment Trial .....	45
4.5.6	LRT – Likelihood-ratio test .....	46
5	Výsledky .....	46
5.1	Vyhodnocení fenologie rašení.....	46
5.2.	Genetická variabilita rašení .....	49
5.2.1	Lišice u Chlumce nad Cidlinou .....	49
5.2.2	Heřmánky.....	50
5.2.3	Heritabilita fenologie rašení společně hodnocená v obou semenných sadech.....	51
5.3	Hyperspektrální reflektance v semenných sadech.....	52
5.3.1	Heritabilita reflektance .....	53
5.4	Obsah pigmentů a genetická variabilita .....	53
5.4.1	Porovnání obou ploch .....	53
5.4.2	Lišice.....	54
5.4.3	Heřmánky.....	54
5.5	Korelace mezi sledovanými znaky .....	56
5.6	Variogram výšek .....	57
5.7	Fenotypová a genetická korelace mezi výškou a obsahem pigmentů na lokalitě Lišice .....	58
6	Diskuze.....	60
6.1	Fenologie rašení a heritabilita .....	60
6.1.1	Heritabilita fenologie rašení společně hodnocená v obou sadech ....	61
6.2	Hyperspektrální reflektance a její heritabilita .....	62

6.3	Obsah pigmentů.....	63
6.4	Fenotypová korelace mezi výškou a obsahem karotenoidů .....	64
7	Závěr .....	65
8	Seznam literatury a použitých zdrojů .....	67

## Seznam obrázků, grafů a tabulek

### Obrázky

Obrázek 1 - Polohy zájmových semenných sadů na mapě ČR; 1- Heřmánky, 2- Lišice; Zdroj: Seznam.cz (2022) .....	34
Obrázek 2 - Semenný sad smrku ztepilého Heřmánky .....	35
Obrázek 3 - Roubovanec smrku ztepilého ze semenného sadu Heřmánky .....	35
Obrázek 4 - Semenný sad Lišice u Chlumce, zdroj: Ing.Martin Slavík.....	36
Obrázek 5 - Semenný sad Lišice – multispektrální snímkování pomocí dronu, zpracováno v programu ArcMap 10.7.1. ....	36
Obrázek 6 - Spektroradiometr ASD FieldSpec4 firmy Malvern Panalytical a kontaktní sonda; dokumentace měření reflektance na Univerzitě Karlově v Praze, srpen 2021 .....	38
Obrázek 7 - Vlevo vzorek ponořený v době pořizování fotografie, vpravo vzorek ponořený do DMF 10 minut před focením .....	40
Obrázek 8 - Spektrofotometr Hach DR 6000 UV-VIS .....	41
Obrázek 9 - Vzorek po dokončení vyluhování a kyveta s 2ml tohoto roztoku, připravená na umístění do spektrofotometru.....	42
Obrázek 10 - Displej spektrofotometru s výslednými hodnotami absorbance ve 3 vlnových délkách .....	42
Obrázek 11 - Dron DJI model Phantom 4 Pro Multispectral - při vzletu .....	65
Obrázek 12 - Semenný sad Lišice v softwaru Ground Station Pro, s vyznačením plánované struktury letu dronu. Stočení trajektorie je záměrné z důvodu přizpůsobení se ročnímu období a časovému období dne. Autor Ing. Martin Slavík, Katedra hospodářské úpravy lesa, ČZU .....	66

## Grafy

Graf 1 - Hlavní charakteristiky spektrální křivky odrazivosti vegetace: absorpční minima způsobená přítomností chlorofylu (chlorofyl a: 430 nm a 660 nm, chlorofyl b: 450 nm a 650 nm), absorpční pásma vody (1 400 nm, 1 900 nm a 2 700 nm), vysoká odrazivost vlivem buněčné struktury (700 nm až 1 300 nm). Úprava a překlad grafu dle Jensen (2014) převzata od Albrechtová; Kupková; Campbell, (2017).....	30
Graf 2 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při prvním měření fenologie v semenném sadu Lišice.....	47
Graf 3 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při druhém měření fenologie v semenném sadu Lišice.....	47
Graf 4 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při prvním měření fenologie v semenném sadu Heřmánky. ....	48
Graf 5 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při druhém měření fenologie v semenném sadu Heřmánky. ....	48
Graf 6 - Znázornění průměrných reflektancí společně s výsledky t-testu (kritická hodnota 0,05 znázorněna vodorovnou rýskou) .....	52
Graf 7 - Heritability reflektance roubovanců z obou semenných sadů. Body znázorňují jednotlivé heritability odhadnuté v jednotlivých vlnových délkách. ..	53
Graf 8 - Vyjádření genetické korelace, první měření fenologie na lokalitě Heřmánky.....	56
Graf 9 - Variogram výšek roubovanců na lokalitě Lišice .....	57
Graf 10 - Vyjádření fenotypové korelace na lokalitě Lišice .....	59

## Tabulky

Tabulka 1 Průměrné datum nástupu fenofází smrku ztepilého s ohledem na nadmořskou výšku studovaných lokalit Lišice u Chlumce na Cidlinou a Heřmánky u Libavé (sledované rozpětí 201-400 m.n.m.). Převzato a upraveno dle ČHMÚ, Atlas fenologických poměrů Česka (Hájková et al.,2012) .....	21
Tabulka 2 - Průměrné trvání intervalu mezi nástupy fenofází smrku ztepilého s ohledem na nadmořskou výšku studovaných lokalit Lišice u Chlumce nad	

Cidlinou a Heřmánky u Libavé (sledované rozpětí 201-400 m.n.m.). Převzato a upraveno dle ČHMÚ, Atlas fenologických poměrů Česka (Hájková et al., 2012)	21
Tabulka 3 - Výsledky testování účinnosti rozpouštědla na extrakci pigmentů smrku ztepilého. Převzato, přeloženo a upraveno dle Minocha et al.,(2009) .....	33
Tabulka 4 - Druhé měření fenologie (F2) v Lišicích. Hodnota z.ratio 2,670116 u klonální příslušnosti naznačuje dostatečnou statistickou signifikanci .....	49
Tabulka 5 - První měření fenologie (F1) na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio u klonální příslušnosti naznačuje statistickou signifikanci, v porovnání s daty z Lišic nabývá násobně vyšších hodnot. ....	50
Tabulka 6 - Druhé měření fenologie (F2) na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio nabývá nejvyšší hodnoty ze všech 4 měření. ....	50
Tabulka 7 - Model 1 bez genetické korelace typu B, hodnota parametru p Waldova statistického testu byla $2,208 \cdot 10^{-5}$ , z toho vyplývá, že na hladině pravděpodobnosti 95% můžeme zamítnout hypotézu o shodných průměrech. ....	51
Tabulka 8 - Model 2 Type-B Genetic Correlation. Odhad genetické korelace 0,99909997, bez odhadu chyby. B = boundary – zastavení modelu a neodhadnutí chyby odhadu. ....	51
Tabulka 9 - p-hodnoty Waldova testu spolu s průměrnými hodnotami obsahu fotosyntetických pigmentů a směrodatné odchylky průměru .....	53
Tabulka 10 - Výsledky analýzy heritability chlorofylu a na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio je hraniční, avšak dostatečná. Střední míra prostorové korelace byla pozorována ve směru řad.....	54
Tabulka 11 - Výsledky analýzy heritability chlorofylu b na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio je dostatečně vysoká. Míra pozitivní korelace ve směru řad je stejně jako u výsledků analýzy chlorofylu a v tabulce 10 významná. ....	55
Tabulka 12 - Výsledky analýzy heritability karotenoidů na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio byla nízká, bylo nutné použít srovnání s nulovým LRT testem..	55
Tabulka 13 - korelace mezi výškou roubovanců a obsahem karotenoidů, p-hodnota 0,03662 signalizuje statisticky signifikantní výsledek záporné genetické korelace -0,1807499. Jedná se neparametrickou metodu Spearman rank correlation. ....	58

## **1 Úvod**

Semenné sady představují nejdůležitější formu produkčních populací lesních dřevin ve světě. Jejich role spočívá v produkci kvalitního sadebního materiálu a zároveň umožňují paralelní konzervaci genofondu lesních dřevin. V těchto případech obvykle používáme termín klonový archiv. Sklizeň šišek ze semenného sadu je ve srovnání s lesními porosty jednodušší. Méně náročné je i terénní šetření, které je podkladem pro tuto bakalářskou práci – jedinci zastoupených genotypů jsou na jednom místě, nesou své jasné označení a zkoumání jejich fenologie a adaptací je oproti stromům v porostu výrazně zjednodušeno a zefektivněno. To je jeden z důvodů, proč má využití semenných sadů pro studium adaptačních znaků velký potenciál a proč se mu v této práci věnuji.

## **2 Cíle práce**

Cílem této práce je posoudit vliv klonální příslušnosti a parametrů prostředí na roubovance smrku ztepilého v semenných sadech. Bylo využito klonálních replikací v rámci série semenných sadů pro efektivní design experimentu, umožňující studium adaptačních znaků přes gradient prostředí. Práce je zaměřena na lokální populaci Oderských vrchů, kde došlo k výběru rodičovských stromů pro dva semenné sady spadající pod vlastnictví VLS ČR s.p., které byly předmětem našeho zájmu:

- Semenný sad SM Lišice; u Chlumce nad Cidlinou
- Semenný sad SM Heřmánky; ve vojenském újezdě Libavá

Cílem je ověření hypotézy, předpokládající vliv ortetů a klimatických podmínek v místě výběrových porostů na růst a vývoj sledovaných roubovanců.

## **3 Rozbor problematiky, řešerše**

### **3.1 Smrk ztepilý**

Bakalářská práce se, co se druhu dřeviny týče, věnuje smrku ztepilému (*Picea abies*), konkrétně jeho roubovancům v semenných sadech.

Rod *Picea* je charakteristický monopodiální vzpřímenou stavbou s dominantním terminálním vrcholem (Janeček, ústní sdělení). Asimilační orgány – jehlice – mají krátký řapík a neopadávají. Rod má počátky v období konce druhohor, v třetihorách se už v určitých místech stával dominantou lesů a jeho největší expanze nastala ve čtvrtohorách – konkrétně v preboreálu (8300 – 6800 př.n.l.) v místech karpatské kotliny (Podrázský, 2014).

V rámci rodu *Picea* rozlišujeme dva podrody (Musil; Hamerník, 2003) a to:

1. Podrod *Picea*
  - Tuhé a neohebné semenné šupiny
2. Podrod *Casicta*
  - Měkké a lámavé semenné šupiny

Smrk ztepilý (*Picea abies*) je jednou z hospodářsky nejvýznamnějších dřevin nejen ČR, ale i celé střední a severní Evropy.

### **3.1.1 Taxonomie, areál a morfologie smrku ztepilého**

Taxonomie dle Schmidt-Vogt (Schmidt-Vogt, 1986)

Říše: rostliny – *Plantae*

Podříše: cévnaté – *Tracheobionta*

Oddělení: nahosemenné – *Pinophyta*

Třída: jehličnany – *Pinopsida*

Řád: borovicotvaré – *Pinales*

Čeleď: borovicovité – *Pinaceae*

Rod: smrk – *Picea*

Původní areál se nachází ve střední a Severní Evropě. Dnes zaujímá rozsáhlý euroasijský areál na Urale navazuje na areál smrku sibiřského *Picea obovata*, který je často po taxonomické stránce považován za poddruh (Pospíšil;Kobliha, 1988). Na východě, konkrétně na území Ruska, dosahuje smrk ztepilý až k severní lesní hranici (Větvička, 2005). Rozpětí nadmořských výšek obsazovaných ekotypy tohoto rodu je rozličné – od 0 do 4800 m.n.m., v evropském areálu vystupuje pouze



do nadmořské výšky 2450 m.n.m. Nejvyšší polohy výskytu smrků spadají na území Číny (Musil; Hamerník, 2003). Evropská část areálu smrku ztepilého je členěna na 2 oddělené části:

1. Severská oblast se rozprostírá téměř po celém území Skandinávie a jižně zasahuje do oblasti Pobaltí a východně přes Rusko k pohoří Ural. Tato oblast má návaznost na areál *Picea obovata* (Pospíšil; Kobliha, 1988)
2. Středoevropsko – balkánská oblast zahrnuje středo- a jihoevropská pohoří. Dále je dle jednotlivých pohoří dělena na oblast hercynskou, alpskou, dinarskou a rhodopskou (Pospíšil; Kobliha, 1988)

Smrk ztepilý vyniká bohatou morfologickou proměnlivostí, což je vzhledem k jeho rozsáhlému areálu příznačné. Obecně lze konstatovat, že se jedná o druh dorůstající běžně 20 – 50 m (extrémní vzrůst měl tzv. Želnavský smrk, který dorostl 68,9m) s výčetní tloušťkou běžně nabývající hodnot 1 – 1,5 m (Musil; Hamerník, 2003). Má mělký kořenový systém, tím pádem je nejméně stabilní na podmáčených půdách, ale naopak pokud je v půdě dostatek kyslíku a hladina podzemní vody není vysoká, mohou kořeny růst i hlouběji do půdy a stabilita stromu se zvyšuje. Charakterizujeme ho jako polostinný druh se střední (v mládí až vysokou) tolerancí k zástínu a s vyššími nároky na půdní a vzdušnou vlhkost se srážkovým optimem pohybujícím se okolo 500 mm/rok (Janeček, ústní sdělení). Nedostatek půdní vláhy společně s delší vegetační dobou je limitujícím faktorem pro jeho pěstování. Na půdní druhy a geologické podloží není nikterak náročný – obsazuje vápence, prahory i naplavené půdy, při dostatečné vlhkosti i mělké půdy, ale nejlépe roste na půdách svěžích, hlinitopísčitých. Na půdách křemičitých a rašeliništích přežívá. (Úradníček; Chmelař, 1995). Senzitivita smrku vůči znečištění ovzduší limituje např. jeho výsadbu v městských parcích – devastující působení SO<sub>2</sub> na smrkové porosty se u nás rozsáhle projevilo nejvýrazněji v 70. a 80. letech (Vacek et al., 2007)

Koruna je až do vysokého věku pyramidální s pravidelnými přesleny. Asimilační orgány jsou na průřezu většinou čtyřhranné a s průduchy na všech stranách, nachází se na svislých výhonech a jsou uspořádány radiálně. Větévky mají morfologicky odlišné části řapíku (pulvinus), které jsou odděleny rýhami. Asimilační orgány jsou

obměňovány po 6-9 letech. Kmen je jednou z velmi proměnlivých částí smrku ztepilého, zvláště co se tloušťky jeho šupinaté borky týče – existují jedinci s velmi tenkou i velmi tlustou borkou (Musil; Hamerník, 2003).

### **3.1.2 Ekotypy smrku, přenos RM, semenářské oblasti**

Smrk ztepilý je na našem území zastoupen třemi ekotypy: vysokohorským, horským a chlumním. Vysokohorský ekotyp lokalizujeme v 8. smrkovém lesním vegetačním stupni. Je odolný vůči mrazu i větru, morfologické přizpůsobení vysokohorským podmínkám spočívá mimo jiné v hustém ojehlíčení, krátkých a tuhých asimilačních orgánech a celkově sbíhavějším kmeni. Horský ekotyp roste v 6. smrkobukovém až 7. bukosmrkovém lesním vegetačním stupni. Jeho kmen je oproti prvnímu ekotypu válcovitý a plnodřevný. Poslední chlumní ekotyp nacházíme ve 4. bukovém až 5. jedlobukovém lesním vegetačním stupni. Smrky chlumního ekotypu mají v mládí rychlý růst, plnodřevný a válcovitý kmen a řídké a dlouhé asimilační orgány (Pospíšil; Kobliha, 1988)

Přenos reprodukčního materiálu (dále RM) byl v posledních letech předmětem diskuzí a sporů, výsledkem je nová vyhláška č. 456/2021 o podrobnostech přenosu RM lesních dřevin, o evidenci původu RM a podrobnostech o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa. Z pohledu vegetačních stupňů je (stále) možný přenos reprodukčního materiálu mezi 1. – 4. LVS neomezeně, do 4. LVS pouze ze stupně 5., od 5. VLS vertikálním přenos o  $\pm 1$  stupeň. Pro smrk a kleč je zakázáno přenášet RM z nižších LVS do 8. a 9. stupně a vzájemný přenos lze uskutečňovat jen mezi 8. a 9. LVS. Pro smrk ztepilý se novou vyhláškou konkrétně změnily možnosti přenosu mezi přírodními lesními oblastmi (dále PLO). Z původních čtyř PLO (Příloha č.1 k vyhlášce č.139/2004), pro které nebylo přípustné využít RM z jiné oblasti, zůstaly pouze oblasti tři – 13 Šumava, 27 Hrubý Jeseník a 40 Moravskoslezské Beskydy (Příloha č. 1 k vyhlášce č. 456/2021).

Pro úplnost lze uvést, že zájmový semenný sad v Lišicích se nachází v PLO 17 – Polabí a sad Heřmánky lokalizujeme v PLO 29a – Nízký Jeseník.

### **3.1.3 Smrk ztepilý jako dřevina s největším zastoupením v ČR**

V České republice tvořil smrk původně smrk ztepilý 11 % (Musil; Hamerník, 2003), dnes je zastoupení mnohonásobně vyšší. Jak zmiňuje Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství v roce 2020, kterou vydává každoročně Ministerstvo zemědělství, procentuální zastoupení smrku ztepilého v České republice je 48,8 %, přičemž jeho zásoba se po tomto roce pohybovala okolo 430,2 milionů m<sup>3</sup> (Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2020, 2021).

### **3.1.4 Fenologie**

Fenologie od řeckého slova „fainó“ (v překladu „vyjevují“) je vědní obor, zabývající se časovým průběhem periodicky se opakujících růstových projevů rostlin a živočichů, závislejícím na podnebí i půdních poměrech. Tyto periodické růstové projevy se nazývají fenofáze. (Krška, 2006). Fenofází je například rašení pupenů, kvetení, zrání plodů. Průkopníkem oboru fenologie byl Carl von Linné – švédský lékař a přírodovědec, jehož zásluhou je existence systematické nomenklatury botanické i zoologické. Na území Čech se o uplatnění této vědní disciplíny zasloužili v 18. a 19. století pracovníci pražské klementinské observatoře – pánové Antonín Strnad a Karel Fritsch. Fytofenologická pozorování mohou mít rozličné účely, můžeme sledovat reakci rostlin na prostředí jim nepůvodní či naopak v podmínkách přírodních. (Krška, 2006). Sledujeme vývojové fáze volně rostoucích i pěstovaných rostlin – původní záměr botaniky v mnoha případech ustoupil záměrům klimatologie, zemědělství apod. Fenologické pozorování totiž umožňuje určit odchylky místního klimatu, respektive jeho extrémy, které se na rostlině musí zákonitě projevit (Novák, 1922) a tyto poznatky následně využít pro výše zmíněné obory lidské činnosti. V této práci jsme realizovali fenologické pozorování pro zastoupené genotypy roubovanců.

### **3.1.5 Fenologie smrku ztepilého**

U smrku ztepilého lze – dle metodiky ČHMÚ – pozorovat tyto fenofáze: rašení, první listy, plné olistění, butonizace, počátek a konec kvetení a zralost plodů (Coufal, 2004). Butonizace je fenofáze zahrnující období od vzniku pupenů zakrytých děložními lístky až po již dorostlé pupeny.

Celkové časové rozvržení fenologie je v průběhu let značně variabilní. Jak dokládají pozorování ČHMÚ, všechny fenofáze vykazovaly za období 1991 – 2010 tendenci k dřívějšímu nástupu (Hájková et al., 2012).

Počátek rašení je dlouhodobě pozorován od 19. dubna do 10. května. První listy se objevují v rozmezí 11. až 26. května a počátek kvetení následně přichází mezi 3. a 18. květnem. Konec kvetení nastává v jednotlivých výškových pásmech po 200 metrech mezi 20. květnem a 2. červnem. Všechny tyto fáze jsou závislé na nadmořské výšce, vertikální fenologické gradienty pro fenofáze jsou 2 dny/100 metrů. Pro upřesnění těchto dat jsou níže uvedeny tabulky, specifikované dle nadmořské výšky zájmových lokalit této práce.

m.n.m.	Rašení			První listy			Počátek kvetení			Konec kvetení		
	*	**	***	*	**	***	*	**	***	*	**	***
201 - 400	28.4.	5,7	11,7	20.5.	7,6	13,5	6.5.	7,7	12,8	22.5.	8,1	15

\* průměrné datum nástupu  
 \*\* směrodatná odchylka  
 \*\*\* průměrná pentádní teplota vzduchu ke dni nástupu v °C

Tabulka 1 Průměrné datum nástupu fenofází smrku ztepilého s ohledem na nadmořskou výšku studovaných lokalit Lišice u Chlumce na Cidlinou a Heřmánky u Libavé (sledované rozpětí 201-400 m.n.m.). Převzato a upraveno dle ČHMÚ, Atlas fenologických poměrů Česka (Hájková et al.,2012)

m.n.m.	Rašení - první listy			Butonizace - počátek kvetení			Počátek kvetení - konec kvetení		
	*	**	***	*	**	***	*	**	***
201 - 400	22	4,5	180	4	1,6	36	16	2,3	123

\* průměrné datum nástupu  
 \*\* směrodatná odchylka  
 \*\*\* trvání slunečního svitu, v hodinách

Tabulka 2 - Průměrné trvání intervalu mezi nástupy fenofází smrku ztepilého s ohledem na nadmořskou výšku studovaných lokalit Lišice u Chlumce nad Cidlinou a Heřmánky u Libavé (sledované rozpětí 201-400 m.n.m.). Převzato a upraveno dle ČHMÚ, Atlas fenologických poměrů Česka (Hájková et al., 2012)

Samčí šištice jsou elipsoidní, dlouhé až 2,5 cm a mají červenou, později od pylu žlutou, barvu. Pylová zrna mají velikost 70 – 90  $\mu\text{m}$ , jsou opatřena vzdušnými vaky a k šíření dochází na kratší vzdálenosti (desítky kilometrů). Semenné roky se opakují v periodě 4-5 let.

Smrk ztepilý je přizpůsoben kratší vegetační době, z toho vyplývá, že pokud je pěstován naopak v místech s delší růstovou sezonou, stává se často cílem houbových škůdců, kvůli předčasnému vyrašení (Úřadníček; Chmelař, 1995).

Plození smrku ztepilého začíná u soliterně rostoucích stromů mezi 30 – 40 roky stáří, u jedinců rostoucích v zápoji až od 60 let. Ve výrazně stresujících podmínkách plodí i jedinci mladší, minimum je 5 let. Vliv na počátek fruktifikace má, kromě již zmíněné nadmořské výšky, dostatek světla, který nástup urychluje a také dostatek živin, který ale naopak začátek fruktifikace oddaluje (Slávik; Bažant, 2016)

### 3.2 Genetika a šlechtění lesních dřevin

Dnešní lesní genetika kombinuje řadu subdisciplín: genetiku klasickou - Mendelovu, molekulární, populační i kvantitativní. Základem všech těchto subdisciplín jsou geny. Využívání genetických poznatků ke zlepšení či zdokonalení stavu, vlastností a využití lesních porostů je relativně novou záležitostí, pokud ho srovnáme například se šlechtěním hospodářských plodin či zvířat. Ve větším měřítku se totiž začala lesní genetika rozvíjet až v 50. letech minulého století (White et al. 2007). Šlechtitelský program lze popsat jako ucelený systém opatření, který sleduje dosažení určitého šlechtitelského cíle (Pospíšil; Kobliha, 1988 )

Variabilitu stromů můžeme vizuálně zhodnotit či změřit dle fenotypových projevů, které bývají v přirozených porostech velmi rozličné, ať už po stránce morfologické, velikostní, fenologické i fyziologické. Platí zjednodušené pravidlo fenotyp = =genotyp + vliv prostředí. Geny tvořící genom každé buňky stromu určují genotyp, ten zůstává v podstatě v průběhu celého života stromu stejný. Mění se exprese genu – jiné geny se projeví v jednotlivých ročních obdobích a v závislosti na věku. Na homogenních stanovištích, typicky například v semenných sadech, se pěstují

stromky s totožným genotypem – klony – a tyto stromky pak mohou vykazovat nižší variabilitu fenotypu (White et al., 2007). V přirozených lesních porostech obvykle nenacházíme jedince se shodným genotypem. Otázka vlivu prostředí a genotypu na fenotyp jedince se zkoumá, Obecný princip spočívá v separaci vlivu prostředí od vlivu genetického. Semena stromů jsou sbírána v místě růstu lokálních či jinak zájmových populací a potomstvo následně pěstováno v podmínkách zajišťujících téměř shodné prostředí pro všechny potomky a genotypy. Využívá se mnoho typů testování – testy provenienční, testy potomstev či metod molekulární genetiky.

Již mezi lety 1700 až 1850 si evropští vědci začali všimnout důležitosti variability napříč proveniencemi, prováděli hybridizaci mezi druhy a vyvíjeli metody pro vegetativní rozmnožování stromů (Zobel; Talbert 1984).

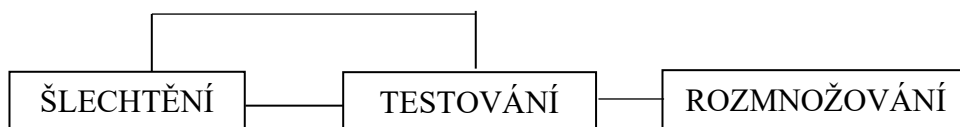
V první polovině 20. století se rozvíjelo provenienční testování hospodářsky významných dřevin včetně smrku, což pokračuje dodnes. S postupem času a s rozrůstáním lidské populace vzrůstal tlak na přirozené lesní porosty. Zvyšovala se potřeba izolovat genetický materiál zbývajících stromů v populacích a tím pomoci těmto porostům přežít. Provenienční testy zahrnují porovnání několika proveniencí stejného druhu v replikovaných studiích. Provenience zahrnuje lokalitu v rámci přirozeného výskytu druhu. Výsledkem má být identifikace regionálních a dílčích cenných populací a získání poznatků o vhodných podmínkách pro testované populace (Pospíšil; Kobliha, 1988). Variabilita napříč různými proveniencemi se nazývá variabilita geografická.

Přelomovým obdobím byla 60. léta, kdy se začaly využívat markery popisující výše zmíněnou geografickou variabilitu (White et al., 2007). Genetické markery jsou geny, jejichž exprese fenotypu je obvykle snadno rozpoznatelná a z toho důvodu slouží k identifikaci buňky, jedince nebo označení chromozomu (King et al., 1995). Aplikování metod molekulární genetiky začalo v 90. letech s počátkem využívání metody RFLP, která je založena na variacích v délce fragmentů DNA generovaných specifickou endonukleázou vyskytující se v rámci druhu (King et al., 1995). Tato metoda úspěšně dokázala dědičnost genomu chloroplastu po samčím rodiči (White et al., 2007). Molekulární genetika je další možností, jak

rozdělit působení prostředí a vliv genotypu, respektive jak prostředí zcela eliminovat. Můžeme determinovat sekvence DNA v genu a tvořit genetické mapy, co však v mnoha případech možné není, je rozpoznání rozdílů v sekvencích DNA zodpovědných za změny fenotypu (White et al., 2007).

Lze konstatovat, že vliv prostředí a genotypu na fenotypovou variabilitu na stanovišti není shodný pro všechny části stromu. Například hustota dřeva je geneticky podmíněna více než-li je ovlivněna prostředím a naopak růstové tempo je genotypem ovlivněno jen málo a hlavní faktor je prostředí (White et al., 2007).

Šlechtění (lesnický významných) dřevin má kromě teoretického základu mimořádný praktický význam a můžeme ho definovat jako aplikovanou vědní disciplínu či technologii, která má za cíl zlepšení genetického základu populací lesních dřevin tak, aby se zvýšila jejich hospodářská hodnota (Paule, 1992). Z toho vyplývá, že poznatky vědy lze v praxi aplikovat s cílem zvýšení výnosů v lesním hospodářství, zvýšení kvality/kvantity produkce dřevní hmoty či pryskyřice, ochraně/záchraně genofondu ohrožených druhů a v neposlední řadě též ke zvýšení odolnosti vůči škodlivým činitelům, ať už biotickým nebo abiotickým. Šlechtěním lze zvýšit produkci lesní biomasy přibližně o 15–20 % (Pospíšil; Koblíha, 1988). Schéma šlechtění lesních dřevin dle (Paule, 1992) je následující:



Metody šlechtění dělíme do dvou základních skupin – šlechtění výběrem a novošlechtění. Výběr je buď individuální nebo hromadný. U výběru individuálního dochází k výběru jedinců na základě fenotypových znaků nebo projevů. Typickým příkladem je vyhledávání výběrových stromů. Při hromadném výběru vybíráme z populace větší množství jedinců na základě fenotypového projevu. Účinnost této metody závisí na různorodosti dané populace – čím větší různorodost, tím větší účinek (Pospíšil; Koblíha, 1988).

Novošlechtění zahrnuje hybridizaci, mutační šlechtění a genové manipulace. Hybridizace se u lesních dřevin začala uplatňovat v 50. letech minulého století, zpočátku se jednalo o hybridizaci mezidruhovou, později se začala aplikovat

i vnitrodruhová. U mutačního šlechtění je využito působení mutagenů, což jsou látky či faktory prostředí, které svým působením vyvolávají v rostlině dědičně podmíněné změny. Existuje velké množství mutagenů, ať už fyzikální (elektromagnetické vlny, korpuskulární záření) nebo chemické (alkalické sloučeniny, těžké kovy). Novošlechtění je možné realizovat skrze genové manipulace, jedná se o techniky *in vitro* aplikované na buňku rostliny, kterými měníme rostlinný genom (Paule, 1992).

### 3.2.1 Šlechtění smrku, semenné sady

Rod *Picea* zahrnuje druhy morfologicky méně odlišné než např. druhy rodu *Pinus*. Hybridizace konkrétních druhů s menší morfologickou odlišností a sousedícím areálem je obvykle úspěšnější než hybridizace druhů více odlišných a s areály vzdálenými (Pospíšil; Kobliha, 1988). Smrk ztepilý má extrémně široký geografický rozsah přirozeného výskytu v Evropě a Asii, což zahrnuje rozpětí nadmořských výšek, klimatu a půdních typů a podmínek. Přirozená selekce vedla ke vzniku výrazných genetických rozdílů napříč proveniencemi. Jedinci z chladnějších oblastí rostou pomaleji, do výšky začínají růst dříve z jara a ukončují růst dříve na podzim, ve srovnání s proveniencemi teplejšího klimatu. (Morgenstern, 1996).

#### 3.2.1.1 Skandinávie

V oblasti Skandinávie se často vysazují klony norského smrku. Smrk ztepilý lokalizujeme na severozápadní části střední a severní části Norska – dle pylové a genetické analýzy lze konstatovat, že smrk se ve střední části Norska usídlil před 10 300 lety (Parducci et al., 2012) a jeho původ je z refugia v Rusku. V posledních několika desetiletích mnoho studií dokázalo, že norský boreální smrk je schopný se plasticky pozměnit a adaptovat fenologii přes dlouhodobé výkyvy klimatických podmínek (Skrøppa; Steffenrem 2019). Šlechtění smrku začalo ve 40. letech minulého století v několika evropských zemích, kde se většinou vybrali fenotypově nejkvalitnější jedinci. Následně byli naroubováni v semenných sadech nebo vysazeny do klonových archivů. Každý semenný sad obsahuje 50–500 klonů, neboť cílem je produkce semen pro jeden zájmový region. V rámci Norska, Švédska



a Finska bylo takto naroubováno několik tisíc vybraných jedinců. V části z nich se provedly testy potomstev a na základě výsledků se provedl užší výběr. Většina těchto semenných sadů se ale skládá z původních netestovaných rodičovských stromů (OECD 2006).

Šlechtitelského efektu je dosahováno i introdukcí vhodných populací ze zahraničí – konkrétně v jižním Švédsku se využívá populací středoevropského smrku z Rumunska a Polska.

Ve Finsku je šlechtitelský důraz kladen na maximální produkci biomasy současně s vysokou kvalitou dřeva (Paule, 1992). První generace semenných sadů zde byly založeny v 60. letech minulého století. V 80. letech se začala využívat hromadná propagace, což je metoda založená na vegetativním rozmnožování perspektivních semenáčků.

### **3.2.1.2 Německo**

V Německu se v otázce šlechtění smrku klade důraz na toleranci stromu vůči znečištěnému ovzduší a odolnost vůči hnilobám. Podporují se později rašící formy odolné vůči pozdním mrazům a formy s hrubší borkou odolnější vůči loupání zvěří. Vysoký obsah pryskyřice, její hojné ronění a tím pádem lepší obrana proti podkornímu hmyzu je v neposlední řadě další šlechtitelsky podporovaná vlastnost (Paule, 1992). Šlechtění smrku v Německu začalo selekcí na základě provenienčních testů. Následovalo založení semenných sadů první generace, v nichž se následně jedinci vyhodnocovali testy potomstev, z jejichž výsledků byli vybráni jedinci do semenného sadu generace druhé (Klápště, 2008).

### **3.2.1.3 Česká republika**

V 70. letech byly hlavním důvodem šlechtitelských snah záchrana a reprodukce horského a vysokohorského ekotypu a regionálních populací z oblastí ohrožených imisemi. První dlouhodobé šlechtitelské programy v ČR vůbec byly zaměřeny právě na záchranu genofondu smrku z imisně poškozených oblastí

S tím souvisí kladení důrazu na toleranci vůči znečištěnému ovzduší, což se shoduje s prioritami šlechtění na Slovensku a ve výše popsaném Německu.

Odolnost vůči pozdním mrazům a obecně formy smrku později rašící jsou dalším požadavkem šlechtění v Čechách. (Pospíšil; Kobliha, 1988).

#### **3.2.1.4 Semenné sady v ČR**

Historicky se u nás první semenné sady zakládaly od roku 1956, kdy byl Gustavem Vincentem ve Vizovicích založen první sad s roubovanci modřínu. V letech 1958 až 1960 bylo založeno 6,5 ha semenných sadů modřínu, který se jevil společně s bukem a douglaskou jako perspektivní (Musil et al., 2007).

Semenné sady v ČR jsou zdrojem převážně kvalifikovaného reprodukčního materiálu, pokud je jejich stav v souladu se zaregistrovanou a schválenou dokumentací. Výjimku tvoří testované sady borovice lesní. LČR aktuálně spravují dva semenné sady druhé generace borovice lesní. Dokumentaci sadů schvaluje pověřená osoba dle ÚHÚL. Sady se evidují v Rejstříku uznaných zdrojů dle zákona o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů č. 149/2003 Sb. V Rejstříku je evidován druh dřeviny, vlastnosti reprodukčního materiálu, zdroj, poloha, nadmořská výška, plocha sadu a jeho obvod, původ a zařazení v Národním programu (Národní program Životního prostředí pro ochranu a zlepšování životního prostředí). Proces schvalování je dlouhodobější, proto se v databázi vyčleňují sady uznané a registrované (čekající). Na konci roku 2020 bylo v Rejstříku evidováno 134 semenných sadů, z čehož je nyní 107 uznaných a 27 registrovaných. Semenné sady jsou založeny pro 10 druhů jehličnanů a 15 listnáčů. Plocha semenných sadů jehličnatých dřevin tvoří 242,81 ha a listnatých 52,97 ha (Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2020, 2021). Údaje o počtu semenných sadů jednotlivých druhů dřevin jsou k nalezení v informačním systému evidence reprodukčního materiálu (ERMA 2). Semenných sadů smrku ztepilého je v rejstříku celkem 36.

### **3.3 Fyziologické znaky a spektroskopie jako perspektivní nástroje pro genetickou analýzu**

Fyziologie je obor zabývající se fungováním živých organismů a procesy v nich probíhajícími. Jako základní věda si fyziologie rostlin klade za cíl zkoumat molekulární, fyziologické, biochemické a morfogenetické mechanismy životně

důležitých procesů v jejich dynamické posloupnosti a jako funkci střídání podmínek prostředí. V říši rostlin se zabývá vodním režimem, fotosyntézou, respirací, minerální výživou, růstem a biorytmy (Duca, 2015). Fyziologie lesních dřevin má perspektivní využití i v oblasti genetiky a šlechtění dřevin. Například ke zjišťování potenciálně geneticky podmíněné odolnosti jedinců vůči stresovým faktorům může být využita analýza obsahu chlorofylu, ač se jedná o metodu k tomuto účelu používanou dosud jen zřídka (de Miguel et al., 2014). Fakt, že se jedná o perspektivní metodu dokládá studie z roku 2016, která prokázala statisticky významnou genetickou variaci v různých indexech fluorescence chlorofylu v populacích borovice lesní v západních Čechách (Čepl et al., 2016).

Ke zjišťování obsahu pigmentů se může přistupovat buď extrakcí anebo spektroskopií. V této práci bylo využito obou metod a budou níže popisovány. Spektroskopie je obor zabývající se vlastnostmi spekter a jejich vznikem. Vegetace (stejně tak jako jiné materiály - např. minerály, horniny) absorbuje elektromagnetické záření specifických vlnových délek, spektrální projevy vegetace závisí mimo jiné na obsahu látek v rostlině, které v určité části elektromagnetického spektra záření absorbují, zejména na již zmíněných fotosyntetických pigmentech a dále dusíku, celulózy, vody (Jensen, 2014).

### **3.4 Hyperspektrální reflektance**

Reflektance neboli odrazivost je optická vlastnost popisující množství světla odraženého od materiálu v poměru k množství světla na materiál dopadající. Hyperspektrální snímkování obecně je technika získávající například na poli dálkového průzkumu Země čím dál větší význam (Chein-I Chang, 2007).

Lidské oko je schopno vnímat reflektanci multispektrální ve vlnové délce základních barev červené, zelené a modré, využívá několika jednotek oddělených spektrálních pásem, má velmi nízké spektrální rozlišení. Naproti tomu hyperspektrální snímkování využívá pro získávání dat stovky sousedních spektrálních pásem, má velmi jemné spektrální rozlišení. Z toho vyplývá, že využívání hyperspektrálního snímkování poskytuje přesnější výsledek, neboť

při multispektrálním se data zkreslují pro dosažení prostorové korelace pomocí sousedních spektrálních pásů (Chein-I Chang 2007).

Informace o hyperspektrální reflektanci nám mohou poskytnout satelity, bezpilotní letadla, letadla, hyperspektrální kamery nebo přenosné spektrometry s kontaktní sondou. (Grzybowski et al., 2021). V závislosti na konstrukci mohou hyperspektrální senzory snímat elektromagnetické vlny ultrafialového, viditelného, blízkého a středního infračerveného záření a zachycovat tepelné rozsahy elektromagnetického spektra (Masaitis et al., 2013).

Po dopadu paprsku na rostlinu zákonitě dojde k jednomu ze tří možných dějů:

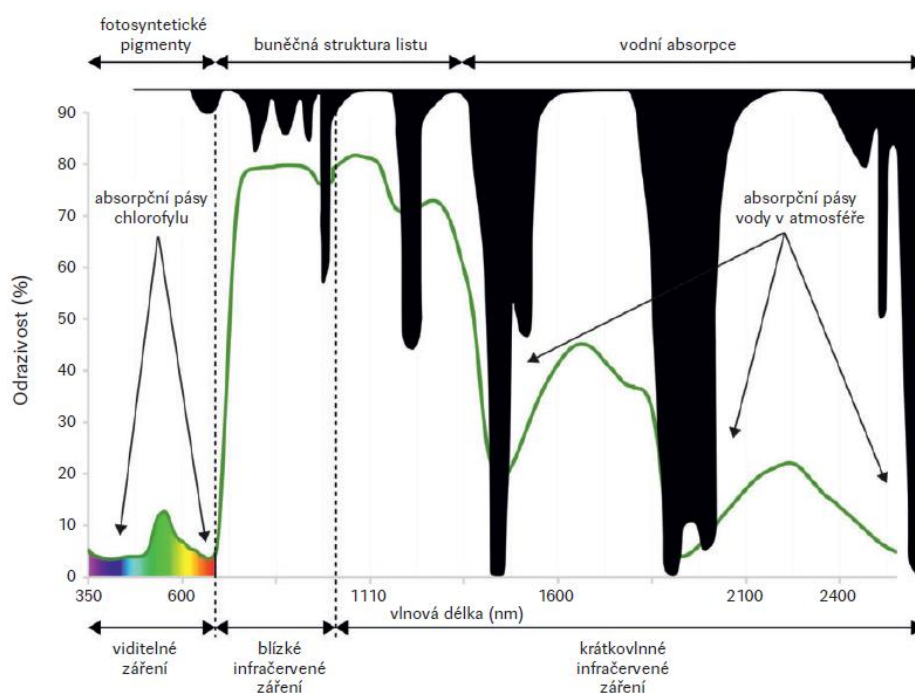
- 1) Absorpce – Světlo bude absorbováno rostlinou, je využito v procesu fotosyntézy, změněno na tepelnou energii nebo zpětně vyzářeno – fluorescence (van Bezouw et al., 2019)
- 2) Reflektance – Světlo bude rovnou odraženo rostlinou
- 3) Transmittance – Světlo projde skrz rostlinu, rostlinná pletiva a pronikne na druhé straně (Grzybowski et al., 2021)

Pravděpodobnost každého z dějů závisí na vlnové délce světla a vlastnostech rostliny (van Bezouw et al., 2019). Hyperspektrální snímkování zachycuje informaci o světle různých vlnových délek odraženém od rostliny. Abychom dokázali tato data interpretovat, je nutné znát relativní intenzitu záření různých vlnových délek dopadajícího na rostlinu. V závislosti na využití technologii je tato otázka referenčních dat, ke kterým své výsledky měření vztahujeme, řešena různými způsoby – vlastní zdroj světla se známými vlastnostmi, použití panelů s maximální odrazivostí pro optimalizaci přístrojů nebo využití druhého senzoru, nastaveného proti směru senzoru hlavního, měřícího okamžitě intenzitu světla v různých vlnových délkách (Bruning et al., 2020). Jak již bylo zmíněno, v terénu můžeme využít mimo letadla hyperspektrální kamery či přenosné spektrometry. Zásadní rozdíl v použití těchto dvou technologií spočívá v přesnosti. Přenosné spektrometry obvykle měří větší počet diskrétních vlnových délek a jsou přesnější, protože mají vlastní umělý zdroj světla o známých vlastnostech. V neposlední řadě měří bodově – přiložením na list. Spektrální kamery jsou schopny měřit reflektanci

z korun stromů, což zásadně ovlivňuje profil hyperspektrální reflektance. Tento vliv lze minimalizovat vektorovou normalizací (Knyazikhin et al., 2013).

V průběhu života stromu či rostlin v širším pojetí dochází k působení mnoha stresových faktorů, které se projeví mimo jiné v obsahu pigmentů. O již zmiňované extrakci pigmentů z odebraných vzorků bude pojednáno níže. Měření hyperspektrální reflektance bez invazivního zásahu do rostliny umožňuje měření na živém stromě a srovnání výsledků s odstupem času. Můžeme sledovat změny způsobené stresovými faktory a jejich odstraněním.

V případě měření vzorků vegetace můžeme v získaném spektru reflektance nalézt informace o obsahu fotosyntetických pigmentů, obsahu vody a dalších látek v asimilačních orgánech. Znázorněno na grafu 1.



Graf 1 - Hlavní charakteristiky spektrální křivky odrazivosti vegetace: absorpční minima způsobená přítomností chlorofylu (chlorofyl a: 430 nm a 660 nm, chlorofyl b: 450 nm a 650 nm), absorpční pásma vody (1 400 nm, 1 900 nm a 2 700 nm), vysoká odrazivost vlivem buněčné struktury (700 nm až 1 300 nm). Úprava a překlad grafu dle Jensen (2014) převzata od Albrechtová; Kupková; Campbell, (2017)

Zvláštní pozornost je v rámci vědeckých studií věnována části spektra zvané červený okraj – *red edge*, která se nachází u vzorků zdravé vegetace nachází

v oblasti blízkého infračerveného záření, konkrétně mezi 700 – 800 nm. V této části dochází k výraznému nárůstu reflektance asimilačních orgánů. Důvod tohoto nárůstu je ochrana asimilačního orgánu před přehřátím a spuštěním procesu denaturace proteinů (Jensen, 2014).

### **3.5 Fotosyntetické pigmenty**

Fotosyntetické pigmenty jsou látky s nezastupitelnou fyziologickou funkcí v rostlinách. Lokalizujeme je v tylakoidních membránách ve fotosystémech – tj vysoce organizované komplexy bílkovin. Pro cévnaté rostliny je to chlorofyl a, chlorofyl b a skupina karotenoidů.

Chlorofyly jsou pigmenty schopné přejít do excitovaného stavu, jsou hlavní součástí světlo sběrných antén. Světlo sběrné antény jsou propojené chlorofylové systémy, LHC = light harvesting complex. (Tomášková; Kubásek, 2016). Pohlucují energii světla a tím pádem jsou pro rostlinu nepostradatelné pro absorpci fotosynteticky aktivního záření. Z toho důvodu můžeme obsah chlorofylu využít pro odhad fotosyntetické kapacity jedince / porostu. (Albrechtová; Kupková; Campbell, 2017). Obsah chlorofylu je druhově závislý a v rámci jednoho jedince je obsah v rámci koruny heterogenní, vliv má také stáří listu, které se buď se stářím ustaluje a zůstává konstantní nebo se působením stresu může snižovat. Snižování obsahu chlorofylu je přirozenou a citlivou reakcí na negativní změny prostředí, pokles slouží jako ukazatel zhoršení fyziologického stavu listů. (Larcher, 1995). Obsah pigmentů je významným nespecifickým ukazatelem fyziologického stavu, avšak právě vzhledem k nespecifitě, množství vnějších i vnitřních vlivů, je vhodné využít více indikátorů, pro stanovení objektivního stavu jedince / porostu. Využívají se informace o složení půdy, údaje z meteorologických stanic a imisní monitoring. Například ve Slovinsku byl zaznamenán nárůst obsahu fotosyntetických pigmentů chlorofylu a+b a signalizoval regeneraci porostů po silné imisní zátěži oxidu síry a dusíku. Nárůst obsahu byl signifikantní od roku 1995, kdy na těchto místech došlo k prvnímu odsířování (Petkovšek, 2013). Je třeba brát v potaz také případnou kombinaci stresových faktorů.

Chlorofyl a je základní molekulou fotosystému a hlavní součástí reakčních center – ve dvojici je schopen předat elektron na jinou molekulu. Tato dvojice chlorofylů

tvoří specifický pár, který je pouze společně schopen uvolnit v reakčním centru elektron pro transport. Chloforyl b a další pigmenty předávají excitaci směrem ke specifickému páru. (Tomášková; Kubásek, 2016)

Karotenoidy v rostlině napomáhají absorpci záření na světlosběrných anténách. Jedná se o tetraterpeny se 40 uhlíky v molekule. (Tomášková; Kubásek, 2016) Jejich role spočívá v zachycení fotonů a následném přenášejí do reakčního centra společně s molekulami chlorofylu. Obecně mají ve fotosyntéze roli ochrannou, například v rámci xantofylového cyklu regulují množství energie přicházející do reakčního centra a tím eliminují možnost nadměrné ozáření. Obsah karotenoidů vykazuje výraznou dynamiku nejen v průběhu roku, ale i v průběhu dne (Urban 2011).

### **3.5.1 Obsah pigmentů**

Pro stanovení obsahu pigmentů je nutné je extrahovat z asimilačních orgánů do vhodného rozpouštědla. Pro extrakci fotosyntetických pigmentů se užívá různých látek jak povahy málo toxické – například acetonu, metanolu, etanolu, tak i látek velmi toxických – dimetylamid kyseliny mravenčí (DMF) nebo dimetylsulfoxid (DMSO).

Druh rozpouštědla je důležitým faktorem pro úspěšnost a přesnost výsledku a je druhově specifický. Pro borovici smolnou, jedlovec kanadský či jedli balzámovou byl shledán etanol / aceton dostatečně funkčním rozpouštědlem pro extrakci chlorofylu. Pro smrk ztepilý se jako neúčinnější rozpouštědlo jeví DMF. DMSO extrahovalo ze smrkových vzorků více pigmentů nežli aceton a etanol, ale stále statisticky méně než DMF (Minocha et al., 2009).

smrk ztepilý			
	Čas extrakce (h)	Koncentrace (mg*(g FM) <sup>-1</sup> )	
		Průměr	Směr.odchylka
Obsah chlorofylu			
Aceton	8–24	0,62a	0,026
Etanol	16–24	0,71b	0,012
DMSO	4–24	0,89c	0,011
DMF	24–96	0,88c	0,007
Chlorofyl a			
Aceton	8–24	0,48a	0,019
Etanol	16–24	0,52a	0,007
DMSO	4–24	0,62b	0,008
DMF	24–96	0,64b	0,005
Chlorofyl b			
Aceton	8–24	0,14a	0,008
Etanol	16–24	0,19b	0,006
DMSO	4–24	0,27c	0,003
DMF	24–96	0,24d	0,002
Obsah karotenoidů			
Aceton	8–24	0,04a	0,002
Etanol	16–24	0,03b	0,001
DMSO	4–24	0,06c	0,001
DMF	24–96	0,08d	0,001

Tabulka 3 - Výsledky testování účinnosti rozpouštědla na extrakci pigmentů smrku ztepilého. Převzato, přeloženo a upraveno dle Minocha et al.,(2009)

Při volbou mezi rozpouštědly je nutné mít na paměti, že aceton a etanol nevyžadují použití digestoře na rozdíl od DMF a DMSO.

Jak již bylo zmíněno výše, obsah pigmentů je nespecifický ukazatel fyziologického stavu. Obecně lze konstatovat, že obsah fotosyntetických pigmentů nám dokáže vyjevit nedostatek živin (Kozłowski; Pallardy, 1997), znečištění imisemi (Soukupová et al., 2000), působení přízemního ozonu a (Wallin et al., 2002) i kombinaci těchto škodlivých faktorů.



## 4 Metodika

### 4.1 Experimentální materiál

Oba semenné sady, na kterých se výzkum uskutečnil, spadají do vlastnictví VLS ČR, s.p. Zakládání semenných sadů VLS ČR, s.p. je jedním z prvků střednědobé a dlouhodobé strategie hospodaření s genovými zdroji u VLS.

Schémata obou zájmových semenných sadů byla vytvořena metodou Minimum-Inbreeding Design. Při této metodě se využívá globální přiřazovací algoritmus bez závislosti na tvorbě vyloučených zón i jiných omezujících podmínek. Ačkoliv se žádné schéma nemůže úplně přizpůsobit variabilním podmínkám reprodukční biologie semenného sadu, jedná se o schéma více efektivní nežli jiné, běžně používané designy. (Lstibůrek; El-Kassaby, 2010). Spon výsadby je u obou sadů 10 x 5 m.



Obrázek 1 - Polohy zájmových semenných sadů na mapě ČR; 1- Heřmánky, 2- Lišice;  
Zdroj: Seznam.cz (2022)

#### 4.1.1 Heřmánky

Semenný sad Heřmánky se nachází v Olomouckém kraji, v okrese Olomouc. Samotné Heřmánky jsou zaniklá zemědělská vesnice spadající pod vojenský újezd

Libavá, který slouží jako výcvikový vojenský prostor. Semenný sad patří do lesní divize Lipník nad Bečvou a lesního hospodářského celku Potštát. Nachází se v mírném svahu a je orientován na jihozápad.

Nadmořská výška semenného sadu je 570 m.n.m. Dle údajů z katastru nemovitostí se jedná o trvalý travní porost v katastrálním území Čermná u Města Libavá, parcelní číslo 113.



Obrázek 2 - Semenný sad smrku ztepilého Heřmánky



Obrázek 3 - Roubovanec smrku ztepilého ze semenného sadu Heřmánky

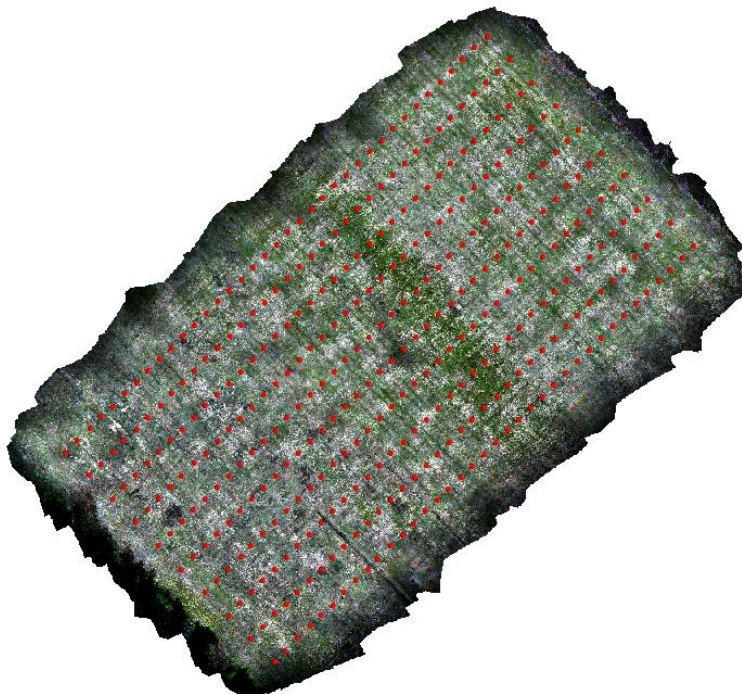
#### 4.1.2 Lišice

Semenný sad Lišice u Chlumce nad Cidlinou se nachází v Královéhradeckém kraji, v okrese Hradec Králové. Tento semenný sad patří do lesního hospodářského celku Borohrádek. Nachází se v rovinném terénu.

Nadmořská výška semenného sadu je 260 m.n.m. Dle údajů z katastru nemovitostí se jedná o pozemek určený k plnění funkcí lesa v katastrálním území Chlumec nad Cidlinou, parcelní číslo 816.



Obrázek 4 - Semenný sad Lišice u Chlumce, zdroj: Ing.Martin Slavík



Obrázek 5 - Semenný sad Lišice – multispektrální snímkování pomocí dronu, zpracováno v programu ArcMap 10.7.1.

## **4.2 Terénní šetření a sběr vzorků**

V průběhu vegetační sezóny v roce 2021 došlo k terénnímu šetření v obou zájmových semenných sadech a byla sledována plodnost a fenologie zastoupených genotypů. Vždy byl zaznamenán jeden ze čtyř stupňů narašení u každého roubovance, v případě nepřítomnosti jedince značeno NA (not available). Stupeň narašení 0 značil nulové rašení, stupeň 3 intenzivní narašení. K terénnímu šetření fenologie došlo dvakrát na obou plochách. První fenologické šetření na lokalitě Lišice 6.5.2021, lokalitě Heřmánky 15.5. téhož roku. Druhé fenologické šetření proběhlo v Lišicích 17.5. a na lokalitě Heřmánky 27.5. téhož roku. V semenném sadu Lišice byly měřeny výšky všech přítomných ramet, jelikož v tomto sadu ještě neproběhlo tvarování roubovanců.

## **4.3 Měření hyperspektrální reflektance jehlic**

Měření hyperspektrální reflektance jehlic vzorků jehlic odebraných ze všech přítomných roubovanců z obou semenných sadů bylo prováděno pomocí přenosného spektrometru firmy Malvern Panalytical ASD FieldSpec 4 Wide – Res s kontaktní sondou připojenou optickým kabelem.

Konstrukce této sondy byla – dle informací výrobce – vyvinuta tak, aby se co nejvíce minimalizovala chyba měření z důvodu rozptýlení světla. Průměr kruhového pole sondy byl 11 mm, obsah celého zorného pole 133 mm<sup>2</sup>. Zdroj světla sondy je halogenová žárovka, která je umístěna pod sklonem 12° k tělu sondy (Malvern Panalytical). Vlnové délky, v rámci kterých se s pomocí přístroje Fieldspec určil obousměrný faktor odrazivosti – bidirectional reflectance factor BRF (Čepl et al., 2018) – se nacházely v rozmezí 350 až 2500 nm.



Obrázek 6 - Spektroradiometr ASD FieldSpec4 firmy Malvern Panalytical a kontaktní sonda; dokumentace měření reflektance na Univerzitě Karlově v Praze, srpen 2021

Pro ukládání, zobrazování a průměrování dat byl využit software ASD RS<sub>3</sub> Spectral Acquisition. Komunikaci spektrometru s počítačem zajišťoval datový ethernet kabel.

Pro přesné výsledky je nutno při používání spektrometru společně s kontaktní sondou dodržovat několik základních podmínek. Obecně je nutné kontaktní sondu (tj i spektrometr) nejméně 30 minut před začátkem používání zapnout a nechat nahřát. Je vhodné sondu ve fázi nahřívání položit tak, aby paprsek žárovky sondy nepoškodil např. další elektroniku či nezpůsobil škody na jiných předmětech. Před začátkem měření se provádí nejprve optimalizace, k čemuž se využívají referenční panely poskytované výrobcem. Referenční panel je destička z fluoropolymeru, tzv. Spectralon, který má tu vlastnost, že jeho odrazivost je nejvyšší ze všech známých materiálů (Albrechtová; Kupková; Campbell, 2017)

Sonda se přikládá na referenční panel tak, aby nebyl patrný žádný únik světla z žárovky z kontaktní plochy sondy. V programu je zvolen pokyn pro provedení optimalizace a se sondou se až po úspěšném dokončení procesu nemanipuluje a je držena v jedné poloze.

Referenční Spektralon se využívá i při dalším a častěji se opakujícím kroku – při snímání *white reference*, „bílé reference“. Bílá reference se snímá na začátku měření po optimalizaci a poté je nutné ji opakovat i v průběhu měření, vždy po 15 minutách, ať už se sondou aktivně měříme či nikoliv. Kontaktní sonda totiž snímá nepřetržitě vše ve svém okolí a pokud ji necháme ležet volně v prostoru, například při zapisování výsledků měření, může po čase dojít ke změně parametrů bílé reference, a tudíž k nepřesnému výsledku měření. Je velmi důležité pravidelně čistit přední část sondy, která se referenčního panelu při snímání bílé reference dotýká – povrch sondy před přiložením na panel za pomoci etanolu zbavit ulpělé pryskyřice a jiných nečistot, abychom nezničili a neznečistili povrch Spektralonu. Pro snímání bílé reference přiložíme očištěnou kontaktní sondu na povrch referenčního panelu, opět tak, aby z žárovky neunikalo do okolí žádné světlo a vyčkáme, až se křivka reflektance ustálí na 1,0. Poté zadáme příkaz pro uložení bílé reference.

Samotné měření vzorků bylo prováděno na čistě černé podložce, aby se minimalizovalo ovlivnění hodnot reflektance vzorku. U vzorků smrku ztepilého jsme zvolili následující postup:

Na černé podložce s minimální odrazivostí bylo vyskládáno vedle sebe několik výhonů jednoho vzorku tak, aby všechny asimilační orgány byly orientovány shodným směrem a aby v žádné části, kam se přikládala kontaktní plocha sondy, neprosvítala podložka. Snímání spektra sondou bylo provedeno minimálně jednou před zadáním pokynu k uložení hodnot reflektance vzorku, aby se předešlo nepřesnosti. Stanovená tloušťka snímaného vzorku byla tvořena 3 vrstvami jehlic, v prostoru snímání sondou se nevyskytovala žádná dřevnatá část ani pupen. Pro každý vzorek z obou semenných sadů byly provedeny 3 měření. Po každém z těchto 3 měření byl vzorek přeskládán tak, aby opět splňoval předchozí podmínky.

Pro následné zpracování spektrálních dat byl použit program ViewSpecPro. V prostředí ViewSpecPro došlo k procesu exportu dat reflektance a transmitance do formátu MS Excel.

#### **4.4 Obsah a extrakce fotosyntetických pigmentů**

Koncentrace fotosyntetických pigmentů chlorofylu *a* a *b* a celkové množství karotenoidů byla zjišťována spektrofotometricky. Jako rozpouštědlo jsme využili

dimethylamid kyseliny mravenčí – dimethylformamid, dále označuji jako DMF. Tato látka je karcinogenní a toxická a leptá běžný plast, proto bylo nutné provádět veškerou manipulaci s ní v digestoři a použít skleněné lahvičky s teflonovým víčkem. Vzhledem k agresivní povaze DMF nebyla nutná homogenizace vzorku v oscilačním mlýnu, ale postačovalo nastříhání jehlic. Rychlé působení DMF vyjadřuje i obrázek, na kterém lze vidět uvolňované pigmenty již po necelých 10 minutách působení.



Obrázek 7 - Vlevo vzorek ponořený v době pořizování fotografie, vpravo vzorek ponořený do DMF 10 minut před focením

Vzorky byly postupně zpracovávány na segmenty a váženy. Čerstvá hmotnost jehlic byla vždy 100 mg s tolerancí  $\pm 1$  mg. Velikost segmentů byla 5x5 mm a zachovávalo se vždy pravidlo spočívající v odstranění koncové a počáteční části jehlice. Stanovené množství bylo zalito 10 ml DMF a byl kladen důraz, aby byl každý segment celý ponořen.

Celková doba extrakce pigmentů byla 7 dní, kdy se lahvičky se segmenty jehlic uložily do lednice udržující konstantně teplotu 4 °C v boxech zamezujících přístupu světla.

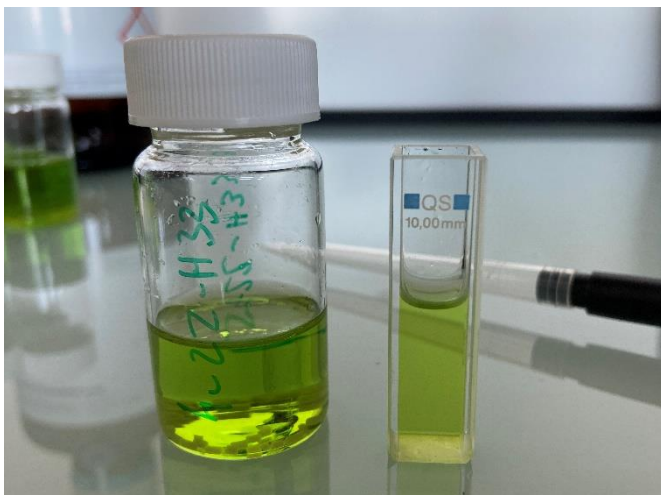


Obrázek 8 - Spektrofotometr Hach DR 6000 UV-VIS

Po uplynutí stanovené doby 7 dnů proběhlo měření absorbance vzorků na spektrofotometru firmy Hach typ DR 6000 UV-VIS. Tento spektrofotometr pojme rozpětí vlnových délek od 190 do 1100 nm, Zdrojem světla pro „prosvícení“ vzorku je deuteriová UV lampa a lampa halogenová.

Pro měření byly využity skleněné kyvety, do kterých se v digestoři pipetou odměřily vždy 2ml z původních 10 ml. Absorbance byla měřena ve vlnových délkách 480 nm, 647 nm a 664 nm – tyto vlnové délky nepřímo určují množství fotosyntetických pigmentů ve vzorku. V rámci spektrofotometru se využilo programu měření vícenásobné vlnové délky. Pro kontrolu čistoty vzorku byla měřena absorbance i ve vlnové délce 750 nm. Před samotným začátkem měření a i v jeho průběhu se v pravidelných intervalech provádělo tzv. blank měření (reference), kdy byl v kyvetě napipetován DMF o objemu 2 ml.





Obrázek 9 - Vzorek po dokončení vyluhování a kyveta s 2ml tohoto roztoku, připravená na umístění do spektrofotometru



Obrázek 10 - Displej spektrofotometru s výslednými hodnotami absorpance ve 3 vlnových délkách

Pro přepočet a výpočet koncentrace fotosyntetických pigmentů v rámci programu Excel byly využity následující rovnice (Wellburn, 1994)

$Ch_a = 11,65 * A_{664} - 2,69 * A_{647}$	( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )
$Ch_b = 20,81 * A_{647} - 4,53 * A_{664}$	( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )
$c_{(x+c)} = (1000 * A_{480} - 0,89 C_a - 52,02 * C_b) / 245$	( $\mu\text{g} / \text{ml}$ )
Ch <sub>a</sub> ... chlorofyl a	
Ch <sub>b</sub> ... chlorofyl b	
c <sub>(x+c)</sub> ... celková koncentrace karotenoidů a xantofylů	

Hodnoty absorbance ve třech vlnových délkách byly již před dosazením do těchto rovnic zkorigovány o hodnotu absorbance v 750 nm (tj tato hodnota byla odečtena).

## 4.5 Vyhodnocování dat

### 4.5.1 T-test

V rámci softwaru R byly sady porovnávány T-testem. Tato etablovaná metoda byla použita především pro porovnání identických klonů přes dvě sledované lokality, což umožňuje efektivně sledovat vliv významné změny přírodních podmínek.

### 4.5.2 ASReml – R

ASReml je statistický software, využito bylo konkrétně verze ASReml-R. ASReml-R je navržený pro smíšené modely využívající metodu Restricted Maximum Likelihood (REML) k odhadu parametrů (komponent rozptylu) v prostředí programu R. Modely lineárních smíšených efektů poskytují možnosti pro analýzu mnoha datových souborů, které se běžně vyskytují v chovu zvířat, v zemědělství, v environmentálních i lékařských vědách. (Gilmour et al., 2009)

ASReml – R využívá pro lineární smíšený model obecnou základní rovnici (Burgueño et al., 2000)

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X} \boldsymbol{\tau} + \mathbf{Z} \mathbf{u} + \boldsymbol{\eta}$$

kde:

$\mathbf{Y}$	...	výsledný vektor
$\mathbf{X}$	...	design matice pro fixní vlivy
$\boldsymbol{\tau}$	...	vektor pro fixní vlivy
$\mathbf{Z}$	...	design matice pro náhodné vlivy
$\mathbf{u}$	...	vektor pro náhodné vlivy
$\boldsymbol{\eta}$	...	vektor reziduí

#### 4.5.3 Genetická korelace

Pro analýzu výsledků v rámci výše zmíněného softwaru bylo využito dvou modelů genetické korelace. Model 1 analyzoval bez genetické korelace typu B a model 2 s využitím genetické korelace typu B.

##### 4.5.3.1 Model 1 – bez genetické korelace typu B

Přístup Modelu 1 využívá k zamítnutí hypotézy o shodnosti průměrů Waldův statistický test (také jinak Waldův Chí-kvadrát test). Společně s LRT (Likelihood ratio test, popsán v kapitole 4.5.6) patří k jednomu z tradičních přístupů k testování hypotéz – jedná se o testy regresních koeficientů. Používají se, pokud je nutno rozhodnout, zda proměnná je či není statisticky signifikantní. (Holčík, Komenda; 2015). U Waldova testu se stanoví nulová hypotéza, která očekává shodnost průměrů, ploch. Pokud je hodnota p tohoto testu větší než 0,05, nelze nulovou hypotézu zamítnout. Pokud je hodnota p nižší než 0,05, lze na hladině významnosti 95 % zamítnout nulovou hypotézu o shodnosti průměrů. Pro velké počty n je Waldův test zhruba ekvivalentní t-testu (popsán v kapitole 4.5.1), oba testy zamítnou stejné hodnoty pro velké počty vzorků (Holčík, Komenda; 2015).

##### 4.5.3.2 Model 2 – Type B genetic correlation

Přístup modelu 2 předpokládá, že jeden znak je geneticky vyjádřen jako odlišný znak v rozlišných prostředích. Poté se odhadne genetická korelace pro tento znak

mezi více prostředími (Burdon, 1977; Yamada, 1962). Pokud se korelace blíží hodnotě 1 pro dané dvě prostředí, relativní exprese znaku je mezi genotypy v obou prostředích téměř stejná a interakce je malá a biologicky nedůležitá. Pokud je genetická korelace pro dvě prostředí nízká, znamená to, že genotypy nemají v prostředích stejné pořadí a že exprese znaku je ovlivněna různými (nepřekrývajícími se) soubory genových lokusů ve dvou různých prostředích. V tomto případě genotyp, který vyniká v jednom prostředí kvůli specifickým příznivým alelám na určitých lokusech, neexceluje v jiném prostředí, pokud tyto lokusy méně ovlivňují expresi znaku (White et al., 2007).

#### 4.5.4 Heritabilita

Pomocí ASReml – R byla zjišťována i klonální heritabilita (dědivost). Heritabilita obecně je populačně-genetický parametr na úrovni populací. Jedná se o relativní číslo nabývající hodnoty 0 – 1, udávající do jaké míry je znak pod genetickou kontrolou. Vzorec pro výpočet heritability je následující:

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

kde:

$\sigma_G^2$	...	celkový genetický rozptyl
$\sigma_P^2$	...	celkový fenotypový rozptyl

#### 4.5.5 MET – Multi Environment Trial

Analýza MET – Multi Environment Trial – umožňuje ověřovat interakci testovaných klonů s prostředím v rámci více ploch. Jedná se o průměr vyjevující genetickou korelaci (Cullis et al., 1998). V MET modelech se ve více prostředích sleduje soubor genotypů nebo rodin. Cílem je porovnat genotypy napříč vybranými prostředími a identifikovat ty, které jsou obecně adaptabilní napříč zájmovými plochami, nebo identifikovat nadřazené genotypy pro podmnožiny zájmových

ploch. Analýza dat s MET může odhalit vztahy mezi prostředími z hlediska interakce: genotyp ↔ prostředí (GxE) (Isik et al., 2017).

#### **4.5.6 LRT – Likelihood-ratio test**

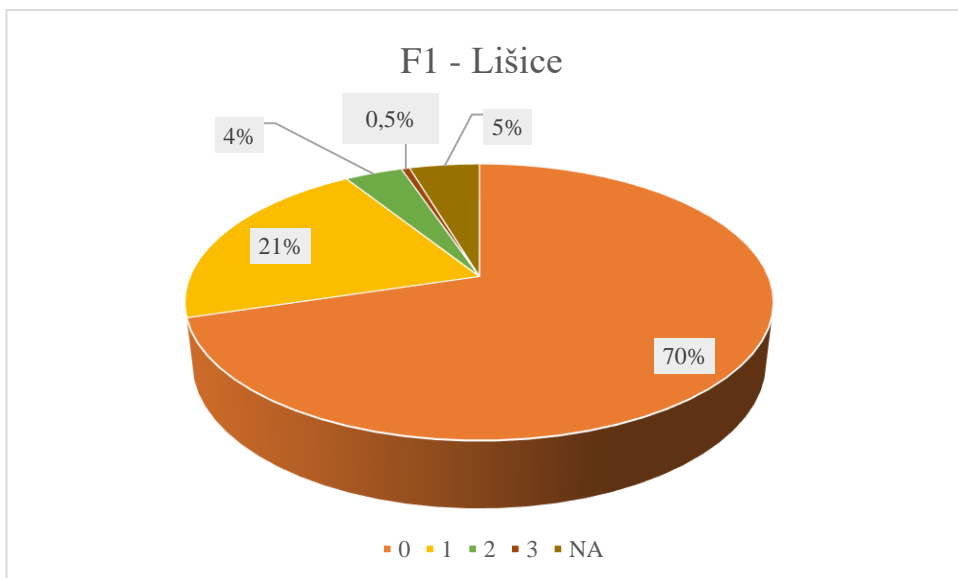
Likelihood-ratio test neboli test pomocí poměru věrohodností je jedním ze tří běžně využívaných statistických testů hypotéz. Jedná se o hrubou aproximaci Waldova testu. LRT je nulový model, který byl použit v případě, že z.ratio klesl pod 1,96 anebo pokud byla zjištěna nízká heritabilita. Vyhodnocuje rozdíl přirozených logaritmů parciálních věrohodnostních funkcí, které odpovídají alternativní a nulové hypotéze (Holčík, Komenda; 2015)

## **5 Výsledky**

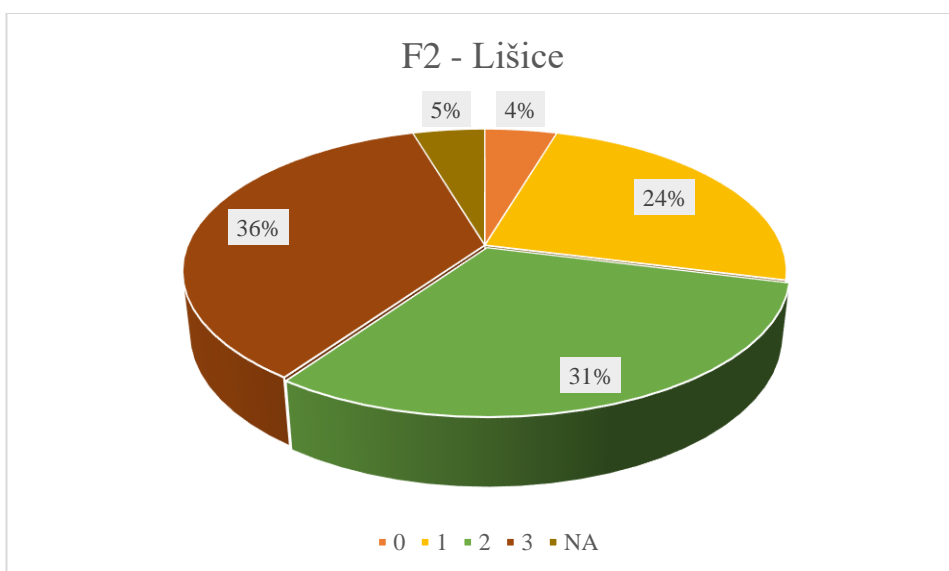
### **5.1 Vyhodnocení fenologie rašení**

Měření fenologie probíhalo ve dvou opakováních na obou semenných sadech. Pro znázornění zastoupení jednotlivých tříd rašení byly vytvořeny grafy 2, 3, 4, 5. V rámci prvního šetření v Lišicích dominovala třída rašení 0, kde bylo zastoupeno 70 % všech jedinců. Ve druhém fenologickém šetření na této lokalitě se již projevila větší variabilita zastoupení tříd narašení a dominovala již vyšší třída, konkrétně třída 3 s 36% zastoupení.

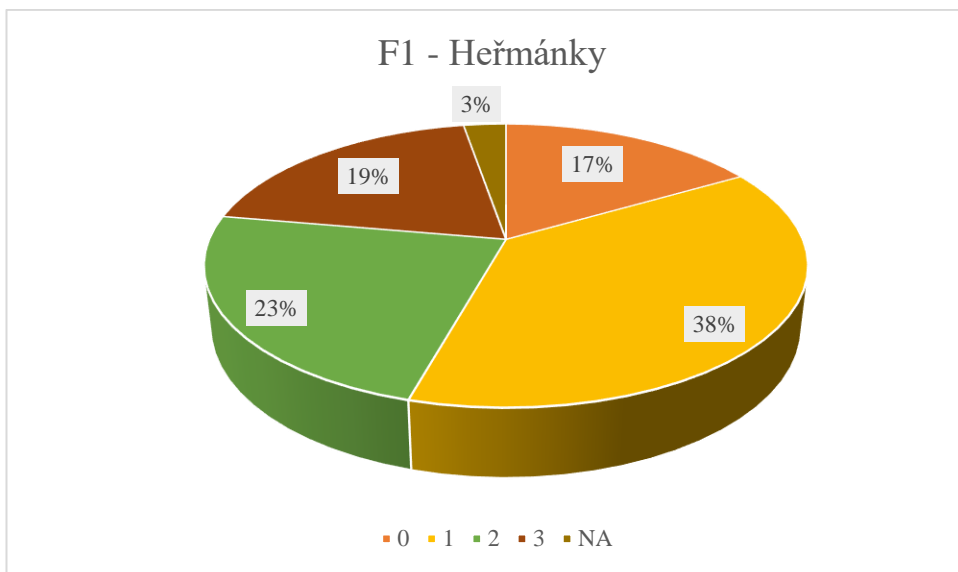
V Heřmánkách během prvního fenologického šetření převažovala třída zastoupení 1 s 38 % procenty jedinců. V rámci druhého fenologického šetření zastoupení nejčetnější třídy dosáhlo hodnoty 44 %. V tomto případě se jednalo o třídu 3.



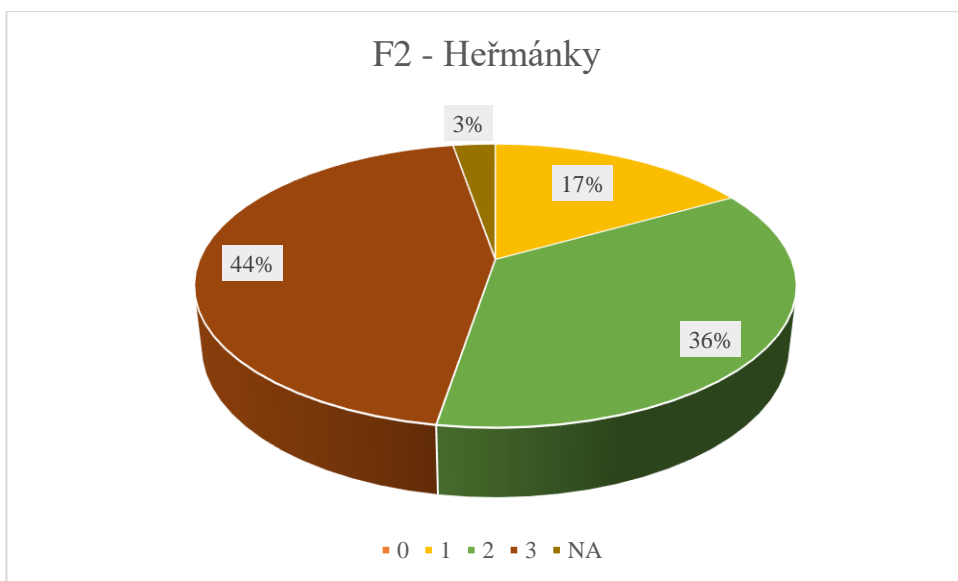
Graf 2 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při prvním měření fenologie v semenném sadu Lišice.



Graf 3 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při druhém měření fenologie v semenném sadu Lišice.



Graf 4 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při prvním měření fenologie v semenném sadu Heřmánky.



Graf 5 - Zjištěné zastoupení tříd narašení při druhém měření fenologie v semenném sadu Heřmánky.

## 5.2. Genetická variabilita rašení

### 5.2.1 Lišice u Chlumce nad Cidlinou

První měření fenologie na lokalitě Lišice u Chlumce vykazovalo nízkou, statisticky nesignifikantní heritabilitu. Druhé měření fenologie již vykazovalo z.ratio vyšší než 1,96, tudíž jej lze považovat za statisticky signifikantní odhad heritability.

	component	std.error	z.ratio	bound	%ch
clone_oprava!clone_oprava	0.12570160	0.04707720	2.6701166	P	0
col:row!R	0.70061632	0.05683458	12.3272886	P	0
col:row!col!cor	0.04989986	0.05952821	0.8382557	U	0
col:row!row!cor	0.06399242	0.06347244	1.0081923	U	0

Tabulka 4 - Druhé měření fenologie (F2) v Lišicích. Hodnota z.ratio 2,670116 u klonální příslušnosti naznačuje dostatečnou statistickou signifikanci

Hodnota klonální heritability dosáhla hodnoty 0,1521129, tj 15%, s chybou odhadu 0,0509711.



## 5.2.2 Heřmánky

První i druhé měření fenologie na lokalitě Heřmánky bylo statisticky signifikantní. Ve srovnání se semenným sadem Lišice byly výsledné hodnoty heritability vyšší při srovnatelné hodnotě chyby odhadu.

	component	std.error	z.ratio	bound	%ch
clone_oprava!clone_oprava	0.34063652	0.07619884	4.470363	P	0
col:row!R	0.62840897	0.04280419	14.681015	P	0
col:row!col!cor	-0.02125434	0.05264676	-0.403716	U	0
col:row!row!cor	-0.10582235	0.05127688	-2.063744	U	0

Tabulka 5 - První měření fenologie (F1) na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio u klonální příslušnosti naznačuje statistickou signifikanci, v porovnání s daty z Lišic nabývá násobně vyšších hodnot.

Heritabilita dle prvního fenologického měření byla odhadnuta s chybou odhadu 0,05431444 na 0,3515176, tj. 35 %.

	component	std.error	z.ratio	bound	%ch
clone_oprava!clone_oprava	0.22253846	0.04772099	4.6633242	P	0.0
col:row!R	0.32273374	0.02184208	14.7757795	P	0.0
col:row!col!cor	-0.02292716	0.05280109	-0.4342176	U	0.1
col:row!row!cor	-0.03503906	0.05228187	-0.6701953	U	0.0

Tabulka 6 - Druhé měření fenologie (F2) na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio nabývá nejvyšší hodnoty ze všech 4 měření.

Heritabilita dle druhého fenologického měření byla odhadnuta s chybou odhadu 0,05519551 na 0,4081236, tj. 40 %.

### 5.2.3 Heritabilita fenologie rašení společně hodnocená v obou semenných sadech

Pro spojení výsledků z obou semenných sadů a zamítnutí hypotézy shodnosti těchto sadů bylo využito dvou modelů MET. Vzhledem ke statisticky nesignifikantnímu výsledku prvního měření fenologie na lokalitě Lišice, byla do modelu zahrnuta pouze data z druhého měření (F2).

Model 1 bez genetické korelace typu B dokázal s 95 % pravděpodobností zamítnout hypotézu o shodnosti průměru, tudíž hypotézu, že jsou plochy shodné.

	Df	Sum of Sq	wald statistic	Pr(Chisq)
(Intercept)	1	1570	1570	< 2.2e-16 ***
site	1	18	18	2.208e-05 ***
residual (MS)		1		

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tabulka 7 - Model 1 bez genetické korelace typu B, hodnota parametru p Waldova statistického testu byla  $2,208 \cdot 10^{-5}$ , z toho vyplývá, že na hladině pravděpodobnosti 95% můžeme zamítnout hypotézu o shodných průměrech.

Heritabilita s využitím Modelu 1 byla odhadnuta s chybou odhadu 0,04104505 na 0,2582631, tj. 25%.

Model 2 s genetickou korelací typu B (Type – B – Genetic Correlation) reflektující heterogenní korelaci mezi klony redukoval chybu odhadu oproti Modelu 1 a prokázal vysokou genetickou korelací. Model 2 ale neodhadl chybu odhadu.

	component	std.error	z.ratio	bound	%ch
site:clone!site!L:!site!H.cor	0.99909997	NA	NA	B	0.0
site:clone!site_H	0.21245730	0.04520710	4.6996448	P	0.0
site:clone!site_L	0.10567942	0.03739814	2.8257935	P	0.0
site_H!R	0.32752358	0.02198416	14.8981653	P	0.0
site_H!col!cor	-0.01770385	0.05198858	-0.3405335	U	0.0
site_H!row!cor	-0.00534973	0.05110211	-0.1046871	U	0.1
site_L!R	0.70126598	0.05453413	12.8592124	P	0.0
site_L!col!cor	0.04903951	0.05645778	0.8686050	U	0.0
site_L!row!cor	0.06678452	0.06116047	1.0919556	U	0.0

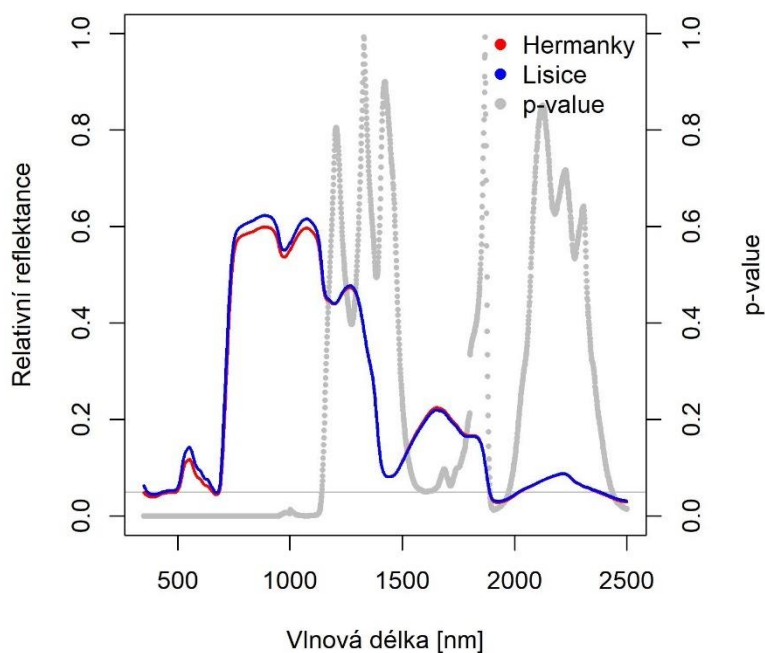
Tabulka 8 - Model 2 Type-B Genetic Correlation. Odhad genetické korelace 0,99909997, bez odhadu chyby. B = boundary – zastavení modelu a neodhadnutí chyby odhadu.

Heritabilita byla při využití Modelu 2 odhadnuta s chybou odhadu 0,0385325 na 0,2361946, tj 24%.

### 5.3 Hyperspektrální reflektance v semenných sadech

Reflektance byla měřena na konci vegetačního období, což umožnilo na základě empirických zkušeností (Stejskal; ústní sdělení) lépe posoudit genetické rozdíly v reflektanci podmíněné klonálně.

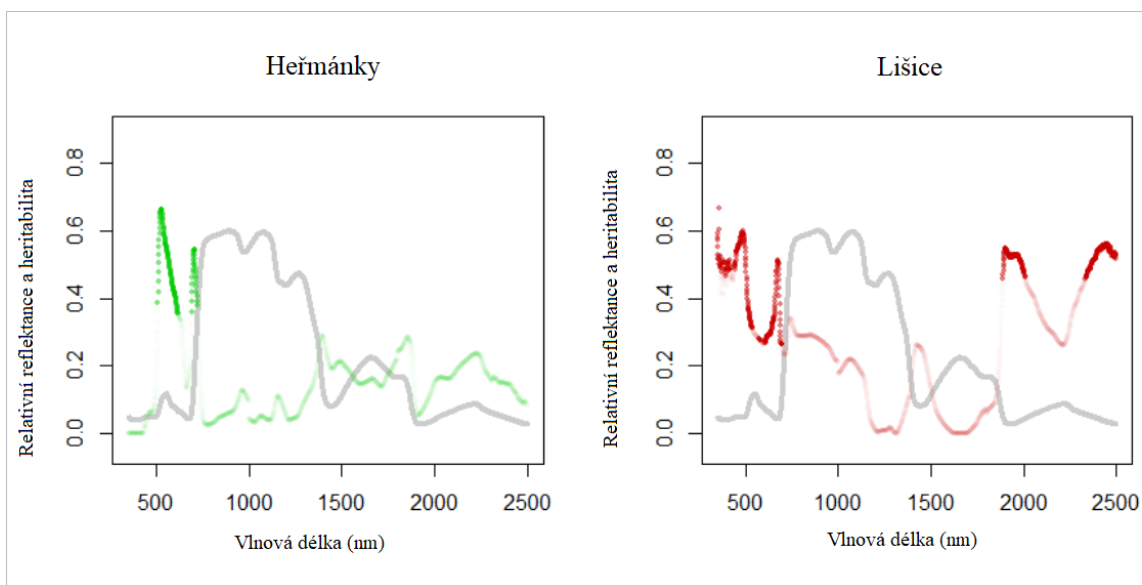
Na lokalitě Lišice byly hodnoty reflektancí obecně vyšší.



Graf 6 - Znázornění průměrných reflektancí společně s výsledky t-testu (kritická hodnota 0,05 znázorněna vodorovnou rýskou)

P-hodnota t-testu pod 0,05 v oblasti vlnových délek 0-1300 nm a 1800 – 2000 nm indikuje statisticky významný rozdíl mezi oběma plochami. Zároveň lze pozorovat odlišnosti v reflektanci v oblasti NIR.

### 5.3.1 Heritabilita reflektance



Graf 7 - Heritability reflektance roubovanců z obou semenných sadů. Body znázorňují jednotlivé heritability odhadnuté v jednotlivých vlnových délkách.

Na grafu 8 vlevo znázorňujícím výsledky z Heřmánek lze pozorovat signifikantní heritabilitu až 0,7 (tj 70%). Nejvyšších hodnot dosahuje v oblasti red edge a oblasti reflektance chlorofylu. Na grafu 8 vpravo znázorňujícím výsledky z Lišic lze taktéž pozorovat signifikantní heritabilitu až 0,6 (tj 60%).

## 5.4 Obsah pigmentů a genetická variabilita

### 5.4.1 Porovnání obou ploch

	$\bar{\varnothing}_{\text{Lišice}}$	$\bar{\varnothing}_{\text{Heřmánky}}$	$\sigma_{\text{Lišice}}$	$\sigma_{\text{Heřmánky}}$	p-hodnota
Chlorofyl a	0,80488	0,9197	0,28022	0,252474	0,0592
Chlorofyl b	0,26062	0,2977	0,09689	0,084214	0,1162
Karotenoidy	0,15566	0,1636	0,04216	0,039214	0,4163

$\bar{\varnothing}$  průměrná hodnota obsahu pigmentu  
 $\sigma$  směrodatná odchylka

Tabulka 9 - p-hodnoty Waldova testu spolu s průměrnými hodnotami obsahu fotosyntetických pigmentů a směrodatné odchylky průměru

V tabulce 9 jsou shrnuty průměrné hodnoty obsahu chlorofylu a, chlorofylu b a karotenoidů, směrodatné odchylky a p-hodnoty Waldova testu. V případě srovnání obsahu chlorofylu a byla zjištěna hraniční p-hodnota Waldova testu. Tento výsledek indikuje, že by se od sebe plochy mohly statisticky významně lišit (p-hodnota by byla průkazná již při drobném navýšení počtu vzorku). P-hodnoty Waldova testu pro obsah chlorofylu b a karotenoidů byly vždy nad 0,05, zde je tedy možno na hladině pravděpodobnosti 95 % zamítnout hypotézu o shodnosti průměrů, respektive zkoumaných ploch.

#### 5.4.2 Lišice

Vzhledem k nízkým hodnotám z.ratio (pod 1,96) a nízké heritabilitě bylo provedeno srovnání s nulovým modelem (LRT test), který potvrdil, že nejde o statisticky významné odhady genetických parametrů.

Byla prokázána statisticky významná hodnota prostorové korelace v rámci sloupců – 0,51 (tj 51%) s chybou odhadu 0,09. Tento prostorový trend se projevoval jak ve výsledcích heritability obsahu chlorofylu a, b, tak i karotenoidů.

Genetický signál je možné považovat za slabý, ale vliv prostředí, konkrétně lokálního zamokření v rámci sloupců v semenném sadu, můžeme hodnotit jako výrazný.

#### 5.4.3 Heřmánky

V rámci výsledků analýzy pigmentů z této lokality nebylo při analýze chlorofylu a a b nutné srovnání s nulovým modelem pomocí LRT testu, na rozdíl od analýzy karotenoidů.

#### Chlorofyl A

	component	std.error	z.ratio	bound	%ch
clone_oprava!clone_oprava	0.008942206	0.004558157	<b>1.961803</b>	P	0
col:row!R	0.055975617	0.006968201	8.033009	P	0
col:row!col!cor	-0.032101389	0.103615372	-0.309813	U	0
col:row! <b>row!</b> cor	<b>0.358436794</b>	<b>0.098585575</b>	<b>3.635794</b>	U	0

Tabulka 10 - Výsledky analýzy heritability chlorofylu a na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio je hraniční, avšak dostatečná. Střední míra prostorové korelace byla pozorována ve směru řad.

Prostorová korelace v rámci řad nabývá hodnoty 0,358436794 se střední chybou odhadu 0,098585575. Možné ovlivnění umístěním semenného sadu ve svahu.

Heritabilita obsahu chlorofylu a dosáhla hodnoty 0,137748, tj. 13% s nízkou střední chybou odhadu 0,0653055.

### Chlorofyl B

	component	std.error	z.ratio	bound %ch
clone_oprava!clone_oprava	0.001242456	0.0005541782	2.2419790	P0.0
col:row!R	0.006008452	0.0007497410	8.0140366	P0.0
col:row!col!cor	-0.061131460	0.1054649136	-0.5796379	U0.1
col:row!row!cor	0.356751461	0.1003515624	3.5550165	U0.0

Tabulka 11 - Výsledky analýzy heritability chlorofylu b na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio je dostatečně vysoká. Míra pozitivní korelace ve směru řad je stejně jako u výsledků analýzy chlorofylu a v tabulce 10 významná.

Prostorová korelace v rámci řad nabývá hodnoty 0,356751461 s odhadem střední chyby 0,1003515624.

Heritabilita obsahu chlorofylu b byla 0,1713518, tj. 17 % se střední chybou odhadu 0,06888181.

### Karotenoidy

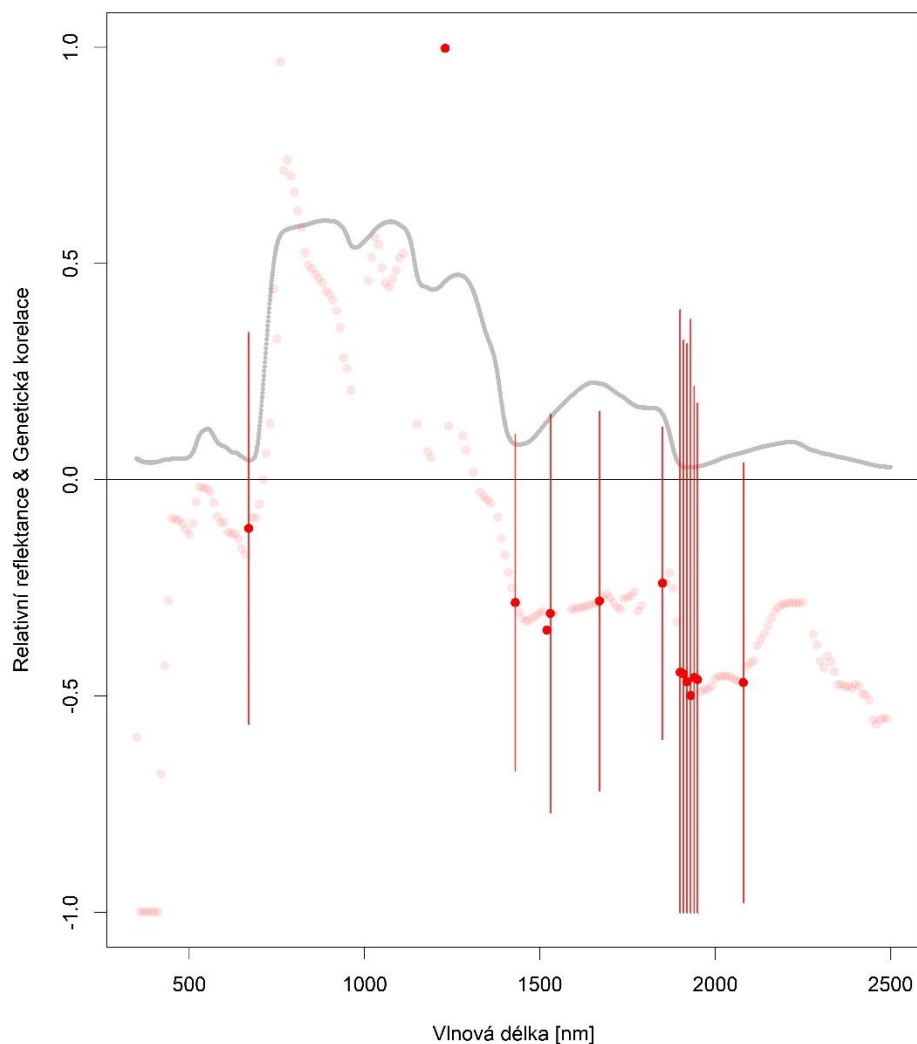
	component	std.error	z.ratio	bound %ch
clone_oprava!clone_oprava	0.0001612181	0.0001019080	1.5819968	P 0.0
col:row!R	0.0013957440	0.0001690941	8.2542436	P 0.0
col:row!col!cor	-0.0143909605	0.1007698291	-0.1428102	U 0.2
col:row!row!cor	0.3110306665	0.1018784375	3.0529587	U 0.0

Tabulka 12 - Výsledky analýzy heritability karotenoidů na lokalitě Heřmánky. Hodnota z.ratio byla nízká, bylo nutné použít srovnání s nulovým LRT testem.

Po srovnání s nulovým LRT testem byla zjištěna p hodnota Waldova testu 0,046, jedná se tedy o hraniční hodnotu pro vyvrácení hypotézy o shodnosti průměrů.

Heritabilita karotenoidů byla 0,1035466, tj. 10 % s chybou odhadu 0,06254905.

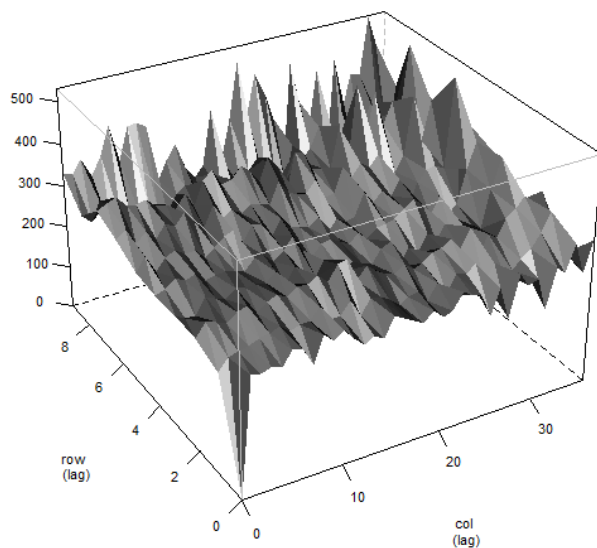
## 5.5 Korelace mezi sledovanými znaky



Graf 8 - Vyjádření genetické korelace, první měření fenologie na lokalitě Heřmánky.

Na grafu 8 je znázorněna genetická korelace dat z prvního fenologického šetření na lokalitě Heřmánky. Lze konstatovat, že chybovost odhadu je poměrně vysoká, ale statistická významnost je zachována na dostatečné úrovni. Roubovanci, kteří brzy narašili, vykazují vyšší hodnoty absorbance, tím pádem u těchto jedinců klesá reflektance.

## 5.6 Variogram výšek



Graf 9 - Variogram výšek roubovanců na lokalitě Lišice

Jelikož výška roubovanců byla měřena pouze na ploše Lišice (Heřmánky již byly tvarovány ořezem), nelze oba sady objektivně v tomto znaku porovnat. Prostorová variabilita však hrála významnou roli v aktuálním přírůstu v Lišicích. Ve směru řad jsme zaznamenali kladnou prostorovou autokorelaci (0.16). Tuto variabilitu znázorňuje graficky experimentální semivariogram (graf 9)

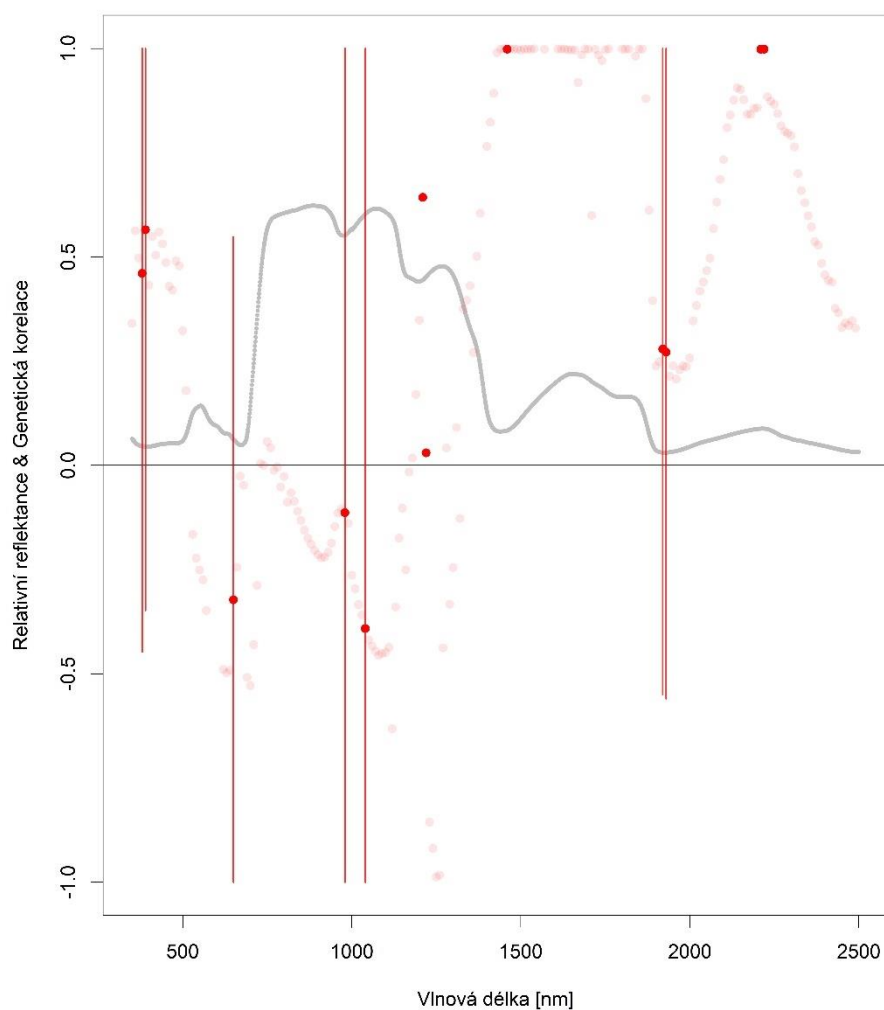


## 5.7 Fenotypová a genetická korelace mezi výškou a obsahem pigmentů na lokalitě Lišice

```
data: data$Car and data$H
s = 473475, p-value = 0.03662
alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
sample estimates:
rho
-0.1807499
```

Tabulka 13 - korelace mezi výškou roubovanců a obsahem karotenoidů, p-hodnota 0,03662 signalizuje statisticky signifikantní výsledek záporné genetické korelace - 0,1807499. Jedná se neparametrickou metodu Spearman rank correlation.

Výška byla, jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole (5.5), měřena pouze na Lišicích. Byla zjišťována fenotypová i genetická korelace mezi výškou a obsahem pigmentů vzorků. Statisticky signifikantní byla ale pouze fenotypová korelace výšky a karotenoidů. Výsledky poukázaly na slabě negativní korelaci - 0,1807499 mezi výškou roubovanců na lokalitě Lišice a obsahem karotenoidů.



Graf 10 - Vyjádření fenotypové korelace na lokalitě Lišice

Po posouzení fenotypových korelací jsme přistoupili také k odhadu genetických korelací mezi výškou a reflektancí. Na grafu 10 lze pozorovat výrazné genetické korelace v oblasti absorpce vody (zde 1 400 nm, 1900 nm) a v oblasti pásu karotenoidů ( $\pm 600$  nm).

## 6 Diskuze

Cílem této práce bylo posoudit vliv klonální příslušnosti a podmínek prostředí na roubovance smrku ztepilého v semenných sadech. Jedná se o klonální kopie rodičovských stromů dnes již zaniklých porostů vojenského újezdu Libavá. V tom smyslu můžeme dané výsadby považovat za klonový archiv cenné a kdysi vitální lokální populace oderských vrchů. Pro účely efektivního hodnocení experimentu bylo využito klonálních replikací v rámci dvou semenných sadů, což nám umožnilo studium adaptačních znaků přes významný gradient prostředí.

### 6.1 Fenologie rašení a heritabilita

Výsledky prvního fenologického šetření v semenném sadu v Lišicích vykazovaly po analýze dat smíšeným modelem heritabilitu velmi nízké hodnoty (0,10) na hranici průkaznosti. Tato skutečnost může být mimo jiné ovlivněna 70% zastoupením třídy narašení 0. Druhé fenologické šetření již bylo, co se tříd narašení týče, variabilnější. Poměrově nejpočetněji zastoupenou byla třída 3, celkem 36 % z celkového počtu roubovanců.

Heritability obou fenologických šetření v semenném sadu Heřmánky byly statisticky významné. Na rozdíl od Lišic nebyla třída narašení 0 v prvním šetření zastoupena markantně, její poměrové zastoupení bylo 17 % a nejpočetnější třída byla 1 s 38 %. V druhém fenologickém šetření převládala třída narašení 3, celkem 44 % zastoupení všech roubovanců. Tyto rozdíly jsou podle očekávání závislé na konkrétním načasování fenologických šetření. Dokonalá synchronizace pozorování na obou plochách byla vzhledem k jejich vzdálenosti a rozdílné nadmořské výšce, která vysvětluje většinu rozdílů v načasování rašení, velmi obtížná.

Genetická korelace dat z prvního fenologického šetření na lokalitě Heřmánky vykazovala vysokou chybovost odhadu. Důvodem pro tuto skutečnost je pravděpodobně nižší počet vzorků, tj. nižší *sample size*. Genetické korelace jsou na velikost vzorku vůbec nejcitlivější ze všech odhadovaných genetických parametrů,

jak dokazuje studie již z roku 1973 od Klein et.al. Vliv nižšího počtu vzorků na zvyšování úrovně chybovosti lze nalézt v řadě dalších studií, některé se tomuto tématu věnovaly velmi podrobně, např. studie z roku 2014 od Bijma et.al, která tento fakt potvrzuje.

Co se výsledků genetické korelace prvního fenologického šetření z Heřmánků týče, je statistická významnost zachována na dostatečné úrovni, aby se dalo konstatovat, že se jedná o signifikantní výsledek vyjadřující střední hodnotu záporné korelace. Roubovanci s brzkým nástupem rašení vykazují vyšší hodnoty absorpance, tím pádem u těchto jedinců klesá reflektance. Z tohoto faktu lze odhadnout, že jedinci, u kterých byly zjištěny vyšší hodnoty absorpance jsou více vitální v porovnání s jedinci s nižšími hodnotami absorpance, což indikuje, že dříve rašící jedinci mají obecně vyšší životaschopnost. Dřívější rašení je, jak deklaruje Ramírez-Valiente et al (2020) ve své studii zabývající se vzorci selekce fenotypových znaků u borovice lesní, považováno za adaptaci na klimatickou změnu a ovlivňuje pozitivně vitalitu jedince (Ramírez-Valiente et.al, 2020). Princip ovlivnění rašení teplotními rozdíly pozorujeme mimo starší jedince i u sazenic, jak dokládá Granhus et al. ve své studii v roce 2008, ve které byl sledován vliv teploty během indukce dormance smrkových semenáčků na narašení pupenů. Bylo zjištěno, že vyšší konstantní teplota vedla k prodloužení období dormance a pozdnímu narašení sazenic (Granhus et al., 2009).

Dle poznatků studie Sogaard et.al z roku 2007 má významný vliv na počátek rašení původ semenáčků. Doba počátku narašení se v tomto experimentu lineárně zkracovala s rostoucí zeměpisnou šířkou lokality, ze které jedinci pocházeli (Sogaard et.al, 2007).

### **6.1.1 Heritabilita fenologie rašení společně hodnocená v obou sadech**

Využití modelů MET bylo možné pouze u dat z druhého fenologického šetření. Důvodem je již zmíněný statisticky málo významný výsledek prvního šetření na lokalitě Lišice, který mohl být způsoben nedostatkem jedinců jiných tříd rašení než 0. Počet jedinců vstupující do modelů MET ovlivňuje statistickou významnost

přímo úměrně. Zamítnutí hypotézy o shodnosti ploch bylo očekávané. Využití modelu MET bez genetické korelace typu B prokázalo heritabilitu 0,25.

Model 2 s genetickou korelací typu B reflektující heterogenní korelaci mezi klony redukoval chybu odhadu heritability oproti Modelu 1 a vykázal výslednou heritabilitu 0,24. Model využívající genetickou korelaci typu B prokázal vysokou genetickou korelaci 0,99. Tento výsledek je ale nutno interpretovat s ohledem na fakt, že model byl ovlivněn tzv. *boundary* a nekalkuloval spolu s korelací chyby odhadu.

## 6.2 Hyperspektrální reflektance a její heritabilita

Heritabilita v semenném sadu Heřmánky dosahovala maxima 0,7 (tj 70%), v Lišicích pak 0,6 (tj 60%). Z grafu 7 je patrné, že nejvyšších hodnot dosáhla v oblasti red edge a oblasti reflektance chlorofylu. Oblast red edge je velmi intenzivně zkoumaná oblast spektra v rámci vegetace, má význam pro hodnocení fyziologického stavu rostlin. Zde panuje shoda s výsledky studie z roku 2018, kdy nejvyšší hodnoty heritability byly v testech potomstev borovice lesní zjištěny v oblasti red edge (Čepl et al., 2018).

Vyšší hodnoty reflektance byly obecně pozorovány na lokalitě Lišice, což indikuje pravděpodobně zvýšenou míru stresu na této lokalitě. Zde je možné usuzovat na možnou souvislost s přesunem roubovanců mimo jejich původní region, kde byli adaptováni. Plocha Lišice je také problematická i s ohledem na lokální zamokření a větší výskyt buřeně. Na lokalitě Lišice se dále objevují výrazné peaky signifikantní heritability v oblasti Short Wave Infrared (SWIR). Za povšimnutí stojí především vysoká heritabilita v absorbančním pásu vody (1800 až 2000 nm). Tuto skutečnost můžeme interpretovat právě hraničními podmínkami pro přežití některých roubovanců, které dále podtrhují genetické rozdíly mezi nimi. Tuto skutečnost lze dále podložit odlišnostmi hodnot reflektance v oblasti NIR (*near infrared*), které taktéž mohou indikovat stres (Rock et al., 1988). Lze nalézt shodu se studií z roku 2013 zabývající se vlivem stresu na vlastnosti spektrální reflektance jehličnanů, ve které Masaitis et.al prokázal souvislost stresu mimo jiné s odlišnostmi hodnot reflektance a obsahu chlorofylu (Masaitis et al., 2013)

### 6.3 Obsah pigmentů

Průměrné hodnoty obsahu pigmentů na obou plochách byly srovnávány pomocí Waldova statistického testu. Hraniční p-hodnota u obsahu chlorofylu a indikuje, že se od sebe plochy mohou statisticky významně lišit. Zde byl pravděpodobně nedostatečný počet vzorků pro detekci statisticky významného rozdílu. Tento výsledek je neočekávaný, neboť ve výsledcích reflektance chlorofylu a tuto skutečnost nepozorujeme. Z výsledků p-hodnoty porovnání obsahu dalších dvou pigmentů lze usuzovat, že se plochy statisticky významně neliší.

Výsledky analýzy pigmentů potvrdily u obou semenných sadů signifikantní prostorový trend. U semenného sadu Lišice lze konstatovat, že se jednalo o ovlivnění parametry prostředí ve směru sloupců, konkrétně lze vysvětlit zamokřením, které bylo pozorováno při odběru vzorků roubovanců. Prostorová korelace nabývala hodnoty přes 50 %, tudíž se jedná o významné ovlivnění napříč obsahy všech sledovaných fotosyntetických pigmentů. Semenný sad Heřmánky vykazoval po analýze pigmentů střední míru prostorové korelace, na rozdíl od semenného sadu Lišice, ve směru řad. Semenný sad Heřmánky je umístěn v mírném svahu, proto je možno konstatovat, že tento parametr prostředí středně silně ovlivnil rozvinutí tohoto prostorového trendu u roubovanců. Při odběru vzorků a terénním šetření bylo odhadováno, že se konkrétní terénní podmínky semenného sadu projeví ve výsledcích analýz, což se potvrdilo. Prostorová korelace nabývala hodnoty 35 % pro všechny sledované fotosyntetické pigmenty.

Tématem dědivosti pigmentů se zabýval mimo jiné Čepl et al. ve své studii z roku 2016, která se věnovala variabilitě a heritabilitě fluorescence chlorofylu u borovice lesní (Čepl et al., 2016). Studie prokázala signifikantní variabilitu, což se stalo i v této práci.

Nejen u lesních dřevin, ale i u rostlin obecně byl již v minulosti sledován vliv genetických dispozic na obsah fotosyntetických barviv. Již v roce 1910 publikoval Gates studii dokazující genetickou variabilitu a heritabilitu obsahu pigmentů v pupalce dvouleté (Gates, 1910). Obecně je toto téma diskutováno především u zemědělských plodin a užitkových rostlin. Heritabilita pigmentů je v rámci lesnického výzkumu oblastí málo prozkoumanou.

#### **6.4 Fenotypová korelace mezi výškou a obsahem karotenoidů**

Na lokalitě Lišice byla zjištěna slabě negativní fenotypová korelace  $-0,1807499$  mezi výškou a obsahem karotenoidů. Karotenoidy jsou významným ukazatelem stresu rostlin, reagují s volnými radikály a tím zabraňují vlivu těchto látek na metabolismus rostliny. Na rozdíl od chlorofylu je právě u karotenoidů opakovaně prokazována indikační funkce stresu, ať již způsobeného např. suchem či znečištěním, jak dokazuje studie od Matysiak z roku 2001, ve které byl vliv znečištění ovzduší na změnu obsahu těchto pigmentů posuzován v jehlicích borovice lesní (Matysiak, 2001) či studie od Havaux z roku 2013, kde byl tento vliv potvrzen a vysvětlen.

Výrazné korelace v oblasti absorbančního spektra vody a v oblasti pásu karotenoidů (graf 10) v této práci potvrzují skutečnost, že roubovanci v semenném sadu Lišice byli vystaveni určitému stresu. Zmíněný indikátor stresu se využívá při analýzách buď pouze analýzou obsahu karotenoidů, anebo poměru karotenoidů ku součtu chlorofylu a a b. Tímto poměrem zjišťujeme množství karotenoidů vůči ostatním fotosyntetickým pigmentům, které stres neindikují. Nutno ale zmínit, že změna obsahu dalších fotosyntetických pigmentů (tj chlorofylů) v rostlině se může vlivem stresu dále projevit, jak deklaruje studie Arji et al. z roku 2002. Indikační schopnost karotenoidů je však nesporná.

V závěru této kapitoly můžeme hypotézu předpokládající vliv ortetů a klimatických podmínek v místě výběrových porostů na růst a vývoj sledovaných roubovanců na základě všech našich výsledků potvrdit.

## 7 Závěr

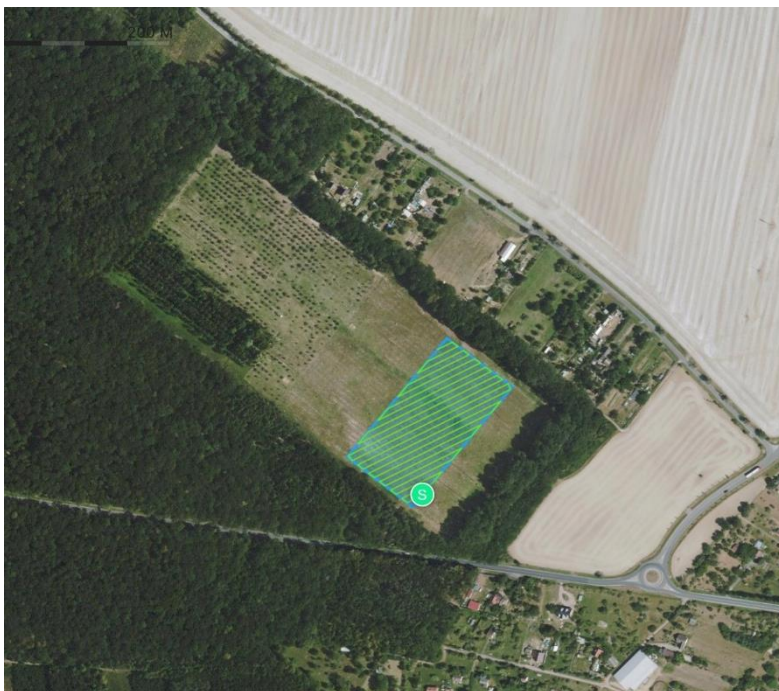
Naše výsledky prokázaly významný vliv ortetů i rozdílných podmínek prostředí na prosperitu a fenologii sledovaných roubovanců. Přesné odhady většiny genetických parametrů dokládají použitelnost semenných sadů pro výzkum genetické variability, ve vztahu s adaptačními znaky, zejména s fenologií rašení

Oba zájmové semenné sady budou předmětem dalšího výzkumu se zaměřením na multispektrální snímkování a analýzu dat s využitím DPZ. Na lokalitě Lišice již bylo provedeno multispektrální snímkování dronem na jaře 2021. firmy DJI model Phantom 4 Pro Multispectral.



Obrázek 11 - Dron DJI model Phantom 4 Pro Multispectral - při vzletu





Obrázek 12 - Semenný sad Lišice v softwaru Ground Station Pro, s vyznačením plánované struktury letu dronu. Stočení trajektorie je záměrné z důvodu přizpůsobení se ročnímu období a časovému období dne. Autor Ing. Martin Slavík, Katedra hospodářské úpravy lesa, ČZU

Prvotní zpracování těchto dat již proběhlo v softwaru ArcMap 10.7.1. Analýza těchto multispektrálních dat je plánována jakožto pokračování této práce a dalšího výzkumu souvisejícího se semennými sady smrku spadající pod VLS s.p. Dalším cílem je nasnímat multispektrální kamerou i semenný sad Heřmánky a následně provést analýzu výsledků snímkování pro oba sady.

## 8 Seznam literatury a použitých zdrojů

- Albrechtová, J., Kupková, L., Campbell, P.K.E (2017). Metody hodnocení fyziologického stavu smrkových porostů: Případové studie sledování vývoje stavu smrkových porostů v Krušných horách v letech 1998 - 2013. Praha: Česká geografická společnost. ISBN 978-80-905642-9-9.
- Arji, Isa & Arzani, Kazem. (2008). Effect of Water Stress on Some Biochemical Changes in Leaf of Five Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *Acta horticulturae*. 791. 523-526. 10.17660/ActaHortic.2008.791.80.
- Bezouw van, R. F. H. M., Keurentjes, J. J. B., Harbinson, J., & Aarts, M. G. M. (2019). Converging phenomics and genomics to study natural variation in plant photosynthetic efficiency. *Plant Journal*, 97(1), 112–133. h <https://doi.org/10.1111/tpj.14190>
- Bijma, P., Bastiaansen, J.W. Standard error of the genetic correlation: how much data do we need to estimate a purebred-crossbred genetic correlation? *Genet Sel Evol* 46, 79 (2014). <https://doi.org/10.1186/s12711-014-0079-z>
- Bruning, B., Berger, B., Lewis, M., Liu, H., & Garnett, T. (2020). Approaches, applications, and future directions for hyperspectral vegetation studies: An emphasis on yield-limiting factors in wheat. *Plant Phenome Journal*, 3(1). <https://doi.org/10.1002/ppj2.20007>
- Burdon, R. D. (1977). Genetic Correlation as a Concept for Studying Genotype-Environment Interaction in Forest Tree Breeding. *Silvae Genetica*, 26(5–6). [https://www.thuenen.de/media/institute/fg/PDF/Silvae\\_Genetica/1977/Vol.\\_26\\_Heft\\_5-6/26\\_5-6\\_168.pdf](https://www.thuenen.de/media/institute/fg/PDF/Silvae_Genetica/1977/Vol._26_Heft_5-6/26_5-6_168.pdf)
- Burgueño, J., Cadena, A., Banziger, M., Gilmour, A. R., & Cullis, B. (2000). User's Guide for Spatial Analysis of Field Variety Trials Using ASREML. *Cimmyt*. [www.cimmyt.org](http://www.cimmyt.org)
- Čepl, J., Holá, D., Stejskal, J., Korecký, J., Kocová, M., Lhotáková, Z., Tomášková, I., Palovská, M., Rothová, O., Whetten, R. W., Kanak, J., Albrechtová, J., & Lstibůrek, M. (2016). Genetic variability and heritability of chlorophyll a

- fluorescence parameters in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Tree Physiology*, 36(7), 883–895. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpw028>
- Čepl, J., Stejskal, J., Lhotáková, Z., Holá, D., Korecký, J., Lstibůrek, M., Tomášková, I., Kočová, M., Rothová, O., Palovská, M., Hejtmánek, J., Krejzková, A., Gezan, S., Whetten, R., & Albrechtová, J. (2018). Heritable variation in needle spectral reflectance of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) peaks in red edge. *Remote Sensing of Environment*, 219, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2018.10.001>
- Chang, C.-I. (2007). *Hyperspectral Data Exploitation - Theory and Applications* (Chein-I Chang, Ed.; Vol. 1). John Wiley & Sons.
- Coufal, L., Houška, V., Reitschläger D., Valter, J., Vráblík, T. (2004). Fenologický atlas. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 264 s. ISBN 80-86690-21-0.
- Cullis, B., Gogel, B., Verbyla, A., & Thompson, R. (1998). Spatial Analysis of Multi-Environment Early Generation Variety Trials. *Biometrics*, 54(1), 1–18. <https://www.jstor.org/stable/2533991>
- de Miguel, M., Cabezas, J. A., de María, N., Sánchez-Gómez, D., Guevara, M. Á., Vélez, M. D., Sáez-Laguna, E., Díaz, L. M., Mancha, J. A., Barbero, M. C., Collada, C., Díaz-Sala, C., Aranda, I., & Cervera, M. T. (2014). Genetic control of functional traits related to photosynthesis and water use efficiency in *Pinus pinaster* Ait. drought response: Integration of genome annotation, allele association and QTL detection for candidate gene identification. *BMC Genomics*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-464>
- Duca, M. (2015). *Plant Physiology*. Springer International Publishing . <https://doi.org/10.1007/978-3-319-17909-4>
- Gates, Reginald Ruggles. Studies on the variability and heritability of pigmentation in *Oenothera*. *Zeitschrift für Induktive Abstammungs-und Vererbungslehre*, 1910, 4.1: 337-372.
- Gilmour, A., Gogel, B., Cullis, B., & Thompson, R. (2009). *ASReml User Guide*. [www.vsni.co.uk](http://www.vsni.co.uk)

- Granus, A., Fløistad, I. S., & SØgaard, G. (2009). Bud burst timing in *Picea abies* seedlings as affected by temperature during dormancy induction and mild spells during chilling. *Tree Physiology*, 29(4), 497–503. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpn039>
- Grzybowski, M., Wijewardane, N. K., Atefi, A., Ge, Y., & Schnable, J. C. (2021). Hyperspectral reflectance-based phenotyping for quantitative genetics in crops: Progress and challenges. In *Plant Communications* (Vol. 2, Issue 4). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2021.100209>
- Hájková, L., Voženílek, V., Tolasz, R., et al., (2012). Atlas fenologických poměrů Česka. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 311 s. ISBN 978-80-86690-98-8. Holčík, Jiří, Komenda, Martin (eds.) a kol. *Matematická biologie: e-learningová učebnice [online]*, 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-8095-9.
- Havaux, M. (2014), Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *Plant J*, 79: 597-606. <https://doi.org/10.1111/tpj.12386>
- Holčík, J., Komenda, M. *Matematická biologie: e-learningová učebnice [online]*. (*Mathematical Biology: e-learning textbook [on/line]*). 1st ed. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-8095-9.
- Isik, F., Holland, J., & Maltecca, C. (2017). *Genetic Data Analysis for Plant and Animal Breeding*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-55177-7>
- Jensen, J. R. (2014): Remote sensing of the environment: an earth resource perspective. Pearson, Harlow, Essex.
- King, R. C., Stansfield, W. D., & Mulligan, P. K. (1995). *A Dictionary of Genetics, Seventh Edition* (7th ed., Vol. 609). Oxford University Press.
- Klápště, J., 2008. Návrh šlechtitelského programu pro posázavský smrk. 128 s. Dizertační práce - katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin. Česká zemědělská univerzita v Praze.

- Klein, T.W., DeFries, J.C. & Finkbeiner, C.T. Heritability and genetic correlation: Standard errors of estimates and sample size. *Behav Genet* **3**, 355–364 (1973). <https://doi.org/10.1007/BF01070218>
- Knyazikhin, Y., Schull, M. A., Stenberg, P., Möttus, M., Rautiainen, M., Yang, Y., Marshak, A., Carmona, P. L., Kaufmann, R. K., Lewis, P., Disney, M. I., Vanderbilt, V., Davis, A. B., Baret, F., Jacquemoud, S., Lyapustin, A., & Myneni, R. B. (2013). Hyperspectral remote sensing of foliar nitrogen content. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(3). <https://doi.org/10.1073/pnas.1210196109>
- Kozłowski, T. T., & Pallardy, S. G. (1997). *Physiology of Woody Plants* (2nd ed.). Academic Press.
- Krška, K., 2006. Mezinárodní seminář na téma Fenologická odezva proměnlivosti podnebí: Fenologie jako nauka, metoda a prostředek. Brno: ČHMÚ. ISBN 80-86690-35-0.
- Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology* (4th ed.). Springer - Verlag Berlin Heidelberg.
- Lstibůrek, M., El-Kassaby, Y. A. (2010). Minimum-Inbreeding Seed Orchard Design. *Forest Science*, *56*(6). <https://academic.oup.com/forestsience/article/56/6/603/4604490>
- Malvern Panalytical. (n.d.). *ASD FieldSpec range: The Gold Standard in Field Spectroradiometers*. Retrieved February 18, 2022, from <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/asd-range/fieldspec-range/fieldspec-4-hi-res-ng-spectroradiometer>
- Masaitis, G., Mozgeris, G., Augustaitis, A. (2013). Spectral reflectance properties of healthy and stressed coniferous trees. *IForest*, *6*, 30–36. <https://doi.org/10.3832/ifor0709-006>
- Matysiak, R. (2001). Content of carotenoids in needles of *Pinus sylvestris* L. growing in a polluted area. *Dendrobiology*, *46*, 39–42.

- Medcalf, K. A., Keyworth, S. J., & Jarman, M. W. (2009). Assessing the extent and severity of erosion on the upland organic soils of Scotland using Earth observation and object orientated classification methods. *The International Archives of the Photogrammetry*, 38(4)
- Minocha, R., Martinez, G., Lyons, B., & Long, S. (2009). Development of a standardized methodology for quantifying total chlorophyll and carotenoids from foliage of hardwood and conifer tree species. *Canadian Journal of Forest Research*, 39(4), 849–861. <https://doi.org/10.1139/X09-015>
- Morgenstern, E. K. (1996). *Geographic Variation in Forest Trees* (Vol. 176). UBC Press.
- Musil, I., Hamerník, J. (2003). *Lesnická dendrologie: 1. Jehličnaté dřeviny*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 177 s. ISBN 80-213-0992-X.
- Musil, J., Novák, P., Šefl, J. (2007). Semenné sady v České republice. In: Zborník referátov z medzinárodného seminára 27.-28.3.2007: Aktuálne problémy lesného škôlkarstva. Liptovský Ján.
- Novák, V. (1922). Zprávy moravského zemského výzkumného ústavu zemědělského: Phaenologická pozorování – Jejich význam a organizace. Praha: Moravský zemský výzkumný ústav zemědělský.
- OECD. (2006). Section 3 - Norway Spruce (PICEA ABIES (L.) KARST). *Safety Assessment of Transgenic Organisms*, 2. <https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264095403-4-en>
- Paule, L., 1992. Genetika a šľachtenie lesných drevin. Bratislava: Príroda. ISBN 80-07-00409-2
- Parducci, L., Jørgensen, T., Tollefsrud, M. M., Elverland, E., Alm, T., Fontana, S. L., Bennett, K. D., Haile, J., Matetovici, I., Suyama, Y., Edwards, M. E., Andersen, K., Rasmussen, M., Boessenkool, S., Coissac, E., Brochmann, C., Taberlet, P., Houmark-Nielsen, M., Larsen, N. K., ... Willerslev, E. (2012). Glacial Survival of Boreal Trees in Northern Scandinavia. *Science*, 335. <https://doi.org/10.1111/j.1365-.2011.05287.x>

- Petkovšek, S. A. S. (2013). Forest biomonitoring of the largest Slovene thermal power plant with respect to reduction of air pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(2), 1809–1823. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2669-y>
- Podrázský, V. (2014). *Základy ekologie lesa*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. ISBN 978-80-213-2515-9.
- Pospíšil, J., Kobliha, J. (1988). *Šlechtění lesních dřevin*. Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně. ISBN 55-943-88.
- Ramírez- Valiente, J.A., Solé-Medina, A., Pyhäjärvi, T., Savolainen, O., Cervantes, S., Kesälahti, R., Kujala, S.T., Kumpula, T., Heer, K., Opgenoorth, L., Siebertz, J., Danusevicius, D., Notivol, E., Benavides, R., Robledo-Arnuncio, J.J. (2021). Selection patterns on early-life phenotypic traits in *Pinus sylvestris* are associated with precipitation and temperature along a climatic gradient in Europe. *New Phytologist* 229(5), 3009–3025. ISSN 14698137 [doi:10.1111/nph.17029](https://doi.org/10.1111/nph.17029)
- Rock, B.N., Hoshizaki, T., Miller, J.R. (1988). Comparison of in situ and airborne spectral measurements of the blue shift associated with forest decline. *Remote Sens. Environ.* 24, 109–127.
- Schmidt-Vogt, H. (1986). *Die Fichte: ein Handbuch in zwei Bänden*. Paul Parrey.
- Skrøppa, T., Steffenrem, A. (2019). Genetic variation in phenology and growth among and within norway spruce populations from two altitudinal transects in mid-Norway. *Silva Fennica*, 53(1). <https://doi.org/10.14214/sf.10076>
- Slávik, M., Bažant, V. (2016). *Dřevařská dendrologie I: Dřeviny nahosemenné - Gymnospermophytae*. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 110 s. ISBN 978-80-213-2622-4.
- Søgaard, G., Øystein, J., Nilsen, J., Juntilla, O. (2008). Climatic control of bud burst in young seedlings of nine provenances of Norway spruce, *Tree Physiology*, Volume 28, Issue 2, Pages 311–320, <https://doi.org/10.1093/treephys/28.2.311>

- Soukupová, J., Cvikrová, M., Albrechtová, J., Rock, B. N., & Eder, J. (2000). Histochemical and biochemical approaches to the study of phenolic compounds and peroxidases in needles of Norway spruce (*Picea abies*). *New Phytologist*, *146*, 403–414.
- Tomášková, I., Kubásek, J. (2016). Fyziologie lesních dřevin I.: Fyziologie, produkce a stresy rostlin. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze. ISBN 978-80-213-2608-8.
- Urban, O. (2011): Podstata a ekofyziologické předpoklady ukládání uhlíku. In: Uhlík v ekosystémech České republiky v měnícím se klimatu. Academia, 51–94.
- Vacek, S., Matějka, K., Simon, J. (2007). Zdravotní stav a dynamika lesních ekosystémů Krkonoš pod stresem vyvolaným znečištěním ovzduší. Praha: Lesnická práce, 216 s. ISBN 978-80-86386-94-5.
- Větvička, V. (2005). Stromy a keře. 2. Praha: Aventinum. ISBN 80-7151-254-0.
- Wallin, G., Karlsson, E., Selldén, G., Ottosson, S., Medin, E.-L., Pleijel, H., & Skärby, L. (2002). Impact of four years exposure to different levels of ozone, phosphorus and drought on chlorophyll, mineral nutrients, and stem volume of Norway spruce, *Picea abies*. *Physiologia Plantarum*, *114*, 192–206.
- Wellburn, A. R. (1994). The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology*, *144*(3), 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- White, T. L., Adams, W. T., & Neale, D. B. (2007). *Forest Genetics* (Vol. 661). CABI Publishing.



Yamada, Y. (1962). Genotype by Environment Interaction and Genetic Correlation of the same Trait under Different Environments. *Japanese Journal of Genetics*, 37(6), 498–509.

Zobel, B., & Talbert, J. (1984). *Applied Forest Tree Improvement* (Vol. 505). Wiley.

Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2020, 2021. Praha: Ministerstvo zemědělství, 128 s. ISBN 978-80-7434-625-5.