

VĚDECKÝ ČASOPIS



LESNICTVÍ

8

ROČNÍK 34 (LXI)
CENA 12 Kčs
PRAHA
SRPEN 1988

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Vědecký časopis LESNICTVÍ

Redakční rada: akademik ČSAV prof. Dr. Ing. Miroslav Vyskot, DrSc. (předseda), prof. Ing. Mirjam Čech, CSc., doc. Ing. Jaroslav Bergl, CSc., Ing. Zdeněk Bludovský, DrSc., prof. Dr. Ing. Václav Douša, CSc., Ing. Igor Chudík, CSc., Ing. Ján Ilavský, CSc., doc. Ing. Jan Kouba, CSc., Ing. Jan Materna, CSc., prof. Dr. Ing. Josef Pelíšek, DrSc., člen korespondent ČSAV prof. Ing. Adolf Priesol, DrSc., prof. Ing. Miroslav Stolina, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik ČSAV prof. Dr. Ing. Miroslav Vyskot, DrSc.

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1988

CS ISSN 0024-1105

OBSAH

Šindelář J., Paule L.: Genetika a šlechtění lesních dřevin	673
Vyskot B.: Genetické manipulace s rostlinnou buňkou a jejich perspektivy ve šlechtění lesních dřevin	675
Paule L.: Šlechtitelské programy a šlechtitelské strategie lesních dřevin	695
Chalupa V.: Rozmnožování lípy (<i>Tilia cordata</i> Mill.), akátu (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) a jeřábu (<i>Sorbus aucuparia</i> L.) <i>in vitro</i> a růst stromů vypěstovaných <i>in vitro</i>	705
Kormuták A.: Izoenzymová a sérologická variabilita vybraných druhů jedlí (<i>Abies</i> sp.)	721
Pospíšil J., Alferi L.: Význam šlechtění lesních dřevin na příkladu osiky (<i>Populus tremula</i> L.)	731
Šindelář J.: Proměnlivost zdravotního stavu, vzrůstu a jakosti různých proveniencí modříny opadavé (<i>Larix decidua</i> Mill.) v lesní oblasti I — Krušné hory	755

СОДЕРЖАНИЕ

Шинделарж Й., Пауле Л.: Генетика и селекция лесных древесных пород	673
Выскот Б.: Генетические манипуляции с растительной клеткой и их перспективы в селекции лесных древесных пород	693
Пауле Л.: Селекционные программы и селекционная стратегия лесных древесных пород на примере осины	703
Халупа В.: Размножение липы (<i>Tilia cordata</i> Mill.), акации (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) и рябины (<i>Sorbus aucuparia</i> L.) <i>in vitro</i> и рост деревьев, выращенных <i>in vitro</i>	719
Кормутяк А.: Изоферментная и серологическая изменчивость избранных видов пихты	729
Поспишил Й., Алфери Л.: Значение селекции лесных древесных пород на примере осины	753
Шинделарж Й.: Изменчивость состояния здоровья, роста и качества лиственницы опадающей (<i>Larix decidua</i> Mill.) разного происхождения в лесной области I — Крушные горы	768

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ LESNÍCH DŘEVIN

Genetika a šlechtění lesních dřevin patří k nejprogresivněji se rozvíjejícím odvětvím lesnického výzkumu. Tento rozvoj je motivován perspektivou výsledků, které mohou výrazně přispět ke krytí zvýšených potřeb dřevní suroviny v budoucím století. Kromě podstatného zvýšení kvantity dendromasy šlechtitelskými metodami, půjde o zlepšení jakosti produkované dřevní suroviny a dále o zvýšení odolnosti a adaptability lesních dřevin v podmínkách zhoršujícího se životního prostředí.

Pracoviště vědeckovýzkumné základny v ČSSR věnují problematice genetiky a šlechtění lesních dřevin značnou pozornost. Tematika genetiky a šlechtění lesních dřevin je zařazována do rámce základního výzkumu již od roku 1962. Některé úkoly byly v minulosti a jsou i v současnosti součástí plánu výzkumu resortního. V rámci hlavního úkolu základního výzkumu VI-6-2 Genetika a teoretické základy šlechtění lesních dřevin, se v osmé pětiletce řeší jedenáct dílčích úkolů se 48 etapami. Řada etap je zaměřena na studium proměnlivosti lesních dřevin, některé se zvláštním zřetelem na využití metod výzkumu biochemického polymorfismu na bázi izoenzymů a monoterpenů. Předmětem výzkumu je dále biologie reprodukčních orgánů a po hlavní reprodukce, provenience lesních dřevin, hybridizace a nepohlavní rozmnožování lesních dřevin řízkováním, orgánovými, pletivovými a buněčnými kulturami. Některé problémy z oboru genetiky a šlechtění lesních dřevin jsou zahrnuty do rámce hlavního úkolu státního plánu výzkumu A 12-331-013 Snížení ztrát způsobovaných znečištěním ovzduší v lesích. Jeden dílčí úkol (Hybridizační proces lesních dřevin) je součástí hlavního směru základního výzkumu VII-2.

V hlavním úkolu VI-6-2 Genetika a teoretické základy šlechtění lesních dřevin je zařazena nejen problematika základního výzkumu, řeší se zde i úkoly aplikovaného charakteru. Tuto skutečnost dokumentuje řada realizačních výstupů orientovaných na potřeby praxe lesního hospodářství a realizaci prakticky zaměřených šlechtitelských programů. K významným komplexním elaborátům poslední doby patří zejména Smernice MLVH SSR na uznávání lesných porastů a výberových stromů na zber a prenos semene a sadenic (1985) a připravované Směrnice pro uznávání a zabezpečení zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin a pro jeho prenos (ČSR). V těchto směrnících je synteticky využito výsledků výzkumu proměnlivosti lesních dřevin, zhodnocení provenienčních ploch, některých poznatků z problematiky semenných plantáží lesních dřevin, vegetativního množení řízkováním aj.

K podpoře prakticky orientovaného šlechtění lesních dřevin a zavádění výsledků výzkumu do lesnické praxe mají na základě rozhodnutí ministerstev (MLVH ČSR a MLVH SSR) pracovat v rámci působnosti podniků státních lesů semenářsko-šlechtitelské stanice. Pro rozvoj jejich aktivity bude třeba urychleně rozpracovat šlechtitelské programy pro hospodářsky významné lesní dřeviny a jednotlivé oblasti a předat výsledky genetickošlechtitelského výzkumu stanicím k realizaci.

Současné zhoršování životního prostředí v ČSSR a vliv této situace na lesy, další kalamity v lesích, úbytek původních porostů těžbami, ohrožuje existenci genofondu populací lesních dřevin. Opatření k záchraně, reprodukci a racionálnímu využití genofondu lesních dřevin jsou proto současným aktuálním úkolem pracovišť v oboru genetiky a šlechtění lesních dřevin. Vedle opatření, která se již delší dobu realizují a nadále pokračují (semenné porosty, klonové archivy aj.), se navrhuje

zřizování genových základů v lesích. Tyto objekty mají být do budoucna základním opatřením k uchování a reprodukci původních populací lesních dřevin. I když jsou mnozí vědečtí pracovníci v průmyslově vyspělých zemích dost skeptičtí při hodnocení možnosti šlechtění lesních dřevin tolerantních k vlivům imisí, nelze v podmínkách ČSSR tuto možnost podceňovat a je potřebné nadále hledat cesty a šlechtitelské metody vedoucí ke snížení škod v lesních ekosystémech. Zkušenosti naznačují, že jednou z reálných možností (ve výzkumu i v lesnické praxi) je zaměření pozornosti i na dřeviny, relativně tolerantní, které jsou v podmínkách nenarušeného životního prostředí na okraji zájmu lesního hospodářství. Tyto dřeviny se ukazují — vedle některých druhů cizokrajných — v řadě případů jako vhodný základ pro druhovou skladbu náhradních porostů.

Významným přínosem na poli genetiky a šlechtění lesních dřevin je i rozsáhlá mezinárodní spolupráce, hlavně v rámci IUFRO. Uskutečňuje se při zakládání, obhospodařování a vyhodnocování provenienčních ploch mezinárodního charakteru (smrk, jedle, borovice, modřín, buk aj.), dále formou výměny šlechtitelského materiálu, aktivitou v pracovních skupinách IUFRO. Mezinárodní spolupráci doplňují mnohé přímé bilaterální dohody pracovišť vědeckovýzkumné základny s partnerskými organizacemi v zahraničí.

Významné výsledky z oblasti genetiky a šlechtění lesních dřevin jsou zveřejňovány na stránkách vědeckých periodik (Lesnictví, Lesnický časopis, Folia dendrologica, Biológia), ve sbornících výzkumných a pedagogických institucí, mnohé i v zahraničí. V posledním desetiletí bylo ve vědeckých časopisech a sbornících v ČSSR publikováno asi 150 prací z oboru genetiky a šlechtění lesních dřevin. Abychom poskytli ucelenější přehled o současném stavu a výsledcích výzkumu v oblasti genetiky a šlechtění lesních dřevin, vychází toto tematické číslo Lesnictví, zaměřené na aktuální problematiku ve jmenovaných oborech.

Doc. ing. Ladislav Paule, CSc., předseda pracovní skupiny pro genetiku a šlechtění lesních dřevin biologické komise OLH ČSAZ

Ing. Jiří Šindelář, CSc., koordinátor hlavního úkolu základního výzkumu VI-6-2 Genetika a teoretické základy šlechtění lesních dřevin

GENETICKÉ MANIPULACE S ROSTLINNOU BUŇKOU A JEJICH PERSPEKTIVY VE ŠLECHTĚNÍ LESNÍCH DŘEVIN

B. Vyskot

VYSKOT, B. (Biofyzikální ústav ČSAV, Brno): *Genetické manipulace s rostlinnou buňkou a jejich perspektivy ve šlechtění lesních dřevin*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 675-694.

V poslední době dosáhly velkého rozvoje metody genových manipulací s rostlinnými buňkami čerpající především ze širokého zázemí molekulární biologie prokaryontních organismů. Velkou předností rostlinného materiálu je totipotence umožňující opětovou regeneraci celých rostlin z izolovaných buněk. Explantátové kultury *in vitro*, založené převážně na empirické bázi, již přinesly celou řadu významných výsledků aplikovatelných ve šlechtitelské praxi. Cesty cílené genetické modifikace rostlin se však otevřely až s objevem Ti-plazmidů patogenního mikroorganismu *Agrobacterium tumefaciens*, jejichž část (T-DNA) se po infekci rostlinné buňky kovalentně včleňuje do jejího jaderného genomu. Tohoto přirozeného procesu lze využít k přenosu žádaných genů do rostlin. Takto již bylo dosaženo exprese některých prokaryontních i eukaryontních genů v rostlinách včetně genů kódujících agronomicky významné znaky. Paralelně jsou rozvíjeny i metodické postupy pro přímé vnášení genů do rostlinných protoplastů. Limitujícím faktorem pokroku v genovém inženýrství rostlin je prozatím omezená znalost struktury a regulace exprese rostlinného genomu. Práce shrnuje současný stav genových a buněčných manipulací *in vitro* u dřevin a přináší prognózu jejich uplatnění ve šlechtění lesních dřevin.

šlechtění lesních dřevin; genové a buněčné inženýrství rostlin

Šlechtění rostlin bylo dosud závislé na klasické genetické rekombinaci (sexuální hybridizaci) s následnou selekcí. Tyto metody byly později rozšířeny o indukovanou mutagenezi a polyploidii s cílem zvýšení genetické variability. Pomocí těchto postupů bylo dosaženo nebývalého pokroku od původních planých druhů až po dnešní, často vysoce kvalitní kulturní rostliny. Přenos genetické informace mezi rostlinami prováděný umělou hybridizací má ovšem svá omezení daná hranicemi kompatibility i skutečností, že vzniklé hybridy nesou i nežádoucí znaky některého z rodičů, což podstatně prodlužuje šlechtitelský proces. Geny z jiných skupin organismů (viry, bakterie, nižší rostliny, živočichové) a geny syntetické nelze samozřejmě vnášet touto cestou do kulturních rostlin vůbec.

V průběhu posledních let byl stávající repertoár šlechtitelských metod rozšířen o techniky genetických manipulací *in vitro*. Jako genetické manipulace s rostlinnou buňkou označujeme všechny nekonvenční techniky *in vitro*, kterými lze modifikovat rostlinný genom. Genetické manipulace (inženýrství) v podstatě představují aplikovanou oblast řady vědních odvětví, zejména buněčné a molekulární biologie, biochemie a genetiky. Čerpají též ze širokého zázemí molekulární biologie bakteriálních a savčích organismů a ze zdokonalených fyzikálně-chemických metod práce s biologickými makromolekulami (specifické štěpení DNA restriktivními endonukleázami, konstrukce rekombinantních molekul DNA

in vitro, elektroforetické separace bílkovin a fragmentů nukleových kyselin, hybridizace nukleových kyselin, stanovování sekvencí nukleotidů v molekulách nukleových kyselin a aminokyselin v molekulách bílkovin, detekce specifických bílkovin pomocí imunologických metod atd.).

Genetické manipulace u rostlin lze rozdělit do dvou hlavních směrů — buněčné přístupy zahrnují přenos genetické informace prostřednictvím celých buněk nebo jejich částí, zatímco vlastní genové inženýrství reprezentuje přenos izolovaných genů obvykle s pomocí plazmidových vektorů. Genové inženýrství, v podstatě jako jediný šlechtitelský přístup, umožňuje přenos individuálních znaků (genů) bez negativního ovlivnění dosavadní agronomické hodnoty rostlin. Konstrukce transformovaných (transgenních) buněk a rostlin však nemá význam pouze ve šlechtění, ale je i cenným nástrojem v základním výzkumu při studiu struktury, funkce a stability genomu, regulace genové exprese, izolace genů i při analýze molekulárních mechanismů vývoje a metabolismu rostlin. Neocenitelným souborem technik, založených na totipotenci rostlinných buněk, jsou explantátové kultury *in vitro*, které se uplatňují jak v buněčném, tak i v genovém inženýrství. Jsou též nezbytným finálním krokem ve všech technologiích genetických manipulací, neboť umožňují rychlou multiplikaci zušlechťených jedinců cestou klonování rostlin nebo buněk.

Lesní dřeviny se v mnoha směrech podstatně liší od zemědělských plodin. Dnešní lesní porosty nejsou také výsledkem dlouhodobého šlechtění ve prospěch lidských potřeb, jako je tomu u kulturních druhů rostlin, ale obnovují se přirozeně nebo vysazováním neselektovaných semenáčků. Dlouhý generační cyklus, velikost stromů a vysoký stupeň heterozygotnosti jsou hlavními bariérami, které komplikují aplikaci běžných šlechtitelských postupů v lesnictví. Některé fyziologické zvláštnosti dřevin znesnadňují i širší uplatnění technik explantátových kultur *in vitro*.

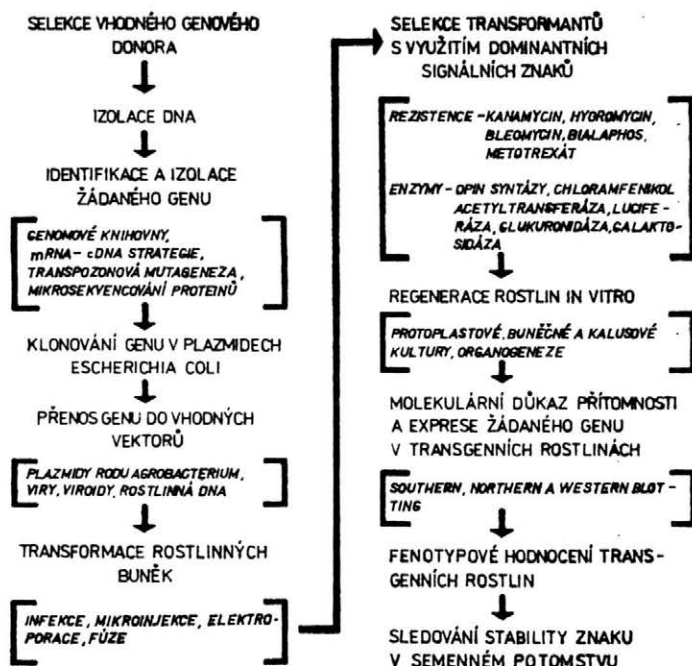
ROSTLINNÝ GENOM A IZOLACE GENŮ

Genové inženýrství představuje rozsáhlý komplex metod umožňujících cílenou modifikaci genomu organismů. Genové inženýrství rostlin zahrnuje identifikaci a izolaci žádaného genu z vhodného donora, klonování tohoto genu v pomocných plazmidech *Escherichia coli*, jeho integraci do zvoleného vektorového systému umožňujícího přenos do recipientní rostlinné buňky a konečné selekci, regeneraci a analýzu transgenních rostlin (obr. 1).

Prvním krokem v postupech genových manipulací je výběr vhodného donorového organismu (virus, bakterie, živočich, rostlina) nesoucího žádaný gen. Poté se izoluje jeho DNA, štěpí restrikčními endonukleázami a získané fragmenty DNA jsou klonovány v plazmidech nebo fágách *E. coli*. Počet klonů nutných k zachycení celého genomu organismu samozřejmě vzrůstá s jeho velikostí. V tomto směru je zvlášť nepříznivá situace u jehličnanů, které se vyznačují obrovským genomem. Tak např. *Picea glauca* obsahuje ve svém jaderném genomu asi $3,0 \cdot 10^{10}$ párů nukleotidových bází (bp), *Pinus lambertiana* $3,2 \cdot 10^{10}$ bp a *Pinus resinosa* $7 \cdot 10^{10}$ bp, což je asi desetkrát více než u člověka nebo obilovin. Ke konstrukci reprezentativní genomové knihovny borovice by tak při velikosti klonovaného fragmentu $18 \cdot 10^3$ bp bylo zapotřebí alespoň $8 \cdot 10^6$ klonů rekombinantních plazmidových nebo fágových molekul. Je ovšem zřejmé, že převážná část genomu (větší než 99 %) nahosemenných rostlin sestává z repetitivních a RNA nekódujících úseků DNA (kryptopolyploidie; Sparrow a Nauman, 1976).

Vyšší rostliny obsahují asi 5 až $10 \cdot 10^4$ strukturních genů (transkribovaných často v různých fázích ontogenetického vývoje), což při průměrné velikosti genu 1 až $1,5 \cdot 10^3$ bp dává představu o minimální nutné funkční velikosti jaderného genomu

1. Obecné schéma genového inženýrství u rostlin — A general scheme of gene engineering of plants



asi $7 \cdot 10^7$ bp. Tuto hodnotu má i nejmenší známý rostlinný genom *Arabidopsis thaliana*. Je přitom zajímavé, že u příbuzných druhů rostlin, které se liší až desetinásobkem množství DNA na jádro, souhlasí množství DNA s délkou života těchto rostlin. Nelze ovšem tvrdit, že všechny strukturální geny jsou v jádrech přítomny pouze v jediné kopii (v diploidním jádře ve dvou kopiích) nebo že všechny unikátní DNA sekvence jsou transkribovanými strukturálními geny. Většina důležitých rostlinných proteinů je kódována mnoha podobnými genovými sekvencemi (multigenní rodiny). Vysoký obsah DNA na jádro u nahosemenných rostlin koreluje nikoliv se zvýšením počtu chromozómů, ale s velikostí jednotlivých chromozómů. Tyto velké genomy obsahují vysokou frakci repetitivních sekvencí a jejich jednotlivé jedinečné sekvence (geny) jsou separovány krátkými, opakujícími se úseky DNA.

Konstrukce genomových bank je základem i nezbytnou podmínkou prakticky všech metod identifikace a izolace rostlinných genů. Velká většina z dosud izolovaných rostlinných genů byla získána cestou reverzní transkripce specifických polyadenylovaných mRNA (primárních genových produktů) a molekulární hybridizací těchto komplementárních DNA s fragmenty rostlinné DNA klonovanými v genomových knihovnách. Takto byly izolovány např. geny kódující zásobní proteiny (zein, fazeolin, glycinin, patatin) a proteiny indukovatelné světlem (ribulózobifosfát karboxyláza, chalcon syntáza), tepelným šokem (heat shock proteiny) nebo jiným stresem (pathogenesis related proteiny). Na bázi známé aminokyselinné sekvence purifikovaných proteinů již lze syntetizovat polydeoxyribonukleotidy a využít je jako DNA proby k vyhledání genů v genomových knihovnách. Další metody izolace rostlinných genů jsou založeny na sledování inaktivace genů po inzerci transpozonové mutagenézi nebo naopak na naopak na komplementaci mutací po transformaci mutantních buněk celou genomovou knihovnou (shot-gun). Optimální metodou k vyhledávání promotorových sekvencí je transformace rostlinných buněk speciálními plazmidovými vektory nesoucími signální geny, jejichž exprese je indukována pouze po inzerci strukturální oblasti signálního genu za vhodný rostlinný promotor (gene tagging). Pomocí metod DNA-DNA hybridizace lze v genomových bankách detegovat geny s použitím analogických genů izolovaných z jiných organismů (heterologní proby).

Dosud bylo publikováno jen několik prací týkajících se klonování DNA lesních dřevin. Ledig a Sederoff (1985) např. izolovali, naklonovali a zasekvenovali dvě kopie z vysoce repetitivní frakce jaderného genomu *Pinus lambertiana* a tyto klony DNA použili k fylogenetické analýze příbuznosti s jinými koniferami. Není

dosud v literatuře zpráv o izolaci transkribovaných genů u lesních dřevin. Nejperspektivnější metodou jak tohoto cíle dosáhnout, bude asi vyhledávání genů v genomových knihovnách dřevin pomocí již izolovaných a klonovaných genů z modelových dvouděložných rostlin nebo jiných organismů. Velkou překážkou rychlejšího rozvoje genových manipulací u lesních dřevin je minimální znalost struktury genomu a mechanismů regulace genové exprese i nedostatečné informace v oblasti biochemie a fyziologie. Většina lesnických důležitých znaků (kvalita dřeva, produkce biomasy, odolnost vůči prostředí) je řízena polygenně, což snižuje pravděpodobnost identifikace odpovídajících genů i izolace žádaných transformantů.

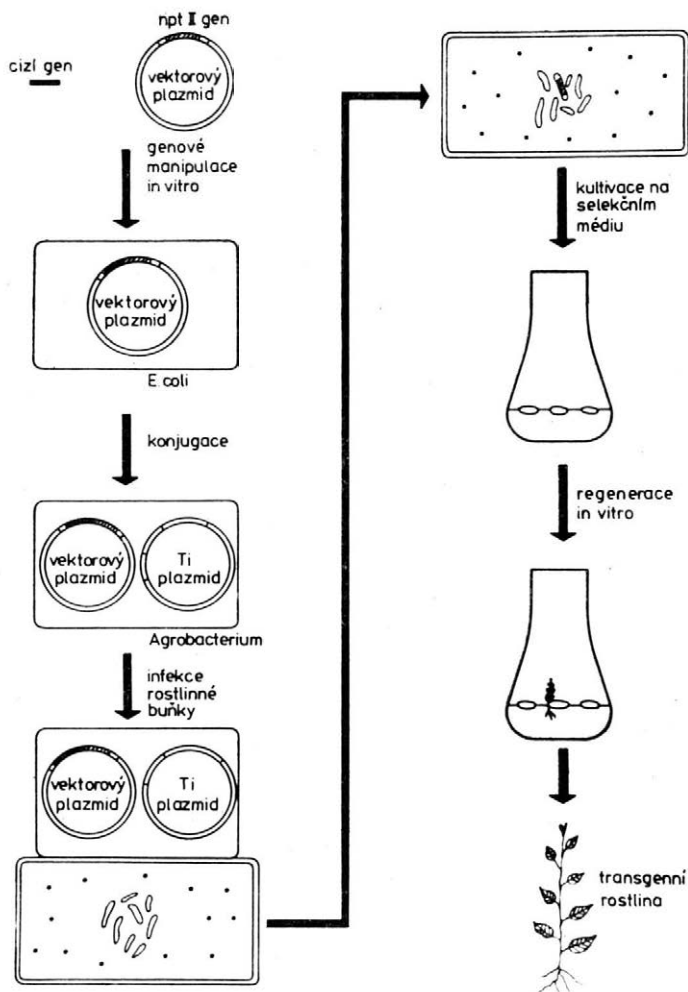
Mechanismy dědičnosti rezistence dřevin vůči chorobám jsou sice málo prozkoumány, avšak u některých chorob již byla zjištěna monogenní dědičnost rezistence. Tak např. bylo prokázáno, že rezistence *Pinus lambertiana* vůči rzi *Cronatium ribicola* je řízena jediným dominantním genem (Kinloch et al., 1970). Vzhledem k tomu, že rezistence resp. senzitivita jsou detegovatelné i v embryonální fázi a v kultivovaných buňkách (Diner et al., 1984), je možné provádět selekci žádaných genotypů po mutagenезi nebo transgenózi již v kulturách *in vitro*. Dalšími známými jednoduše děditými znaky u dřevin jsou izoenzymy a klíčové enzymy syntézy terpenických látek. Optimálním experimentálním materiálem ke studiu segregace jednotlivých enzymových lokusů je haploidní megagametofyt (endosperm) jehličnanů (Stewart a Schoen, 1986).

Prvních úspěšných výsledků bylo dosaženo při izolaci a fyzikálním mapování chloroplastové DNA jehličnanů. Velikost molekuly chloroplastové DNA borovice je asi 120 kb (Kondo et al., 1986), což je poněkud méně než obvyklé hodnoty zjištěné u rostlin dvouděložných (130 až 160 kb). Fyzikální mapování a DNA-DNA hybridizační analýzy prokázaly, že struktura a lineární uspořádání sekvencí chloroplastové DNA jiné nahosemenné dřeviny, *Ginkgo biloba*, ukazují na překvapivě vysoký stupeň homologie s kapradnorosty i dvouděložnými rostlinami (Palmer a Stein, 1986). Praktické aplikace v oblasti genového inženýrství chloroplastového a mitochondriálního genomu však nejsou v současné době reálné, neboť dosud nemáme k dispozici vhodné vektory pro přenos genů do těchto organel. Dalším problémem bude i stabilizace vpravených genů, neboť rostlinné buňky obsahují tisíce kopií chloroplastových a mitochondriálních DNA molekul. Naproti tomu velmi perspektivní jsou genové manipulace u chloroplastových a mitochondriálních proteinů kódovaných jádrem, neboť již byly izolovány a charakterizovány nukleotidové sekvence odpovídající tranzitním peptidům (aminoterminální extenze), které umožňují cílený přenos proteinů do organel.

PŘENOS KLONOVANÝCH GENŮ DO ROSTLIN

Přestože zelené rostliny jsou pro život na Zemi nepostradatelné, staly se středem zájmu molekulárních genetiků teprve v nedávné době v souvislosti s objevem Ti-plazmidů patogenní půdní bakterie *Agrobacterium tumefaciens*, která vyvolává tvorbu nádorů (crown-gall) na poraněných místech u většiny druhů dvouděložných a nahosemenných rostlin. Tato bakterie funguje jako „přirozený genový inženýr“, neboť po infekci rostlinné buňky stabilně včleňuje část (T-DNA) svého onkogenního plazmidu Ti do rostlinných chromozómů. Tohoto procesu lze užít k přenosu žádaných genů po jejich integraci do transponovaného T-DNA segmentu. Využití Ti-plazmidu *A. tumefaciens* jako vektoru pro přenos genetické informace tak otevřelo široké možnosti uplatnění metod genového inženýrství v genetice a šlechtění rostlin (obr. 2).

Přenos genetické informace z bakterie *A. tumefaciens* do rostlinného genomu je ojedinělým příkladem genetické výměny mezi organismy z různých říší. Procesy, které přitom probíhají, však nejsou nijak výjimečné. Jedná se v podstatě o adaptace dvou prokaryontních procesů: aktivace genové exprese v reakci na vnější stimul prostřednictvím dvoukomponentního pozitivního regulačního systému v bakterii a konjugační přenos T-DNA z donorové bakterie do recipientní rostlinné buňky (Sta-



2. Schéma experimentálního postupu pro přenos cizích genů do rostlin s pomocí vektoru *A. tumefaciens*. Izolovaný cizí gen je klonován *in vitro* do promiskuitního vektorového plazmidu a transformací přenesen do bakterie *E. coli*. Poté je cestou konjugace vnesen do buněk *A. tumefaciens* obsahující Ti-plazmid, který zajišťuje přenos klonovaného genu do rostlinných buněk po kokultivaci listových segmentů s *A. tumefaciens*. Transformované buňky jsou selektovány růstem na médiu s antimetabolitem (dle použitého dominantního signálního genu) a v explantátových kulturách *in vitro* jsou regenerovány transgenní rostliny — A scheme of the experimental procedure for the transfer of foreign genes into plants by means of the binary vector *A. tumefaciens*. The isolated foreign gene is cloned *in vitro* into the promiscuous vector plasmid and transmitted by transformation into the bacterium *E. coli*. Thereafter it is transmitted by means of conjugation into the cells of *A. tumefaciens* containing Ti-plasmid, which ensures the transfer of the cloned gene into plant cells following the co-cultivation of leaf segments with *A. tumefaciens*. Transformed cells are selected by means of the cultivation on a medium containing an antimetabolite (according to the used dominant signal gene) and transgenic plants are then regenerated *in vitro* in explant cultures

chel a Zambryski, 1987). Přenosové funkce jsou v *A. tumefaciens* kódovány chromozomálními a plazmidovými virulentními geny. Chromozomální geny, které jsou konstitutivně exprimovány, zprostředkují přichycení bakterie k rostlinné buňce. Virulentní geny umístěné na Ti-plaz-

midu potom řídí speciálnější reakce rozpoznávání rostlinné buňky a následné procesy vedoucí k přenosu T-DNA. Expres těchto plazmidových lokusů je striktně regulována; k transkripční aktivitě dochází pouze vlivem fenolických látek, které jsou syntetizovány poraněnou rostlinnou buňkou. V transformačním procesu hrají rozhodující úlohu hranice T-DNA segmentu, které jsou tvořeny přímým opakováním shodných 25 bp úseků DNA. Jakákoli DNA lokalizovaná mezi těmito hranicemi je přenášena z *A. tumefaciens* a integrována do rostlinných chromozómů.

Původně vypracované postupy přenosu cizích genů prostřednictvím Ti-plazmidu byly poměrně složité; zahrnovaly několikanásobné konstrukce složitých vektorů obsahujících cizorodý gen, signální geny pro selekci v *Escherichia coli* a fragmenty T-DNA v promiskuitních plazmidech, které byly přenášeny do *A. tumefaciens*, kde procesem dvojité homologní rekombinace docházelo k integraci do Ti-plazmidu. T-DNA však obsahuje některé geny (Shi, Roi), které odpovídají za maligní transformaci a brání v generaci rostlin z transformovaných buněk. Je proto nutné tyto geny eliminovat buď mutací nebo delecí. To vedlo ke konstrukci vektorových Ti-plazmidů, kde velká část T-DNA je nahrazena úsekem plazmidu pBR, což umožňuje též snadnou introdukci cizích genů klonovaných v pBR procesem jednoduché rekombinace. Objasnění funkce jednotlivých úseků Ti-plazmidu (hraniční sekvence T-DNA umožňující integraci do rostlinného genómu, vir — oblast odpovídající za přenos a integraci do rostlinné buňky) dále vedlo ke konstrukci tzv. binárních vektorů, kde cizí gen je klonován v malém vektoru spolu s hraniční sekvencí T-DNA a nezbytné produkty vir-genů jsou poskytovány Ti-plazmidem v pozici *trans*. Těmito metodami již bylo dosaženo přenosu a exprese řady prokaryontních i eukaryontních genů v rostlinách (včetně genů kódujících agronomicky významné znaky, např. syntézu zásobních proteinů nebo rezistenci k herbicidům) pod kontrolou konstitutivních a indukčních promotorů (Frale y et al., 1986). Ti-plazmid *A. tumefaciens* a jemu příbuzný Ri-plazmid *A. rhizogenes* jsou dnes nejrozšířenějšími vektory používanými k přenosu genů do rostlin. I když *A. tumefaciens* má velmi široký okruh hostitelů, není možné ho použít k vnášení genů do jednoděložných rostlin. Další nevýhodou Ti-plazmidu je jeho velikost (asi $2 \cdot 10^5$ bp), neboť vzhledem k mnohočetné přítomnosti specifických restričních míst nelze cizí geny do Ti-plazmidu integrovat přímo *in vitro*.

Vektory jako mediátory přenosu klonovaných genů do rostlin by měly mít tyto vlastnosti: snadný vstup do rostlinné buňky, schopnost integrace do rostlinných chromozómů (zaručující stabilitu při mitóze), schopnost přenosu do semenného potomstva, kompatibilitu se zdravým fenotypem a případně i možnost systemického rozšíření v rostlinách. Jinými prokaryotními patogeny, které mají rutinní vstup do rostlinné buňky a jsou schopny se v ní replikovat, jsou rostlinné DNA a RNA viry. Výhodou použití virů jako vektorů pro přenos genetické informace je možnost systemického rozšíření v rostlinách po infekci jejich části (není třeba explantátových kultur) a velký výběr virů s vhodným hostitelským rozmezím. Nevýhodou virových vektorů je jejich malá klonovací kapacita, autonomní replikace (nedochází ke kovalentní integraci do rostlinných chromozómů) a obvykle se nepřenášejí do semenného potomstva. Prvním virem, kterého bylo použito k přenosu cizího genu (signálního

Signální gen	Donor	Signální enzym	Přímá selekce	Průkaznost biochemickým testem
bar	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	fosfinotricin acetyltransferáza	rezistence k bialafosu a fosfinotricinu	+
ble ^r	Tn5 <i>Escherichia coli</i>	neznámý	rezistence k bleomycinu	—
dhfr Mtx ^r	Tn7 pR67 <i>Escherichia coli</i> , <i>Mus musculus</i>	dihydrofolát reduktáza Mtx ^r	rezistence k metotrexátu	—
cat	Tn9 <i>Escherichia coli</i>	chloramfenikol acetyltransferáza	—	+
gus (uidA)	<i>Escherichia coli</i> K12	beta-glukuronidáza	—	+
hph	pJR225 <i>Escherichia coli</i>	hygromycin fosfotransferáza	rezistence k hygromycinu B	+
lacZ	<i>Escherichia coli</i>	beta-galaktosidáza	—	+
lcf	<i>Photinus pyralis</i> , <i>Vibrio harveyi</i>	luciferáza	—	+
npt I, II	Tn601, Tn5 <i>Escherichia coli</i>	neomycin fosfotransferáza I, II	rezistence k neomycinu, kanamycinu a G418	+
spt	Tn5 <i>Escherichia coli</i>	streptomycin fosfotransferáza	rezistence k streptomycinu	—
ocs, nos	pTi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	oktopin syntáza nopalín syntáza	—	+
tms _{1,2}	pTi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	tryptofan monoxygenáza, indolacetamid hydroláza	růst bez exogenních auxinů	+
tmr	pTi <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	izopentenyl transferáza	růst bez exogenních cytokininů	+

bakteriálního genu) do rostlin, byl jeden z několika známých rostlinných dvojvláknových DNA virů, virus mozaiky kvěťáku (Brisson et al., 1984).

S RNA viry jako vektory jsou manipulace složitější, neboť dosud nemáme k dispozici techniky *in vitro* přímé konstrukce rekombinantních molekul RNA. Při integraci genů do virových RNA genómů je proto nutné připravit zpětnou transkripci cDNA kopii viru a do ní gen vpravit *in vitro*. Transformace rostlin lze potom provést infekcí buď touto cDNA nebo jejich transkripty syntetizovanými *in vitro*. Tento postup byl poprvé experimentálně ověřen u jednoděložných rostlin pomocí RNA viru mozaiky sverepu (French et al., 1986).

Velkým zdokonalením vektorů bylo včlenění dominantních signálních genů, které umožňují selekci transgenních buněk i rostlin na základě rezistence vůči antimetabolitům (kanamycin, hygromycin, bleomy-

II. Schopnost tvorby crown-gall nádorů a transformace *A. tumefaciens* u lesních dřevin — The ability of the formation of crown-gall tumours and the transformation by *A. tumefaciens* in forest trees

Nahosemenné	Krytosemenné
1) Schopnost <i>A. tumefaciens</i> infikovat rostliny	
<i>Abies alba</i> , <i>A. cephalonica</i> , <i>A. concolor</i> , <i>A. firma</i> , <i>A. grandis</i> , <i>A. holophylla</i> , <i>A. nordmanniana</i> , <i>Araucaria bidwillii</i> , <i>Calocedrus decurrens</i> , <i>Chamaecyparis lawsoniana</i> , <i>Cunninghamia lanceolata</i> , <i>Cupressus</i> spp., <i>Juniperus</i> spp., <i>Larix decidua</i> , <i>Picea abies</i> , <i>Pinus taeda</i> , <i>Podocarpus elongatus</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Sciadopitys verticillata</i> , <i>Sequoia sempervirens</i> , <i>Sequoiadendron giganteum</i> , <i>Taxus</i> spp., <i>Thuja</i> spp., <i>Thujopsis dolobrata</i> , <i>Torreya californica</i>	<i>Acer macrophyllum</i> , <i>A. pseudoplatanus</i> , <i>Aesculus</i> spp., <i>Alnus rubra</i> , <i>Betula pendula</i> , <i>Carya illinoensis</i> , <i>Castanea dentata</i> , <i>C. sativa</i> , <i>Celtis</i> spp., <i>Corylus avellana</i> , <i>Juglans</i> spp., <i>Malus</i> spp., <i>Morus alba</i> , <i>Populus</i> spp., <i>Prunus</i> spp., <i>Pterocarya</i> spp., <i>Ribes</i> spp., <i>Rubus</i> spp., <i>Salix</i> spp., <i>Sorbus torminalis</i> , <i>Tillia platyphyllos</i> , <i>Ulmus americana</i> , <i>U. glabra</i> , <i>U. pumila</i>
b) Expres signálních genů v transformovaných kalusech	
<i>Larix decidua</i> , <i>Pinus taeda</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i>	<i>Populus trichocarpa</i> × <i>P. deltoides</i>
c) Regenerace transgenních rostlin	
	<i>Populus alba</i> × <i>P. grandidentata</i>

cin, bialaphos, metotrexát] nebo snadné biochemické detekce (chloramfenikol acetyltransferáza, beta-glukuronidáza, luciferáza). Tyto dominantní signální geny jsou konstruovány *in vitro* fúzí promotorů eukaryontního typu a vhodných terminátorů transkripce se strukturními geny kódujícími signální enzymy (tab. I). Nejčastěji používanými konstitutivními promotory (transkripčními signálními sekvencemi) v genových manipulacích u rostlin jsou 5'sekvence opin syntázových genů z Ti-plazmidu *A. tumefaciens* (nopalín syntáza, oktopín syntáza, manopín syntáza), 35 S a 19 S RNA promotory z viru mozaiky kvěťáku (CaMV) a duální promotor z oktopinových Ti-plazmidů. Fúze dominantních signálních genů se suspektními promotorovými sekvencemi metodou *in vitro* konstrukce rekombinantních DNA molekul též umožňuje testování funkce těchto iniciátorů transkripce v rostlinných buňkách. Nejrychlejší technikou užívanou k tomuto účelu je sledování tranzientní exprese klonovaných chimérických genů po jejich indukovaném příjmu v rostlinných protoplastech.

Jediným dosud testovaným vektorem pro přenos genů do lesních dřevin je Ti-plazmid. Hostitelské rozmezí *A. tumefaciens* zahrnuje řadu listnatých dřevin (mj. rody *Acer*, *Alnus*, *Betula*, *Corylus*, *Populus*, *Salix*, *Tilia*, *Ulmus*) a většinu jehličnanů (De Cleene a De Ley, 1976). Výjimku tvoří pouze někteří zástupci čeledi *Laricoidae* a *Pinoidae*, kde se snížená susceptibilita vůči agrobakteriím uvádí do souvislosti s vysokým obsahem kyseliny šikimové. První pokusy prokázaly přenos a funkci signálních genů kódujících enzymy opin syntázu a neomycin fosfotransferázu v buňkách *Larix decidua*, *Pinus taeda*, *Populus trichocarpa* × *P. deltoides* a *Pseudotsuga mensiesii* (tab. II).

Existuje celá řada metodik, kterých lze užít k přenosu agrobakteriálních vektorů s naklonovanými geny do rostlinných buněk. Nejjednodušší metodou je infekce listových nebo stonkových disků kultivací s agrobakteriemi a následnou regenerací rostlin v kulturách *in vitro*. Tento postup je realizovatelný samozřejmě pouze u těch druhů rostlin, u kterých jsou zvládnuty techniky explantátových kultur (organogeneze v kalusových kulturách). Díky rychlému pokroku v posledních letech lze diskovou metodu aplikovat již u řady rostlinných druhů včetně některých krytosemenných dřevin. Optimálním recipientním materiálem pro vnášení genetické informace jsou rostlinné protoplasty, které zaručují izolaci nechimérických transgenních rostlin. Protoplasty lze infikovat kultivací s agrobakteriemi nebo indukovaným pohlčováním molekul plazmidové DNA, lipozomů s enkapsulovaným plazmidem nebo celých bakteriálních sféroplastů.

Protoplastová technologie však u jehličnanů i listnatých dřevin naráží na četné problémy. V buněčných stěnách listnatých dřevin byly detegovány některé rozpustné látky (kyseliny hydroxycinnamová, p-kumarová a o-kumarová), které inhibují účinek celulólytických enzymů (Butt, 1985). Buněčné kolonie získané kultivací protoplastů obvykle po několika děleních zastavují růst, akumulují fenolické látky a nekrotizují. Dosud jedinými dřevinami, u kterých se podařilo úspěšně regenerovat celé rostliny z izolovaných protoplastů, jsou zástupci rodů *Citrus*, *Pyrus*, *Populus*, *Prunus*, *Santalum* a *Ulmus* (tab. III). V případě neúspěchu při regeneraci rostlin z protoplastových kultur je možné uvažovat i o přímé aplikaci žádané DNA mikroinjekční metodou do jader pohlavních buněk nebo oplozených vajíček.

Posledním krokem v metodice genových manipulací je analýza získaných transgenních rostlin — důkaz přítomnosti introdukovaného genu (DNA-DNA hybridizace — Southern blotting), jeho transkripce v mRNA (DNA-RNA hybridizace — northern blotting), důkaz přítomnosti translačního produktu (imunologické reakce — western blotting) a jeho funkce (biochemické reakce), hodnocení fenotypu, stabilita získaného znaku v průběhu ontogeneze i v semenných potomstvech. Žádoucí je též rychlá multiplikace izolovaných transgenních individuí nepohlavním množním (klonování rostlin). Tohoto cíle lze dosáhnout aplikací technik explantátových kultur *in vitro*.

APLIKACE TECHNIK GENOVÝCH MANIPULACÍ VE ŠLECHTĚNÍ

První zprávu o úspěšné regeneraci celé transgenní lesní dřeviny, hybridního topolu (*Populus alba* × *P. grandidentata*), vykazující expresi přeneseného, hospodářsky významného genu uveřejnil Fillatti et al., 1987. Jedná se o znak zvýšené odolnosti vůči širokospektrálnímu herbicidu glyfozátu, který je užíván k ničení plevelů v topolových školkách. V normálních rostlinách glyfozát blokuje funkci 5-enolpyruvylšikimát 3-fosfát syntázy (EPSP), klíčového enzymu biosyntézy aromatických sloučenin, což vede ke hladovění na aromatické aminokyseliny, hromadění šikimátu a nakonec ke smrti buňky i celé rostliny. Fillatti et al., izolovali mutantní alelu tohoto genu z bakterie *Salmonella typhi*-

III. Protoplastové kultury dřevin — Forest tree protoplast cultures

Nahosemenné	Krytosemenné
a) Izolace protoplastů (bez následné regenerace)	
<i>Cupressus arizona</i> , <i>Pinus contorta</i> , <i>P. echinata</i> , <i>Tsuga heterophylla</i>	<i>Alnus glutinosa</i> , <i>Betula pendula</i> , <i>B. pubescens</i> , <i>Corylus avellana</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Morus alba</i> , <i>Populus tremuloides</i> , <i>P. nigra</i> × <i>P. laurifolia</i> , <i>P. tacamahacca</i> × <i>P. trichocarpa</i> , <i>Salix alba</i> , <i>S. caprea</i> , <i>Thuja</i> sp., <i>Ulmus americana</i> , <i>U. campestris</i> , <i>U. glabra</i> , <i>U. levis</i> , <i>U. parviflora</i> , <i>U. pumila</i>
b) Buněčné dělení a tvorba kalusů v protoplastových kulturách	
<i>Biota orientalis</i> , <i>Picea abies</i> , <i>P. excelsa</i> , <i>Pinus coulteri</i> , <i>P. pinaster</i> , <i>P. taeda</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i>	<i>Copaifera multijuga</i> , <i>Fagus sylvatica</i> , <i>Leucaena leucocephala</i> , <i>Sapium sebiferum</i>
c) Regenerace rostlin z izolovaných protoplastů	
	<i>Citrus sinensis</i> , <i>Populus tremula</i> , <i>P. alba</i> × <i>P. grandidentata</i> , <i>P. nigra</i> × <i>P. trichocarpa</i> , <i>Prunus avium</i> × <i>P. pseudocerasus</i> , <i>Pyrus communis</i> , <i>Santalum album</i> , <i>Ulmus</i> hybr.

murium, kódující EPSP syntázu, která díky jediné aminokyselinové substituci prokazuje sníženou afinitu ke glyfozátu, aniž by tím byla ovlivněna funkce enzymu. Tento mutantní gen byl naklonován do binárního vektoru *A. tumefaciens* pod kontrolou vhodného promotoru. Po transformaci listových disků topolu kultivací s agrobakteriem byly z explantátů na agarových živných médiích regenerovány transgenní rostliny. Přítomnost bakteriálního genu v rostlinách byla prokázána metodou DNA-DNA hybridizace a detekce produktu tohoto genu, bakteriální EPSP syntázy, byla provedena imunologicky. Předběžné analýzy ukázaly, že transgenní topoly jsou morfologicky nezměněné a prokazují zvýšenou odolnost vůči glyfozátovým postřikům. Tato pionýrská práce v oblasti lesnictví je jednou z cest genového inženýrství ve šlechtění rostlin na rezistenci k pesticidům. Alternativními přístupy k izolaci herbicid-rezistentních případně tolerantních rostlin jsou zvýšení hladiny cílového herbicid-senzitivního enzymu (selekce s využitím spontánní nebo indukované variability, introdukce více kopií genu, zařazení genu pod kontrolu cizího silného promotoru) a exprese detoxikujících enzymů, které chemicky inaktivují molekuly herbicidu. Tohoto principu využili De Block et al. (1987), když izolovali transgenní rostliny tabáku, bramboru a rajčete zcela rezistentní vůči neselektivnímu herbicidu fosfotricinu přenosem genu kódujícího fosfotricin acetyltransferázu z houby *Streptomyces hygroscopicus*.

Jednou ze snah genového inženýrství rostlin je zvýšit obsah některých aminokyselin v zásobních proteinech s cílem zlepšit jejich nutriční

hodnotu. Existují přinejmenším dvě možné cesty, jak toho dosáhnout: modifikace genů kódujících stávající rostlinné proteiny (mutageneze, amplifikace, delece, substituce) a inkorporace cizích nebo syntetických polynukleotidů (genů) kódujících proteiny s vysokým obsahem žádaných esenciálních aminokyselin. J a y n e s et al. (1986) syntetizovali takový umělý gen, nazvaný HEAAE-gen (high essential amino acid encoding), který kóduje syntézu proteinu se zvýšeným obsahem limitních rostlinných aminokyselin izoleucinu, lyzinu, metioninu, treoninu a tryptofanu. HEAAE-gen byl zařazen pod kontrolu orgán-specifického promotoru a pomocí agrobakteriálního plazmidového vektoru přenesen do rostlin bramboru. I když molekulární analýzy již prokázaly přítomnost genu i jeho transkripčního a translačního produktu v rostlině, není dosud známo, do jaké míry došlo k celkovému zvýšení obsahu esenciálních aminokyselin v bramborových hlízách, a tedy i ke zvýšení jejich nutriční hodnoty. Obecně lze konstatovat, že tento přístup — využití syntetických genů zkonstruovaných na bázi optimalizované sekvence aminokyselin v proteinech („geny na míru“) — představuje nejprogresivnější trend v genovém inženýrství rostlin i jiných organismů.

V současné době existují tři hlavní strategie genového inženýrství ve šlechtění na rezistenci vůči virovým chorobám. První směr je založen na klasickém mechanismu křížové ochrany, kdy rostlina již napadená oslabeným virem potlačuje replikaci superinfikujícího viru a tím i symptomy virové choroby. Tohoto mechanismu využili A b e l et al. (1986), když pomocí Ti-plazmidu *Agrobacterium tumefaciens* přenesli do rostlin tabáku DNA kopii RNA genu pro plášťový protein z viru mozaiky tabáku. Transgenní tabákové rostliny syntetizovaly virový protein a vykazovaly zvýšenou odolnost vůči virové infekci. Druhý směr v rezistenčním šlechtění spočívá v inhibici genové exprese RNA virů v rostlinných buňkách expresí jejich komplementární (anti) RNA (E c k e r a D a v i s, 1986). Princip anti-RNA strategie spočívá v introdukci genů syntetizujících minus-vlákná která RNA, pravděpodobně cestou vzniku RNA-RNA duplexů, blokují expresi příslušných virových RNA genů. Třetí směr využívá existence satelitních RNA jako virových parazitů. Tato satelitní RNA může u některých RNA virů provázet jejich infekci, čímž potlačuje virovou replikaci i expresi symptomů choroby. H a r r i s o n et al. (1987) připravili DNA kopii satelitní RNA viru mozaiky okurek a prostřednictvím Ti-vektoru ji vpravili do jaderného genomu tabáku. Po infekci transgenních rostlin virem byla indukována intenzivní syntéza satelitní RNA, virus enkapsuloval satelit, virová replikace se zpomalila a chorobné symptomy byly do značné míry potlačeny.

Významnou fytopatologickou problematikou je šlechtění na rezistenci vůči bakteriálním chorobám rostlin. Velmi zajímavý projekt v této oblasti navrhli J a y n e s et al. (1987), který je založen na využití inducibilní hormonální imunity hmyzu. Jestliže jsou do hmyzu injikovány nepatogenní bakterie, dochází k indukci genů pro imunitu a k syntéze asi 15 různých proteinů (lysozym, cecropiny, attaciny) s širokospektrálními baktericidními účinky. Byly izolovány příslušné mRNA a posléze i geny kódující jejich syntézu. Molekulární mechanismy účinku těchto antibakteriálních proteinů dosud nebyly objasněny, byla však prokázána jejich toxicita vůči řadě fytopatogenních bakterií (*Erwinia*, *Clavibacter*, *Xanthomonas*), přičemž jsou zcela benigní k eukaryontním buňkám. Pro-

střednictvím agrobakteriálních vektorů jsou tyto hmyzí inducibilní geny pro imunitu vnášeny do rostlin bramboru s cílem navození rezistence k bakteriálním chorobám.

V boji proti hmyzím škůdcům rostlin je možné využívat jejich přirozený patogenů — virů, bakterií a hub. Je známa řada mikroorganismů s entomopatogenními účinky, např. *Bacillus* spp. (Coleoptera, Lepidoptera, Diptera), *Rickettsiella* (Coleoptera, Diptera, Orthoptera), *Beauveria* (Lepidoptera, Homoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Diptera), *Pseudomonas* a *Xenorhabdus* (široké spektrum hostitelů). Tyto mikroorganismy se obvykle aplikují na zasažené rostliny přímo ve vitálním stavu nebo lze provádět ošetření jejich hrubými extrakty obsahujícími entomotoxické látky. Nejperspektivnější metodou, která minimalizuje nežádoucí ovlivnění benigního hmyzu, je ovšem konstrukce transgenních rostlin nesoucích funkční mikrobiální geny pro vlastní syntézu těchto látek. Nejznámějším entomopatogenním mikroorganismem je bakterie *Bacillus thuringiensis* produkující v době sporulace parasporické protoxiny, které jsou s trávicím traktu larev lepidopter a dipter štěpeny proteázami na toxiny s letálními účinkem. U některých kmenů *B. thuringiensis* jsou protoxinové geny umístěny v bakteriálním chromozómu, u většiny kmenů jsou však lokalizovány ve velkých plazmidech. Tyto plazmidové geny již byly izolovány a pomocí Ti-vektorů *A. tumefaciens* přeneseny do tabáku s cílem navození jejich ochrany vůči housenkám motýlů (V a e c k et al., 1987). Imunologickými metodami byla prokázána syntéza bakteriálních toxinů v transgenních rostlinách, představující asi 0,02 % z celkového množství rostlinných rozpustných bílkovin. Tato koncentrace byla postačující ke stoprocentní mortalitě housenek motýla *Manduca sexta*, které byly živěny listím tohoto transgenního tabáku.

Jednou z nejvážnějších a nejrozšířenějších chorob listnatých dřevin je grafioza jilmu, způsobená houbou *Ophiostoma ulmi*. Na boji proti této mykóze, která dosud ve světě nebyla potlačena, lze názorně ukázat řadu možných šlechtitelských i pěstitelských přístupů. Vedle klasických šlechtitelských metod (introdukce rezistentních asijských jilmů), indukované rezistence injekcí avirulentních kmenů houby (křížová ochrana) a aplikace syntetických fungicidů jsou realizovány pokusy o potlačení růstu houby po infekci virem (Brasier, 1983), boj proti přenašeči houbových spor *O. ulmi* bělokazu jilmovému (*Scolytus scolytus*) aplikací entomopatogenní houby *Phomopsis oblonga* (Brasier a Webster, 1987) a konečně využití fungicidních vlastností bakterie *Pseudomonas syringae* (Strobel a Lanier, 1981). V současné době jsou prováděny i první molekulárně-biologické studie indukované rezistence jilmu (Duchesne et al., 1985), virové infekce *O. ulmi* (Rogers et al., 1987) a antimykotického mechanismu účinku *Pseudomonas syringae* (Lam et al., 1987). Bakterie *P. syringae* injikované pod kůru jilmů zde přežívají minimálně dva roky, brání invazi houby a potlačují symptomy grafiozy. Bakteriální fungicid však nebyl dosud purifikován a není prakticky nic známo o jeho produkci bakteriemi a distribuci ve stromech. Cílem genového inženýrství bude izolace genů kódujících syntézu bakteriálního fungicidu a jejich přenos a funkční exprese v rostlinách jilmu. Úkol to nebude lehký, neboť genetické analýzy *Pseudomonas syringae* naznačily, že metabolismus fungicidu je v bakterii řízen více geny.

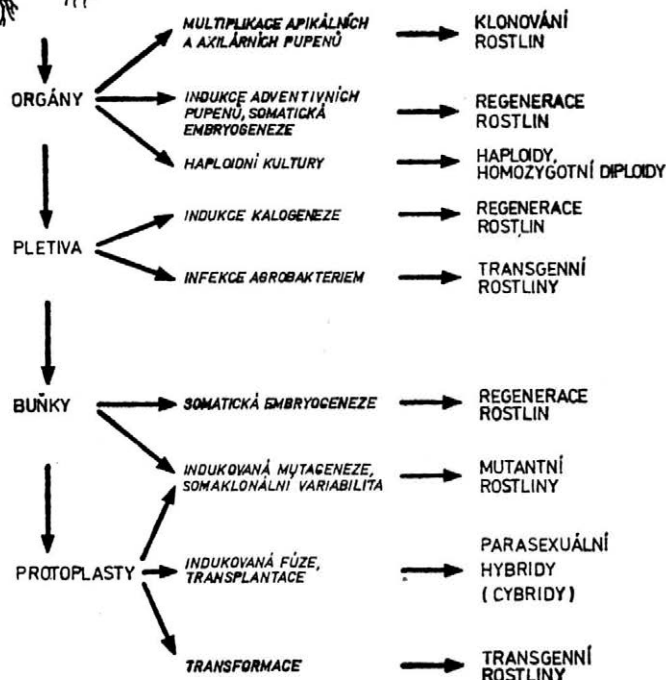
Základem pro aplikace technik genového inženýrství ve fytopatologii je objasnění molekulárních mechanismů interakcí patogen-hostitel, zejména identifikace fyto toxinů, mechanismus jejich účinku a izolace genů hostitele odpovídajících za rezistenci. Výsledky hybridizačních pokusů ukazují, že v mnoha případech je rezistence rostliny vůči patogenu řízena pouze jediným dominantním genem (Staskawicz, 1983). Jakmile budou tyto geny izolovány, bude možné je klonovat do vhodných vektorů a přenášet do rostlin. Jiným přístupem, vhodným především k analýze interakcí patogen-hostitel, je klonování genů patogena odpovědných za jeho virulenci. Při studiu interakcí patogen-hostitel je často žádoucí přenést naklonovaný genom viru pomocí vhodného vektoru do hostitelské rostlinné buňky. K replikaci a expresi viru však obvykle nedochází, neboť genom viru se nemůže uvolnit z kovalentní vazby s vektorem. Proto Grimsley et al. (1986) vypracovali techniku vnášení virového genomu do rostlin pomocí Ti-plazmidu. Její princip spočívá v tom, že virový genom je v T-DNA Ti-plazmidu několikanásobně tandemově opakován, což umožňuje (pravděpodobně mechanismem intramolekulární rekombinace) jeho uvolnění z plazmidového vektoru. Touto metodou, zvanou agroinfekce, je možné i stabilně integrovat virový genom nebo jeho části do jader rostlinných buněk.

Rostliny mají vyvinuty četné mechanismy k obraně vůči biotickým a abiotickým stresům, patří mezi ně i syntéza řady chemických látek nebílkovinné (inhibitory proteinů, antibiotika, taniny, fytoalexiny, allelochemické látky, oligogalakturonidy) i bílkovinné povahy (lytické enzymy, heat-shock proteiny, pathogenesis-related proteiny, metalothioneiny). Většina těchto látek je inducibilní povahy, tedy jejich syntéza a akumulace je vyvolána patogenem nebo jiným stresem. Je možné očekávat, že zvýšená nebo konstitutivní syntéza těchto látek by mohla vést ke zvýšení odolnosti rostlin (širokospektrální indukovaná rezistence). Z genů, které kódují jejich syntézu, byly izolovány a klonovány např. gen pro jeden z pathogenesis-related proteinů (endochitináza) a gen pro chalkon syntázu, klíčový enzym syntézy flavonoidů s fytoalexinovými účinky.

EXPLANTÁTOVÉ KULTURY IN VITRO

Hlavní směry nových technologií ve šlechtění lesních dřevin zahrnují kromě genového inženýrství především metody využívající explantátových kultur (obr. 3). Explantátové kultury představují velmi široký soubor metod a technik umožňující kultivaci, regeneraci a případně i genetickou modifikaci fragmentů rostlin v umělých podmínkách *in vitro*. Jejich cílem je buď masové množení geneticky identických individuí (klonování rostlin) nebo izolace geneticky modifikovaných buněčných linií a rostlin (buněčné inženýrství). Tyto dva hlavní cíle ovšem spolu úzce souvisejí, neboť klonování rostlin *in vitro* je i významným finálním krokem k multiplikaci nových genotypů získaných metodami buněčného a genového inženýrství.

Explantátové kultury dřevin se setkávají s většími problémy než kultury bylinných druhů. Patří k nim zejména tvorba autotoxických sekundárních metabolitů, častá ztráta schopnosti diferenciaci v kulturách odvozených z dospělých jedinců, problémy s dormancí, slabá reakce na exogenní růstové regulátory a obtíže při zakládání axenických kultur



3. Přehled využití explantátových kultur *in vitro* ve šlechtění rostlin — A survey of the utilization of *in vitro* tissue cultures in plant breeding

[vnitřní infekce pletiv]. K hlavním oblastem využití explantátových technik v lesnictví patří vegetativní množení, somatická hybridizace, izolace mutantů z buněčných kultur, tvorba haploidů a homozygotních diploidů, izolace viruprostých rostlin, *in vitro* opylení a oplození, uchovávání vzácných genotypů a produkce komerčně významných látek *in vitro* (Chalupa, 1980).

Klonování lesních dřevin *in vitro* dosáhlo v poslední době velkého pokroku (tab. IV). Je známo již více než 100 druhů dřevin, které mohou být touto cestou množeny (Bonga a Durzan, 1982; Thorpe, 1985). Klonování rostlin se provádí multiplikací apikálních a axilárních pupenů, indukci adventivních pupenů a somatickou embryogenezi. Hlavní metodou množení jehličnanů je indukce tvorby adventivních pupenů na kultivovaných dělohách semenáčků, zatímco listnáče jsou klonovány především stimulací a multiplikací axilárních pupenů (Chalupa, 1983). Z hlediska zachování genetické stability klonovaného materiálu jsou vhodnější kultury preexistujících meristémů (apikální a axilární pupeny), neboť v kulturách somatických buněk může docházet v průběhu dediferenciace a diferenciace ke genetickým změnám. První výsledky testování genetické stability a uniformity dřevin získaných indukovanou organogenezi *in vitro* naznačují vysoký stupeň zachování znaků původních matečných jedinců (Haissig et al., 1987). Největším problémem množení dřevin *in vitro* zůstává ve většině případů nutnost používat jako primární explantáty juvenilní nebo rejuvenilizované části stromů, což může být zábranou zejména při klonování dospělých elitních jedinců.

IV. Přehled druhů nahosemenných a krytosemenných dřevin úspěšných při kultivaci *in vitro* — A survey of the species of gymnospermous and angiospermous forest trees, the *in vitro* culture of which was successful

Nahosemenné	Krytosemenné
a) Klonování pomocí apikálních nebo axilárních pupenů	
<i>Araucaria cunninghamii</i> , <i>Larix decidua</i> , <i>Picea abies</i> , <i>P. sitchensis</i> , <i>Pinus contorta</i> , <i>P. pinaster</i> , <i>P. sylvestris</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Sequoia sempervirens</i> , <i>Thuja plicata</i>	<i>Acacia koa</i> , <i>Acer platanoides</i> , <i>A. pseudoplatanus</i> , <i>Ailanthus altissima</i> , <i>Alaëis guineensis</i> , <i>Alnus glutinosa</i> , <i>A. incana</i> , <i>A. viridis</i> , <i>Betula pendula</i> , <i>B. pubescens</i> , <i>Carpinus betulus</i> , <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Fraxinus excelsior</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Malus sylvestris</i> , <i>Manihot utilissima</i> , <i>Populus balsamifera</i> , <i>P. canescens</i> , <i>P. euroamericana</i> , <i>P. nigra</i> , <i>P. tremula</i> , <i>P. × canadiensis</i> , <i>P. tremula</i> × <i>P. alba</i> , <i>P. tremula</i> × <i>P. tremuloides</i> , <i>Prunus padus</i> , <i>Quercus petraea</i> , <i>Q. robur</i> , <i>Robinia pseudoacacia</i> , <i>Salix alba</i> , <i>S. fraxilis</i> , <i>S. viminalis</i> , <i>Sorbus aucuparia</i> , <i>S. torminalis</i> , <i>Tectonia grandis</i> , <i>Tilia cordata</i> , <i>T. platyphyllos</i> , <i>Ulmus campestris</i> , <i>U. effusa</i> , <i>U. scabra</i>
b) Klonování prostřednictvím indukce adventivních pupenů nebo somatické embryogeneze	
<i>Araucaria cunninghamii</i> , <i>Biota orientalis</i> , <i>Cryptomeria japonica</i> , <i>Larix decidua</i> , <i>Picea abies</i> , <i>P. glauca</i> , <i>P. sitchensis</i> , <i>Pinus banksiana</i> , <i>P. brutia</i> , <i>P. contorta</i> , <i>P. eldarica</i> , <i>P. elliotii</i> , <i>P. lambertiana</i> , <i>P. palustris</i> , <i>P. pinaster</i> , <i>P. radiata</i> , <i>P. resinosa</i> , <i>P. rigida</i> , <i>P. sabiniana</i> , <i>P. strobus</i> , <i>P. sylvestris</i> , <i>P. taeda</i> , <i>P. virginiana</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Sequoia sempervirens</i> , <i>Thuja plicata</i> , <i>Tsuga heterophylla</i>	<i>Alaëis guineensis</i> , <i>Betula papyrifera</i> , <i>B. pendula</i> , <i>Corylus avellana</i> , <i>Eucalyptus alba</i> , <i>E. camaldulensis</i> , <i>E. citriodora</i> , <i>E. ficifolia</i> , <i>E. grandis</i> , <i>E. torelliana</i> , <i>Gnetum ula</i> , <i>Hevea brasiliensis</i> , <i>Ilea aquifolium</i> , <i>Juglans regia</i> , <i>Liquidambar styraciflua</i> , <i>Paulownia taiwaniana</i> , <i>P. tomentosa</i> , <i>Populus canescens</i> , <i>P. euroamericana</i> , <i>P. nigra</i> , <i>P. robusta</i> , <i>P. serotina</i> , <i>P. tremula</i> , <i>P. tremuloides</i> , <i>P. trichocarpa</i> , <i>P. alba</i> × <i>P. grandidentata</i> , <i>Quercus sessiflora</i> , <i>Salix</i> sp., <i>Santalum album</i> , <i>Tectonia grandis</i> , <i>Tilia parvifolia</i> , <i>Ulmus americana</i> , <i>U. campestris</i> , <i>U. hybr.</i>
c) Izolace haploidních rostlin nebo kalusů	
<i>Cupressus sempervirens</i> , <i>Cycas circinalis</i> , <i>Ephedra foliata</i> , <i>Ginkgo biloba</i> , <i>Gnetum ula</i> , <i>Juniperus chinensis</i> , <i>J. communis</i> , <i>Picea abies</i> , <i>Pinus lambertiana</i> , <i>P. mugo</i> , <i>P. nigra</i> , <i>P. resinosa</i> , <i>Pseudotsuga menziesii</i> , <i>Taxus baccata</i> , <i>T. brevifolia</i> , <i>Thuja orientalis</i> , <i>Torreya nucifera</i> , <i>Zamia integrifolia</i>	<i>Aesculus hippocastaneum</i> , <i>Betula pendula</i> , <i>Hevea brasiliensis</i> , <i>Populus nigra</i> , <i>P. tremuloides</i> , <i>P. ussuriensis</i> , <i>P. hybr.</i> , <i>Prunus amygdalus</i> , <i>P. avium</i> , <i>P. persica</i> , <i>Ulmus americana</i>

Snad nejvýznamnější místo v oblasti technik buněčného inženýrství zaujímají rostlinné protoplasty, které lze izolovat enzymatickou degradací pletiv a buněčných stěn. Protoplasty nacházejí široké uplatnění v metodikách izolace mutantů a přenosu genetické informace z rostlin i jiných organismů. Bylo zjištěno, že elektrické impulsy vysokého napětí reverzibilně permeabilizují buněčné membrány protoplastů. Tohoto jevu lze využít k doručování informačních biomakromolekul (DNA, RNA) do rostlinných protoplastů (elektroporace) nebo k indukci splývání protoplastů (elektrofúze). Somatická hybridizace cestou chemicky nebo elektricky indukované fúze protoplastů překonává bariéry inkom-

patibility a umožňuje přenos celých genomů nebo jejich částí. Uplatňuje se především při přenosu cytoplazmaticky děděných znaků (chloroplastové a mitochondriální geny), neboť v oblasti genového inženýrství nebyly dosud vyvinuty alternativní metody přenosu genů do organel. Radiačním ovlivněním jsou inaktivována jádra protoplastů jednoho z rodičů, takže po indukované fúzi lze izolovat hybridní linie obsahující cytoplazmatický genom obou rodičů a jaderný genom pouze jednoho z rodičů (cybridy). Izolace parasexuálních hybridů má velký význam i při přenosu polygenně řízených znaků, kdy je nesnadné izolovat geny lokalizované na vzdálených místech chromozómů a na různých chromozómech. Protoplasty mohou invaginací pohlcovat bakteriální sféroplasty nesoucí ve svých plazmidech klonované geny. Rostlinné protoplasty jsou též optimálním recipientním materiálem pro příjem cizí genetické informace (klonované geny, chromozómy, jádra, organely) metodami kapilární mikroinjekce. Recentní pokroky v oblasti manipulací s protoplasty lesních dřevin (Butt, 1985; Russell a McCown, 1986) i jejich indukované fúze (Kirsten et al., 1987) naznačují brzké uplatnění těchto technik ve šlechtitelských postupech.

V průběhu kultivace *in vitro* a zejména při regeneraci rostlin z kalusových, buněčných a protoplastových kultur často dochází ke vzniku dědičných genetických změn (somaklonální variabilita). Změny se projevují v kvalitativních i kvantitativních znacích a mohou zvyšovat i snižovat agronomickou hodnotu regenerantů. Jedná se v podstatě o rozšíření genetické variability rostlin podmíněné jednak preexistujícími změnami v genomech explantovaných somatických buněk a zejména vlivem arteficiálních kultivačních podmínek *in vitro*. Tyto genetické změny mohou zahrnovat změny počtu chromozómových sad (polyploidie), počtu chromozómů (aneuploidie), chromozomální aberace (delece, amplifikace, translokace) a genové mutace. Selektce žádaných genotypů pro šlechtitelské účely se provádí v populacích dospělých regenerovaných rostlin nebo, pokud je to možné, již v podmínkách *in vitro* za použití selekčního tlaku. Tak byl např. vyvinut modelový systém k identifikaci somaklonální variability v buněčných kulturách topolu a regeneraci rostlin, které prokazují zvýšenou rezistenci vůči houbovému patogenu *Septoria musiva* (Ettinger et al., 1986).

Tvorba haploidních rostlin prostřednictvím kultivace nezralého pylu nebo jiných technik umožňuje izolovat nejrozličnější genotypy vzniklé přirozenou rekombinací při meióze (gametoklonální variabilita) a detegovat recesivní alely (tab. IV). Jejich diploidizací lze rychle získat homozygotní diploidní linie, což je zvláště u dřevin s dlouhým generačním cyklem při použití klasického samoopylování časově velmi náročné. Nahosemenné dřeviny umožňují izolovat haploidy také kultivací megagametofytu. Megagametofyt je pro tento účel vynikajícím materiálem, neboť je složen z velkého množství haploidních buněk shodné genetické konstituce. U některých druhů dřevin však bylo zjištěno, že inbrední deprese homozygotních diploidů je tak silná, že tyto stromy předčasně odumírají.

Ve šlechtitelských procesech se uplatňují i techniky *in vitro* opylení a oplození a zejména kultivace extirpovaných nezralých embryí, které mohou vést k izolaci vzdálených hybridů, nedosažitelných konvenčním způsobem (při křížení se netvoří klíčivá semena). Byly publikovány již

první práce využívající technik explantátových kultur při studiu interakcí genotypu a prostředí a v populační genetice (M a y n a r d, 1986).

ZÁVĚR

V současné době dochází k neuvěřitelně rychlému pokroku ve všech oblastech molekulární i buněčné biologie. Jejich základní principy, objasněné na nižších organismech (baktérie, viry), otevírají široké pole možností při studiu metabolických procesů i konstrukci nových genotypů rostlin a živočichů. Rozvoj technik genových manipulací je podmíněn též výrobou superčistých biochemikálií a složitých elektronických aparatur včetně výpočetní techniky.

Rostlinná molekulární biologie je teprve v počátcích. Omezuje se především na základní výzkum v oblasti izolace rostlinných genů a studium jejich struktury, regulace a funkce. Pracuje se přitom s modelovými dvouděložnými rostlinami s ohledem na jejich malý genom a krátký životní cyklus (*Arabidopsis thaliana*) nebo snadnost transformace a regenerace *in vitro* (*Nicotiana tabacum* a jiné druhy z čeledi *Solanaceae*). Objev schopnosti agrobaktérií přenášet cizí genetickou informaci do rostlinných buněk vedl ke konstrukcím transgenních rostlin a vzniku aplikovaného odvětví molekulární biologie — genového inženýrství rostlin, které v současné době začíná přinášet první výsledky významné pro zemědělskou praxi. Buněčné inženýrství, opírající se o jedinečnou regenerační schopnost rostlinných buněk v kulturách *in vitro*, má již delší historii. I když zcela nesplnilo původní prognózy, stalo se cenným pomocníkem ve šlechtitelských procesech i v genovém inženýrství.

V současné době jsme svědky též prvních úspěchů v genetických manipulacích s dřevinami — izolace transgenních rostlin a regenerace izolovaných protoplastů, které by měly urychlit rozvoj nových technologií i ve šlechtění lesních dřevin. Nejdříve však bude nutné věnovat větší pozornost molekulární a buněčné biologii dřevin se zaměřením na analýzu genomu i specifických metabolických procesů. Některé zvláštnosti lesních dřevin, jako jsou extrémně dlouhý generační cyklus, velikost adultních jedinců, velký jaderný genom a vysoký stupeň heterozygotnosti, jsou vážnými překážkami stávajících šlechtitelských postupů i genetických manipulací. Je však nutné si uvědomit, že tyto překážky by neměly brzdit uplatnění nových technologií ve šlechtění, nýbrž by měly být důvodem k jejich rychlejšímu rozvoji, neboť jedině tyto technologie mají schopnost uведенé překážky zdolávat nebo obcházet. Vzhledem k současnému vývoji ve světě lze konstatovat, že v blízké budoucnosti bude více zaměřena pozornost na molekulární biologii dřevin a že již koncem tohoto století se technologie genových a buněčných manipulací stanou významnou součástí strategií šlechtění lesních dřevin.

V nejbližší době lze očekávat v oblasti výstupu do lesnické praxe širší uplatnění technik *in vitro* klonování selektovaných dřevin při umělému zalesňování. Ve šlechtění lesních dřevin bude zaměřena pozornost na překonání problémů regenerace explantátů z dospělých stromů, využití somaklonální a gametoklonální variability a indukované mutageny k rozšíření genetické variability, rozvíjení protoplastových technik k izolaci somatických hybridů a zejména na vypracování metodických přístupů, které by umožňovaly selekci žádaných genotypů již v kulturách

in vitro (zkrácení šlechtitelských procesů). V oblasti genového inženýrství lze očekávat rychlejší pokrok pouze v omezeném rozsahu, a to s využitím genů izolovaných z jiných skupin organismů (modelové rostliny, bakterie, viry), u dřevin schopných infekce agrobakteriemi a regenerace v kulturách *in vitro*. Další pokrok v rozvoji buněčných a molekulárních technologií ve šlechtění lesních dřevin bude závislý na výsledcích základního výzkumu především v oblasti genetiky a biochemie.

Literatura

- ABEL, P. P. — NELSON, R. S. — DE, B. — HOFFMANN, N. — ROGERS, S. G. — FRALEY, R. T. — BEACHY, R. N.: Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science* 232, 1986, s. 738-743.
- BONGA, J. M. — DURZAN, D. J. (ed.): *Tissue culture in forestry*. Nijhoff/Junk Publ., Boston, 1982.
- BRASIER, C. M.: A cytoplasmatically transmitted disease of *Ceratocystis ulmi*. *Nature* 305, 1983, s. 220-223.
- BRASIER, C. M. — WEBBER, J. F.: Recent advances in Dutch elm disease research: host, pathogen and vector. In: *Advances in practical arboriculture* (PATCH, D., ed.), Forest comm. bull. 65, London, 1987, s. 166-180.
- BRISSON, N. — PASZKOWSKI, J. — PENSWICK, J. R. — GRONENBORN, B. — POTRYKUS, I. HOHN, T.: Expression of a bacterial gene in plants using a viral vector. *Nature* 310, 1984, s. 511-514.
- BUTT, A. D.: A general method for the high-yield isolation of mesophyll protoplasts from deciduous tree species. *Plant Sci.* 42, 1985, s. 55-59.
- DE BLOCK, M. — BOTTERMAN, J. — VANDEWIELE, M. — DOCKX, J. — THOEN, C. — GOSSELE, V. — RAO MOVVA, N. — THOMPSON, G. — VAN MONTAGU, M. — LEEMANS, J.: Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO J.* 6, 1987, s. 2513-2518.
- DE CLEENE, M. — DE LEY, J.: The host range of crown-gall. *Bot. Rev.* 42, 1976, s. 389-466.
- DINER, A. M. — MOTT, R. L. — AMERSON, H. V.: Cultured cells of white pine show genetic resistance to axenic blister rust hyphae. *Science* 224, 1984, s. 407-408.
- DUCHESNE, L. C. — JENG, R. S. — HUBBES, M.: Accumulation of phytoalexins in *Ulmus americana* in response to infection by a nonaggressive and an aggressive strain of *Ophiostoma ulmi*. *Can. J. Bot.* 63, 1985, s. 678-680.
- ECKER, J. R. — DAVIS, R. W.: Inhibition of gene expression in plant cells by expression of antisense RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1986, s. 5372-5376.
- ETTINGER, T. L. — READ, P. E. — HACKETT, W. P. — OSTRY, M. E. — SKILLING, D. D.: Development of resistance in *Populus* to *Septoria musiva* utilizing somaclonal variation. In: *New ways in forest genetics* (Proc. 12th meet. CTIA), 1986, s. 83-90.
- FILLATTI, J. A. J. — SELLMER, J. — McCOWN, B. — HAISSIG, B. — CÔMAI, L.: *Agrobacterium* mediated transformation and regeneration of *Populus*. *Mol. Gen. Genet.* 206, 1987, s. 192-199.
- FRALEY, R. T. — ROGERS, S. G. — HORSCH, R. B.: Genetic transformation in higher plants. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 4, 1986, s. 1-46.
- FRENCH, R. — JANDA, M. — AHLQUIST, P.: Bacterial gene inserted in an engineered RNA virus: efficient expression in monocotyledonous plant cells. *Science* 231, 1986, s. 1294-1297.
- GRIMSLEY, N. — HOHN, B. — HOHN, T. — WALDEN, R.: "Agroinfection", an alternative route for viral infection of plants by using the Ti plasmid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1986, s. 3282-3286.
- HAISSIG, B. E. — NELSON, N. D. — KIDD, G. H.: Trends in the use of tissue culture in forest improvement. *Bio/Technology* 5, 1987, s. 52-59.
- HARRISON, B. D. — MAYO, M. A. — BAULCOMBE, D. C.: Virus resistance in transgenic plants that express cucumber mosaic virus satellite RNA. *Nature* 328, 1987, s. 799-802.
- CHALUPA, V.: Use of tissue culture in forestry. *Swedish Univ. Agr. Sci., Dept. Forest Genet., Int. Rapport Nr. 36*, Umea, 1980, s. 1-18.
- CHALUPA, V.: Micropropagation of conifer and broadleaved forest trees. *Commun. Inst. Forest. Česosl.* 13, 1983, s. 7-39.

- JAYNES, J. M. — YANG, M. S. — ESPINOZA, N. — DODDS, J. H.: Plant protein improvement by genetic engineering: use of synthetic genes. *Trend Biotech.* 4, 1986, s. 314-320.
- JAYNES, J. M. — XANTHOPOULOS, K. G. — DESTEFANO-BELTRAN, L. — DODDS, J. H.: Increasing bacterial disease resistance in plants utilizing antibacterial genes from insects. *BioEssays* 6, 1987, s. 263-270.
- KINLOCH, B. B. — PARKS, G. K. — FOWLER, C. W.: White pine blister rust: simply inherited resistance in sugar pine. *Science* 167, 1970, s. 193-195.
- KIRSTEN, U. — JACOB, H. E. — TESCHE, M. — KLUGE, S.: First evidence of fusion of protoplasts from coniferous trees by electric field pulses. *Studia Biophys.* 119, 1987, s. 85-87.
- KONDO, T. — ISHIBASHI, T. — SHIBATA, M. — HIRAI, A.: Isolation of chloroplast DNA from *Pinus*. *Plant Cell Physiol.* 27, 1986, s. 741-744.
- LAM, B. S. — STROBEL, G. A. — HARRISON, L. A. — LAM, S. T.: Transposon mutagenesis and tagging of fluorescent *Pseudomonas*: antimycotic production is necessary for control of Dutch elm disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 1987, s. 6447-6451.
- LEDIG, F. T. — SEDEROFF, R. R.: Genetic engineering in forest trees. In: *Proceedings of the 18th southern forest tree improvement conference*, Long Beach, 1985, s. 4-13.
- MAYNARD, C. A.: Population genetics of forest trees: implications for the application of *in vitro* techniques. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 22, 1986, s. 231-233.
- PALMER, J. D. — STEIN, D. B.: Conservation of chloroplast genome structure among vascular plants. *Curr. Genet.* 10, 1986, s. 823-833.
- RUSSELL, J. A. — MCCOWN, B. H.: Culture and regeneration of *Populus* leaf protoplasts isolated from non-seedling tissue. *Plant Sci.* 46, 1986, s. 133-142.
- SPARROW, A. H. — NAUMAN, A. F.: Evolution of genome size by DNA doublings. *Science* 192, 1976, s. 524-529.
- STACHEL, S. E. — ZAMBRYSKI, P. C.: *Agrobacterium tumefaciens* and the susceptible plant cell: a novel adaptation of extracellular recognition and DNA conjugation. *Cell* 47, 1987, s. 155-157.
- STASKAWICZ, B. J.: Molecular genetics of plant disease. In: *Biochemical plant pathology* (Callow, J. A., ed.). John Wiley and Sons Ltd., New York, 1983, s. 199-213.
- STEWART, S. C. — SCHOEN, D. J.: Segregation at enzyme loci in megagametophytes of white spruce, *Picea glauca*. *Can. J. Genet. Cytol.* 28, 1986, s. 149-153.
- STROBEL, G. A. — LANIER, G. N.: Dutch elm disease. *Sci. Amer.* 245, 1981, s. 40-50.
- THORPE, T. A.: Application of tissue culture technology to forest tree improvement. *Forest. Chron.* 61, 1985, s. 436-438.
- VAECK, M. — REYNAERTS, A. — HÖFTE, H. — JANSSENS, S. — DE BEUCKE-LEER, M. — DEAN, C. — ZABEAU, M. — VAN MONTAGU, M. — LEEMANS, J.: Transgenic plants protected from insect attack. *Nature* 328, 1987, s. 33-37.

Došlo dne 10. 2. 1988

ВЫСКОТ, Б. (Биофизический институт ЧСАН, Брно): Генетические манипуляции с растительной клеткой и их перспективы в селекции лесных древесных пород. *Lesnictví*, 34, 1988 (8) : 675-694.

За последнее время достигли большого развития методы генных манипуляций с растительными клетками, черпающие прежде всего из широкой основы молекулярной биологии прокариотных организмов. Большим преимуществом растительного материала является тотипотенция, предоставляющая возможность повторной регенерации целых растений из изолированных клеток. Эксплантатные *in vitro* культуры, основанные преимущественно на эмпирической базе, принесли уже целый ряд знаменательных результатов для применения в селекционной практике. Однако пути целенаправленной генетической модификации растений раскрылись только с обнаружением Ti-плазмид патогенного микроорганизма *Agrobacterium tumefaciens*, часть которых (T-DNA), после инфекции растительной клетки, ковалентно включается в ее ядерный геном. Этот естественный процесс можно использовать для переноса желательных генов в растения. Таким образом удалось достигнуть экспрессии некоторых прокариотных и эукариотных генов в растениях, включая те, кодирующие свойства, значительные с агрономической точки зрения. Параллельно развиваются также методические приемы для прямого переноса генов в растительные протопласты. Лимитирующим фактором прогресса в генетической инженерии растений является пока ограниченное знание

структуры и регуляции экспрессии растительного генома. В работе резюмируется современное состояние генных и клеточных *in vitro* манипуляций и сообщается прогноз их применения в селекции лесных древесных пород.

селекция лесных древесных пород; генная и клеточная инженерия растений

VYSKOT, B. (Biofyzikální ústav ČSAV, Brno): *Genetic Manipulations with the Plant Cell and Their Prospects in Forest Tree Breeding*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 675-694.

Recently, considerable development has been achieved in the methods of gene manipulations with plant cells, starting above all from a wide base of molecular biology of prokaryotic organism. A great advantage of the plant material consists in its totipotency, which facilitates a repeated regeneration of whole plants from isolated cells. The explant cultures *in vitro*, established predominantly on empirical base, have brought a large number of important results applicable in plant breeding practice. Nevertheless, the paths to purposeful genetic modification of plants have been opened only by the discovery of Ti-plasmids in a pathogenic microorganism *Agrobacterium tumefaciens*, a part of which (T-DNA) is covalently transferred into its nuclear genome, after infection of the plant cell. This natural process can be used to transfer desirable genes into the plants. Expression of some prokaryotic and eukaryotic genes was attained in this way, including the genes coding significant characters from the agronomical point of view. Parallely, methodical approaches to direct transfer of genes into plant protoplasts are developed. Up to the present time a limiting factor of the progress in the genetic engineering of plants has been found in insufficient knowledge of the structure and regulation of plant genome expression. The paper summarizes the contemporary state of gene and cell *in vitro* manipulations and a prognosis is given for their future applications in forest tree breeding.

forest tree breeding; gene and cell engineering of plants

VYSKOT, B. (Biofyzikální ústav ČSAV, Brno): *Genetische Manipulationen mit der pflanzlichen Zelle und ihre Perspektiven bei der Züchtung von Waldbaumarten*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 675-694.

In jüngster Zeit erreichten Methoden der Genmanipulationen mit Pflanzenzellen eine große Entwicklung, die vor allem aus dem breiten Hinterland der Molekularbiologie prokaryonter Organismen schöpfen. Einen großen Vorzug des pflanzlichen Materials stellt die Totipotenz dar, die eine wiederholte Regeneration ganzer Pflanzen aus isolierten Zellen ermöglicht. Explantatkulturen *in vitro*, vorwiegend auf empirischer Basis gegründet, haben bereits eine ganze Reihe bedeutsamer Ergebnisse gebracht, die auch in der züchterischen Praxis anwendbar sind. Wege gezielter genetischer Modifikation von Pflanzen wurden jedoch erst durch die Entdeckung von Ti-Plasmiden des pathogenen Mikroorganismus *Agrobacterium tumefaciens* freigemacht, deren Teil (T-DNA) sich nach der Infektion der Pflanzenzelle auf kovalente Weise in ihr Kerngenom eingliedert. Dieser natürliche Prozeß kann zur Übertragung gewünschter Gene in Pflanzen ausgenutzt werden. Auf diese Weise wurde bereits die Expression einiger prokaryonter und eukaryonter Gene in Pflanzen erreicht, einschließlich der Gene, die agronomisch wichtige Merkmale kodieren. Parallel werden auch methodische Verfahren entwickelt, die sich zur direkten Einbringung von Genen in pflanzliche Protoplaste eignen. Den limitierenden Faktor des Fortschritts im Gen-Ingenieurwesen der Pflanzen stellt vorläufig die eingeschränkte Kenntnis der Struktur und der Regulation der Expression des pflanzlichen Genoms dar. Die Arbeit faßt den derzeitigen Stand der Gen- und der Zellenmanipulationen *in vitro* bei Holzarten zusammen und bringt eine Prognose ihrer Anwendung in der Züchtung von Waldbaumarten.

Züchtung von Waldbaumarten; Gen- und Zelleningenieurwesen von Pflanzen

Adresa autora:

RNDr. Boris Vyskot, CSc., Biofyzikální ústav ČSAV, Královopolská 135, 612 65 Brno 12

ŠLACHTITELSKÉ PROGRAMY A ŠLACHTITELSKÉ STRATÉGIE LESNÝCH DREVÍN

L. Paule

PAULE, L. (Lesnícka fakulta VŠLD, Zvolen): *Šľachtiteľské programy a šľachtiteľské stratégie lesných drevín*. Lesníctví, 34, 1988 (8) : 695-704.

V práci sa predkladá súbor základných teoretických otázok týkajúcich sa tvorby šľachtiteľských programov u lesných drevín. Na rozdiel od poľnohospodárskych rastlín lesné dreviny predstavujú v šľachtení jedinečný prípad, pretože v prípade lesných drevín vždy ide o dlhoveké organizmy s časovo vzdialenou reprodukčnou a produkčnou dobou. Práca je venovaná analýze základných komponentov šľachtiteľských programov a ich časovej návaznosti, ako aj hodnoteniu ekonomickej efektívnosti vlastného šľachtenia lesných drevín a šľachtiteľských programov.

šľachtenie lesných drevín; šľachtiteľské programy; šľachtiteľské stratégie

Šľachtenie lesných drevín a korešpondujúci výskum existujú v širšom rozsahu už takmer celé polstoročie. Počas celého doterajšieho vývoja šľachtenia lesných drevín, tak v strednej Európe, ako aj v mnohých ďalších krajinách s rozvinutým lesným hospodárstvom, bola hlavná pozornosť venovaná hlavne zhromažďovaniu základných poznatkov o premenlivosti a dedičnej podmienenosti znakov a vlastností lesných drevín a menej praktickému šľachteniu. I v prípadoch, keď sa so šľachtením lesných drevín započalo, išlo skôr o riešenie čiastkových problémov bez ich vzájomnej časovej a priestorovej návaznosti a koncepcnej dlhodobej orientácie.

Vzhľadom na to, že subjektom šľachtenia lesných drevín sú dlhoveké organizmy s dlhou produkčnou a reprodukčnou dobou, nemôžeme šľachtiteľské programy analogicky stavať na princípoch používaných pri šľachtení jednoročných kultúrnych rastlín, alebo ovocných drevín.

Aj keď je dnes šľachtenie lesných drevín považované za najlacnejšiu cestu zabezpečenia zvýšených požiadaviek na drevnú hmotu, musíme mať na pamäti, že produkt šľachtenia (ak nerátame rýchlorastúce dreviny) bude realizovaný najskôr v päťdesiatych rokoch budúceho storočia.

Prvé pokusy o rozpracovanie rozsiahlejších šľachtiteľských programov u lesných drevín v Európe boli viazané predovšetkým na krajiny, v ktorých sa vo väčšom rozsahu započalo s aplikáciou novošľachtenia (hybridizácie) u rýchlorastúcich drevín (Nemecko a Taliansko). Neskôr boli šľachtiteľské programy rozpracované u ihličnatých drevín, a to hlavne v období po vyriešení praktických otázok autovegetatívneho rozmnožovania (najmä u smreka) — Švédsko, Fínsko, NSR (Roulund, 1981; Gullberg a Kang, 1985a, 1985b).

V poslednom desaťročí boli rozpracované mnohé šľachtiteľské programy v USA a v Kanade, a to hlavne u rýchlorastúcich borovíc (južné štáty USA), ale aj mnohých ďalších ihličnanov (smrek, douglaska, borovice boreálnej oblasti) (Libby, 1973; Carlisle a Teich, 1971 a mnohí iní). Dynamický rozvoj šľachtenia lesných drevín založený na koncepcne stavaných šľachtiteľských programoch a dlhodobých šľachtiteľských stratégiách sa zaznamenáva v Austrálii a na Novom Zélande (Coterill, 1984 a i.).

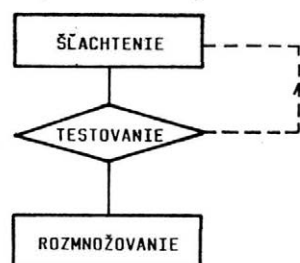
V Československu boli prvé dlhodobejšie orientované šľachtiteľské programy zamerané na záchranu genofondu smreka v imisne atakovaných oblastiach Krkonôš a Jizerských hor (Šindelář, 1977), ďalej na zvýšenie odolnosti jedlí hybridizáciou (Greguss, 1986), alebo rozpracovanie šľachtiteľských programov niektorých lokálnych populácií (napr. trenčiansky smrekovec — Ondrušková, 1986). Niektorým teoretickým otázkam tvorby šľachtiteľských programov a časovej návaznosti jednotlivých zložiek sa venoval Paule (1986b, 1987).

ŠLACHTITEĽSKÉ PROGRAMY A ICH ŠTRUKTÚRA

Šľachtenie lesných drevín sa skladá v podstate z troch na seba nadväzujúcich základných činností (obr. 1):

- šľachtenie
- testovanie
- rozmnožovanie.

Tieto tri základné a na seba často naväzujúce činnosti sú predpokladom efektívneho využitia biologického potenciálu a zabezpečenia dostatočného genetického zisku.



1. Základné činnosti v rámci šľachtenia lesných drevín
— Principal activities within the forest tree breeding

Šľachtenie lesných drevín považujeme preto za spojitý proces produkcie šľachteného materiálu, pri súčasnom zachovaní pomerne vysokej genetickej premenlivosti zaručujúcej hlavne stabilitu produkcie. Vysoká genetická premenlivosť je vlastnosťou prirodzených populácií lesných drevín, ktoré ako výsledok evolučného procesu sú plne adaptované na premenlivé podmienky prostredia, ale je aj nutným predpokladom (až na výnimky, ako napr. topole) stability zakladaných kultúr, v ktorých využívame šľachtený materiál. V šľachtení lesných drevín sa však zaoberáme populáciami, ktoré sa vyznačujú značne zmenenou genetickou štruktúrou, a ktorá sa často podstatne odlišuje od genetickej štruktúry prirodzených populácií.

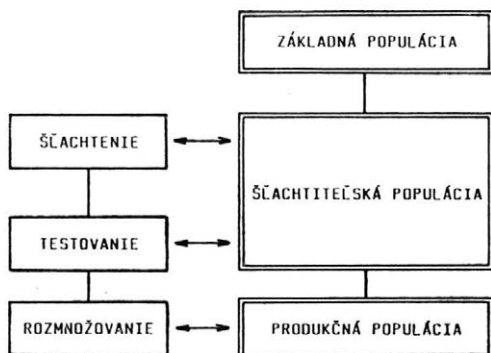
Z tohto dôvodu klasifikujeme jednotlivé zložky dlhodobých a krátkodobých šľachtiteľských programov takto:

— zdrojové populácie, ktoré reprezentujú genetické zdroje v prirodzenej genetickej štruktúre (napr. uznané porasty, rezervácie), prípadne zdroje po ich iniciálnej selekcii,

— šľachtiteľské populácie, reprezentujú populácie odvodené z prirodzených populácií a sú zamerané na vlastné šľachtenie, testovanie potomstiev a tvorbu nových jednotiek novošľachtením,

— produkčné populácie sú zamerané na produkciu vyšľachteného materiálu (ako napr. semenné sady pri generatívnom rozmnožovaní alebo matečnice pri vegetatívnom rozmnožovaní a pod.).

2. Vzťah medzi tromi základnými činnosťami a základnými typmi populácií v šľachtiteľských programoch — Relation between three principal activities and three principal types of populations in breeding programmes



Šľachtiteľské a produkčné populácie majú obyčajne (okrem výnimiek) v porovnaní s prirodzenými populáciami zmenšenú genetickú premenlivosť. Jednu z výnimiek môže predstavovať novošľachtenie (hybridizácia) pred následnou selekciou, t. j. prípad, kedy je výsledkom šľachtenia zväčšenie genetickej premenlivosti šľachtiteľskej populácie.

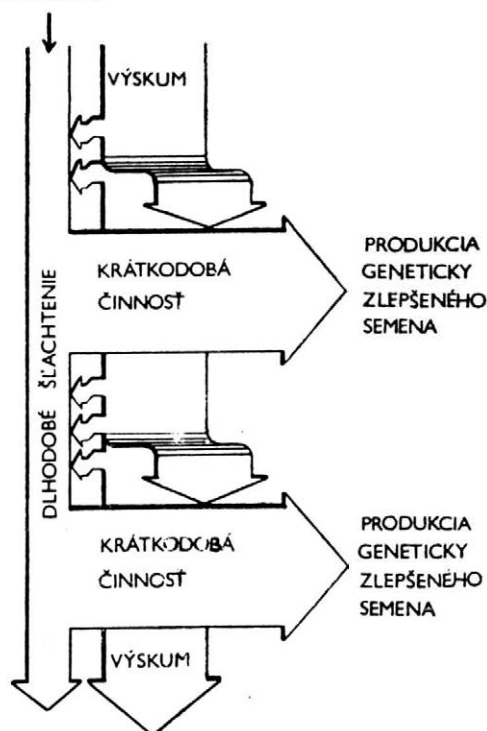
V jednoduchých šľachtiteľských programoch sa v minulosti často neuvažovalo so šľachtiteľskými populáciami, ale zo zdrojových populácií boli priamo odvodené produkčné populácie, ktoré predstavovali ich časť (napr. semenné sady založené z výberových stromov pre danú semenársku oblasť) bez medzistupňov zahrňujúcich vlastné šľachtenie a testovanie. O malej efektívnosti takýchto programov nie je potrebné sa bližšie zmieňovať. Takéto programy nerátajú s využitím šľachtiteľských populácií zahrňujúcich testovanie voľnoopelených, alebo kontrolovaných potomstiev a ich následnej selekcie a genetický zisk vyplývajúci z týchto programov je pomerne malý. Sú však vhodným medzistupňom v počiatočných fázach tvorby rozsiahlejších šľachtiteľských programov.

Z funkčného hľadiska (obr. 2) rozdeľujeme šľachtiteľské programy na súbor krátkodobých činností (napr. produkcia semena v jednotlivých obdobiach činnosti šľachtiteľského programu), dlhodobé šľachtenie (súbor činností zameraných na vlastné šľachtenie a testovanie šľachteného materiálu) a podporný výskum (dodatkový výskum zameraný na odhady genetických parametrov šľachtiteľských populácií a zvyšovanie efektívnosti šľachtenia) (Gullberg a Kang, 1985a) (obr. 3).

Z hľadiska fyzického zdrojové, produkčné a šľachtiteľské populácie nemôžu byť totožné a len výnimočne možno kumulovať ich funkciu. Tak napríklad klonový archív nemôže spĺňať funkciu testovacej výsadby a súčasne byť náhradou za semenný sad.

FORMULÁCIA CIEĽA ŠLACHTITEĽSKÉHO PROGRAMU

Cieľ šľachtiteľského programu môže byť rôzny a závisí predovšetkým od dreviny a nadväzujúcich požiadaviek na produkciu (kvalitu a kvantitu) drevnej hmoty alebo iných produktov. Vzhľadom na to, že produkčné obdobie vyšľachteného materiálu je dosť časovo vzdialené, je potrebné, aby cieľ šľachtenia bol vždy formulovaný na prognostickom základe a zohľadňoval potenciálne požiadavky na kvantitatívnu a kvalitatívnu stránku drevnej produkcie, odolnosť drevín a stabilitu ekosystémov a požiadavky na iné produkty.



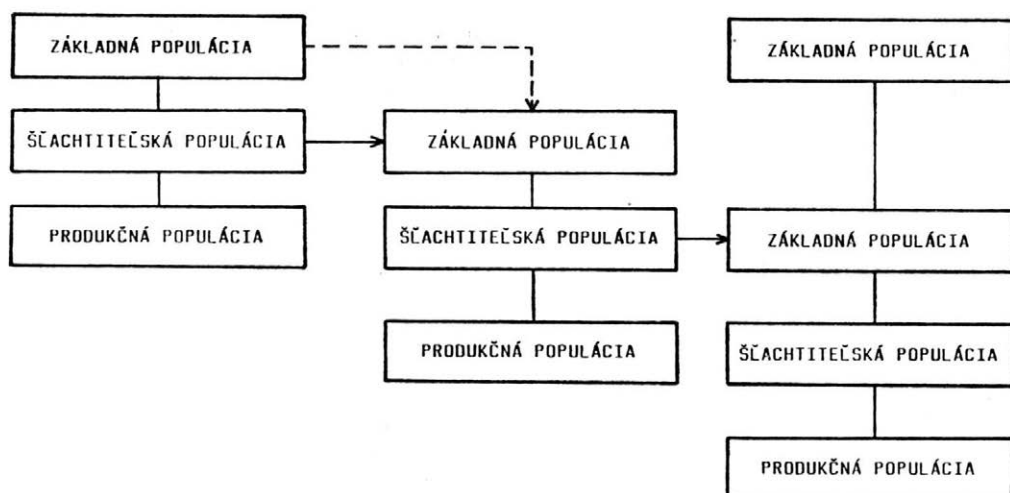
3. Vzťahy medzi dlhodobým šľachtením, krátkodobou činnosťou a podporným výskumom v šľachtiteľských programoch — Relation between long-term breeding, short-term activities and supporting research in breeding programmes (Gullberg a Kang, 1985)

Medzi bežné ciele šľachtenia lesných drevín môžeme v podmienkach strednej Európy zaradiť zvýšenie kvantít a kvality produkcie, zvýšenie rýchlosti rastu (skrátene produkčnej, respektíve rubnej doby), zvýšenie odolnosti lesných drevín proti biotickým a abiotickým činiteľom, prípadne produkcia vedľajších produktov lesa (živica a jej komponenty, plody a pod.).

Formulácia cieľa šľachtiteľského programu v neposlednom rade závisí od podmienok prostredia, v ktorých má byť šľachtený materiál použitý, a ich homogenity. Všeobecné šľachtiteľské ciele platné pre celé územie ČSSR môžu byť rozpracované detailnejšie pre jednotlivé šľachtiteľské oblasti, a teda aj rôzne modifikované. Ak šľachtiteľské ciele súčasne zahrnujú dva až tri základné ciele (kvantita produkcie, kvalita produkcie, odolnosť proti jednotlivým faktorom biotickej a abiotickej povahy), potom sa pri detailnejšom rozpracovaní cieľov pre jednotlivé šľachtiteľské oblasti tieto budú vyznačovať rôznou váhou (proporciou) základných cieľov šľachtenia.

VÝBER ZDROJOVÝCH POPULÁCIÍ

Za zdrojové populácie šľachtiteľských programov môžeme v našich podmienkach považovať uznané porasty kategórie A (na Slovensku kategórie IIA), súbor výberových stromov, klonové archívy, prípadne importovaný materiál. Rozpracovanie jednotlivých šľachtiteľských programov predpokladá definovať zdrojové a šľachtiteľské populácie pre každý šľachtiteľský program, ale nevylučuje využívať niektoré zdrojové popu-



4. Refazenie a možná vzájomná návaznosť jednotlivých typov populácií v rámci naväzujúcich sa šľachtiteľských programov — Chaining and possible linkage of individual types of populations within the linked breeding programmes

lácie alebo ich časti (napríklad niektoré výberové stromy) ako spoločné pre viaceré šľachtiteľské programy. Pri rozpracovaných šľachtiteľských programoch môžeme za zdrojové populácie rovnako považovať výsledok jednej etapy alebo časového úseku šľachtenia (ako napríklad potomstvá z kontrolovaného alebo voľného opelenia vybraných klonov zo semeného sadu) a z nej odvíjať ďalšiu etapu šľachtenia (obr. 4).

Takéto refazenie jednotlivých etáp šľachtiteľských programov predpokladá jednak širokú experimentálnu bázu, ale hlavne dôslednú evidenciu vstupov a výstupov jednotlivých zdrojových a šľachtiteľských populácií. Dôsledná evidencia je predpokladom úspešného testovania šľachteného materiálu v rôznych časových etapách šľachtiteľského programu, ale taktiež možnosti refazenia jednotlivých zložiek šľachtiteľského programu využívajúceho rovnaké zdrojové populácie alebo ich časti (napríklad klony, potomstvá).

FORMULÁCIA ŠLAČHTITEĽSKÝCH POPULÁCIÍ

Šľachtiteľské populácie nie sú vopred definované, ale vyplývajú zo štruktúry šľachtiteľského programu. Jednotlivé šľachtiteľské populácie môžu predstavovať:

- populácie, v ktorých sa uskutočňuje šľachtenie (hybridizačné pokusy, kontrolované kríženie, voľné opelenie a i.)
- testovanie výsadby (provenienčné pokusy, klonové pokusy, testy potomstiev a i.).

Veľkosť a rozsah šľachtiteľských populácií závisí hlavne od rozsahu šľachtiteľského programu a šľachtiteľského cieľa. V niektorých prípadoch môže sa vlastné šľachtenie uskutočniť v zdrojových populáciách (hybridizácia a kontrolované kríženie sa môže uskutočniť v klonových

archívoch) a náplňou šľachtiteľských populácií bude potom len vlastné testovanie šľachteného materiálu.

Cieľom testovacích výsadiieb je kontrola reakcie genotypu v nových podmienkach prostredia, ktorá je dôležitá najmä pre:

- odhady genetických parametrov šľachtiteľských populácií
- stanovenie odhadu interakcií genotyp $\times$ prostredie
- definovanie šľachtiteľských oblastí (t. j. oblastí v ktorých má byť šľachtený materiál použitý).

Veľkosť šľachtiteľských populácií a testovaných výsadiieb (počet prvkov, počet opakovaní na ploche, počet plôch) je v podstate funkciou premenlivosti prvkov (odsevy, proveniencie, klony) šľachtiteľskej populácie a premenlivosti (homogenity) šľachtiteľskej oblasti. Čím sú podmienky v šľachtiteľskej oblasti heterogénnejšie, tým na väčšom počte testovacích plôch musí byť šľachtený materiál testovaný a naopak. Čím je testovaný šľachtený materiál heterogénnejší, tým viac prvkov musí byť zahrnutých v pokuse. Čím sú testovacie plochy heterogénnejšie, tým musia mať väčší počet opakovaní a komplikovanejší design.

Testovanie výsadby považujeme v rámci šľachtiteľských programov za jedny z finančne nákladnejších zložiek. Preto optimálna veľkosť testovacej výsadby s ohľadom na počet prvkov a opakovaní v rámci plochy a počet plôch je považovaná za optimalizačný problém, ktorý je funkciou zisku informačnej hodnoty a nákladov na založenie testovacej výsadby, a preto je vždy potrebné k riešeniu problému pristupovať z tohto hľadiska. Teoretické rozpracovanie tohto problému publikoval v poslednom období Lindgren (1985).

PODPORNÝ VÝSKUM

V úvode tejto práce sme uviedli, že prvé obdobie šľachtenia lesných drevín do započatia tvorby rozsiahlejších šľachtiteľských programov bolo venované výskumu premenlivosti a dedičnej podmienenosti mnohých znakov u hlavných hospodársky významných drevín. Konceptiu základného genetického výskumu ako predpokladu šľachtenia lesných drevín súborne koncipoval pred viac než dvadsiatimi rokmi Kantor (1965). Dodnes nám však chýba množstvo informácií o genetických parametroch populácií lesných drevín, o biológii rozmnožovania populačno-genetických aspektoch šľachtenia a pod. Všetky doteraz nevyriešené otázky sa stanú subjektom podporného výskumu, ktorý by mal byť doplnený o rozpracovanie technológií rozmnožovania nepohlavnou cestou (autovegetatívne rozmnožovanie, *in vitro* kultúry a pod.).

Medzi základné smery v rámci podporného výskumu pre šľachtiteľské programy môžeme zaradiť:

- štúdium geografickej premenlivosti prirodzených populácií
- štúdium premenlivosti lokálnych populácií (autochtónnych i allochtónnych) a premenlivosti potomstiev v rámci populácií
- biológiu a indukciu kvitnutia
- vlastnosti dreva, ich premenlivosť a genetickú podmienenosť
- fenotypové a genotypové korelácie medzi znakmi
- výskum všeobecnej a špecifickej kombinačnej schopnosti
- korelácie medzi prejavom znakov v mladosti a dospelosti
- interakcie genotyp $\times$ prostredie

- vplyv inbrídingu
- syntetické (multiklonálne) variety a ich produkcia
- technológia autovegetatívneho rozmnožovania kultúr *in vitro*.

PRODUKČNÉ ROZMNOŽOVANIE

Všetky informácie o štruktúre a vlastnostiach šľachtiteľských populácií, ako aj vlastné výsledky šľachtenia, by boli málo platné, ak by nebola v šľachtiteľských programoch vyriešená kľúčová otázka — rozmnožovanie vyšľachteného materiálu. Rozmnožovanie vyšľachteného materiálu musí byť možné v ekonomicky výhodných cenových reláciách a vo veľkom množstve.

Produkčné rozmnožovanie sa môže uskutočniť buď v semenných sadoch (produkcia semena) ako voľnoopelené potomstvá konečného počtu klonov, alebo ako potomstvá z kontrolovaného kríženia s následným uplatnením autovegetatívneho rozmnožovania. Najmä vegetatívne rozmnožovanie je považované v šľachtiteľských programoch za veľmi efektívnu cestu produkčného rozmnožovania, pretože zabezpečuje prenos celej genetickej informácie od darcu (donora) na potomstvo. Z tohto dôvodu sa autovegetatívne rozmnožovanie používa vždy ako konečný prvok šľachtiteľských programov alebo ich etáp. Umožní sa tým namnoženie geneticky identických potomstiev vo veľkom množstve a pomerne v krátkom čase.

Autovegetatívne a heterovegetatívne rozmnožovanie často môžeme v šľachtiteľských programoch uplatňovať tiež na znásobenie selektovanej časti šľachtiteľskej populácie pre založenie testovacích výsadiieb. Celkom výnimočne používame autovegetatívne rozmnožovanie ako prvý krok šľachtiteľského programu, a to hlavne tam, kde nie je možné pre vysoký vek materských stromov, poruchy v plodnosti, malú veľkosť zdrojových populácií (zbytky pôvodných porastov s podlimitnou veľkosťou) počítať s generatívne namnoženými potomstvami (voľnoopelené potomstvá budú mať na malý rozsah populácií vysoký stupeň genetickej záťaže). Podrobnejší rozbor problematiky je uvedený v práci Paule, 1987.

Vo všeobecnosti vyššie náklady na produkciu sadbového materiálu autovegetatívnym rozmnožovaním sa musia kompenzovať realizovaným genetickým ziskom. To isté platí aj pre aplikáciu *in vitro* kultúr (orgánové, pletivové alebo bunčné kultúry), ako súčasti šľachtiteľských programov, ktoré sa v porovnaní s autovegetatívnym rozmnožovaním vyznačujú ešte vyššou rýchlosťou rozmnožovania. V súčasnom období je táto metóda pomerne nákladná a je sprevádzaná mnohými problémami technologického charakteru.

ŠLACHTITEĽSKÉ STRATÉGIE

Za šľachtiteľské stratégie považujeme systém šľachtiteľských programov rozvrhnutý na niekoľko produkčných generácií a zahrňujúci súbor šľachtiteľských programov danej dreviny. Šľachtiteľské stratégie sú zamerané na riešenie koncepčne zameraných otázok šľachtenia určitej dreviny, ktoré nemôžu byť subjektom jedného šľachtiteľského programu, napríklad šľachtiteľská stratégia pre smrek bude zahrňovať všetky šľachtiteľské (semenárske) oblasti a väčšinu šľachtiteľských cieľov tak, aby zodpovedala globálnym potrebám použitia šľachteného materiálu. Z hľa-

diska tvorby šľachtiteľských programov považujeme šľachtiteľskú stratégiu za nadradenú úroveň, ktorá by mala riešiť koncepčné otázky šľachtienia danej dreviny a z nej by sa mali odvodzovať jednotlivé šľachtiteľské programy. Mala by v plnej miere korešpondovať s koncepčnými otázkami rozvoja lesného hospodárstva a byť postavená na prognostických základoch.

EKONOMICKÉ ASPEKTY ŠĽACHTITEĽSKÝCH PROGRAMOV

S dlhodobým plánovaním šľachtiteľských programov (obyčajne 20 až 30 rokov) bezprostredne súvisí rad ekonomických otázok týkajúcich sa hlavne započatia a prevádzky šľachtiteľského programu až po jeho realizáciu, t. j. produkciu šľachteného materiálu.

V tomto smere by mal každý šľachtiteľský program mať z ekonomického hľadiska všetky náležitosti projektu, vrátane jeho technickej, realizačnej a rozpočtovej časti, ktoré by zaručovali jeho realizáciu a finančné krytie počas celého obdobia trvania projektu šľachtiteľského programu.

Nákladová časť šľachtiteľského programu musí zahŕňať:

- náklady na iniciálnu selekciu zdrojových populácií, prípadne na založenie a prevádzku odvodených zdrojových populácií (t. j. klonových archívov),

- náklady na založenie a opakované náklady na prevádzku a vyhodnocovanie šľachtiteľských populácií (vrátane vlastného šľachtienia),

- náklady na založenie a prevádzku produkčných populácií,
- časť podporného výskumu týkajúca sa daného šľachtiteľského programu,

- vlastné množenie a produkcia šľachteného materiálu,

ako aj všetky ďalšie náklady bezprostredne súvisiace so šľachtiteľským programom.

Hodnotenie ekonomickej efektívnosti musí byť naopak založené na odhade genetického zisku a realizovaného genetického zisku cez produkciu šľachteného materiálu. Aj keď nateraz pre mnohé dreviny a šľachtiteľské ciele tieto odhady chýbajú, bude nutné pre každý šľachtiteľský cieľ urobiť expertné odhady genetického zisku vyplývajúce z analogických podmienok a šľachteného materiálu.

ZÁVER

Šľachtenie lesných drevín považujeme v poslednom období za mimoriadne efektívnu cestu zabezpečenia narastajúcich požiadaviek na drevnú hmotu, odolnosť lesných drevín a ich ekosystémov.

Z hľadiska tvorby šľachtiteľských programov a šľachtiteľských stratégií sa do popredia dostávajú otázky koncepčnosti a dlhodobosti plánovania v šľachtení lesných drevín a hodnotenia ekonomickej efektívnosti šľachtienia a šľachtiteľských programov.

V práci sú rozpracované niektoré otázky teoretické štruktúry a tvorby šľachtiteľských programov. V súvislosti s tvorbou konkrétnych šľachtiteľských

teľských programov je potrebné upriamiť pozornosť na otázky záchrany, reprodukcie a využitia genofondu lesných drevín, najmä cenných čiastkových populácií, ktoré by počas nasledujúcich desaťročí mali slúžiť ako zdrojové populácie pre šľachtiteľské programy.

Literatúra

- CARLISLE, A. — TEICH, A. H.: The costs and benefits of tree improvement programs. *Can. For. Serv.* 1302, 1971, s. 1-34.
- COTERILL, P. P.: A plan for breeding of radiata pine. *Silvae Genet.* 33, 1984, s. 84-90.
- COTERILL, P. P.: On index selection. II. Simple indices which require no genetic parameters or special expertise to construct. *Silvae Genet.* 34, 1985, s. 64-69.
- COTERILL, P. P. — JACKSON, N.: On index selection. I. Methods of determining economic weight. *Silvae Genet.* 34, 1985, s. 56-63.
- COTERILL, P. P. — JAMES, J. W.: Number of offspring and plot sizes required for progeny testing. *Silvae Genet.* 33, 1984, s. 203-209.
- GULLBERG, U. — KANG, H.: A model for tree breeding. *Stud. For. suecica* 169, 1985a, s. 1-8.
- GULLBERG, U. — KANG, H.: Application of a model for tree breeding to conifers in Southern Sweden. *Stud. For. suecica* 170, 1985b, s. 1-8.
- GREGUSS, L.: Šľachtiteľský program zvýšenia odolnosti jedle hybridizáciou. In: 7. celoštátna semenársko-šľachtiteľská konferencia. Žilina, Dôm techniky, 1986, s. 34-41.
- KANTOR, J.: Základní schema metodického postupu při šlechtění lesních dřevin. In: Sborník VŠZ v Brně, 34, Řada C — spisy fakulty lesnické, 1965, s. 161-164.
- LIBBY, W. J.: Domestication strategies for forest trees. *Can. J. For. Res.* 3, 1973, s. 265-276.
- LINDGREN, D.: Cost-efficient number of test sites for ranking entries in field trials. *Biometrics* 41.
- LINDGREN, D. (ed.): Nine hypothetical breeding plans. Documentation from a course on forest tree breeding focusing on clonal forestry and planning. Umeå, SLU, 1986, 97 s.
- ONDRUŠKOVÁ, A.: Návrh šľachtiteľského programu na využitie trenčianskeho smrekovca. [Záverečná práca PGŠ.] Zvolen, Lesnícka fakulta VŠLD 1986. 36 s.
- PAULE, L.: Návrh a zameranie činnosti semenársko-šľachtiteľského závodu v oblasti genetiky a šľachtenia lesných drevín (šľachtiteľské centrum Jochy). Žilina, SeŠL, 1986a, 13 s.
- PAULE, L.: Šľachtiteľské programy a stratégie ako cesta zabezpečenia časovej návaznosti v šľachtení lesných drevín. In: 7. celoštátna semenársko-šľachtiteľská konferencia. Žilina, Dom techniky, 1986b, s. 14-25.
- PAULE, L.: Úloha autovegetatívneho rozmnožovania pri záchrane genofondu a v šľachtení lesných drevín. *Lesnictví* 33, 1987, s. 491-500.
- ROULUND, H.: Problems of clonal forestry in Spruce and influence on breeding strategy. *For. Abstr.* 42, 1981, s. 457-471.
- SINDELÁŘ, J.: Projekt šlechtění a autovegetativního množení smrku ztepilého řízkováním pro praktické potřeby Východočeských státních lesů. Subalpínský smrk Krkonoš a Jizerských hor. *VÚLHM, Jiloviště-Strnady*, 1977, 29 s.

Došlo dňa 16. 3. 1988

ПАУЛЕ, Л. (Лесной факультет Института лесного хозяйства и деревообработки, Зволлен): Селекционные программы и селекционная стратегия лесных древесных пород. *Лесnictví*, 34, 1988 (8) : 695-704.

В статье рассматривается группа основополагающих теоретических вопросов, касающихся разработки селекционных программ для лесных древесных пород. В отличие от сельскохозяйственных растений, лесные древесные породы в селекции представлены единичными случаями, поскольку это всегда связано с многолетними организмами, у которых очень отдаленные во времени репродукционный и продукционный периоды.

Работа посвящена анализу основополагающих компонентов селекционных программ и их временной последовательности, а также оценке экономической эффективности собственно селекции лесных древесных пород и селекционных программ.

селекционные программы; селекционная стратегия; селекция лесных древесных пород

PAULE, L. (Lesnícka fakulta VŠLD, Zvolen): *Breeding Programmes and Breeding Strategies in Forest Tree Species*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 695-704.

A complex of basic theoretical questions concerning the formulation of breeding programmes in forest tree species is given. As compared with the agricultural crops, the forest tree species are unique in view of breeding activities because forest tree species are long-aged organisms with the remote production and reproduction periods. The analysis of principal components of breeding programmes and their time linkage as well as the estimation of economic effectiveness of forest tree breeding and breeding programmes are discussed.

forest tree breeding; breeding programmes; breeding strategies

PAULE, L. (Lesnícka fakulta VŠLD, Zvolen): *Züchtungsprogramme und züchterische Strategien bei Waldbaumarten*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 695-704..

In der Arbeit werden einige theoretische Grundfragen untersucht, die die Bildung von Züchtungsprogrammen bei Waldbaumarten betreffen. Zum Unterschied von landwirtschaftlichen Pflanzen stellen Waldbaumarten in der Züchtung einen einzigartigen Fall dar, weil es sich im Falle von Waldbaumarten stets um langlebige Organismen mit einer langfristigen Reproduktions- und Produktionszeit handelt. Die Arbeit ist der Analyse grundlegender Komponenten der Züchtungsprogramme und ihrer zeitlichen Ankoppelung, als auch der Einschätzung der ökonomischen Effektivität der eigentlichen Züchtung von Waldbaumarten und der Züchtungsprogramme gewidmet.

Züchtung der Waldbaumarten; Züchtungsprogramme; züchterische Strategien

Adresa autora:

Doc. Ing. Ladislav Paule, CSc., Lesnícka fakulta VŠLD, 960 53 Zvolen

ROZMNOŽOVÁNÍ LÍPY (*TILIA CORDATA* MILL.), AKÁTU (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.) A JEŘÁBU (*SORBUS AUCUPARIA* L.) *IN VITRO* A RŮST STROMŮ VYPĚSTOVANÝCH *IN VITRO*

V. Chalupa

CHALUPA, V. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady): Rozmnožování lípy (*Tilia cordata* Mill.), akátu (*Robinia pseudoacacia* L.) a jeřábu (*Sorbus aucuparia* L.) *in vitro* a růst stromů vypěstovaných *in vitro*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 705-720.

Rychlé vegetativní množení lípy, akátu a jeřábu *in vitro* bylo dosaženo pomocí orgánových kultur pěstovaných na MS médiu obsahujícím cytokinin a auxin. Z testovaných cytokininů stimuloval proliferaci prýtů zejména 6-benzylaminopurin (BAP) a thidiazuron. Růst a proliferace prýtů byla stimulována na médiích obsahujících nižší koncentrace BAP (0,2 až 1 mg.l⁻¹). Thidiazuron se ukázal jako velmi účinný cytokinin, působící již ve velmi nízkých koncentracích (0,005 až 0,05 mg.l⁻¹). Růst a proliferace prýtů byla značně stimulována na médiích obsahujících směs obou cytokininů. Zakořeňování prýtů bylo prováděno na minerálně chudších médiích obsahujících nízké koncentrace auxinů (IBA a NAA 0,1 až 0,3 mg.l⁻¹). Bylo dosaženo vysokého procenta kořenění u všech tří druhů dřevin. Růst stromů vypěstovaných *in vitro* probíhal normálně. Ztráty v prvním zimním období i v následujících letech byly minimální. Na konci pátého vegetačního období dosáhly stromy značných rozměrů a některé z nich i kvetly a vytvořily klíčivá semena.

listnaté stromy; vegetativní množení *in vitro*; cytokininy; thidiazuron

Metoda explantátových kultur umožňuje v krátké době rozmnožit rostliny s žádanými genetickými vlastnostmi na velký počet exemplářů. I u některých druhů listnatých dřevin se již podařilo dosáhnout rychlého množení stromů pomocí explantátových kultur (Chalupa, 1979, 1981, 1983, 1984, 1985, 1987; Bonga a Durzan, 1982, 1987). Předností metody explantátových kultur je, že k rozmnožení žádaného exempláře je zapotřebí jen malý explantát, a že během krátkého časového období lze původní explantát rozmnožit na velký počet exemplářů. Úspěšné zvládnutí pěstování kultur *in vitro* je rovněž základním předpokladem pro možnost přikročit k náročnějším pracím, zejména ke genovým manipulacím a k vytváření transgenních stromů.

V této práci je popsáno pěstování explantátů lípy, akátu a jeřábu *in vitro* a jsou uvedeny rychlé způsoby množení těchto druhů dřevin *in vitro*. Zároveň jsou uvedeny výsledky získané o růstu stromů vypěstovaných *in vitro* rostoucích na venkovních pokusných plochách.

MATERIÁL A METODY

Jako výchozí materiál pro založení kultur byly použity explantáty odebrané buď ze semenáčků nebo z dospělých stromů. Při rozmnožování dospělých stromů byly použity buď prýty vypěstované z kořenových segmentů, nebo byly použity kořenové výmladky nebo výmladky z kořenového nákrčí případně i prýty odebrané z nízko položených větví koruny. Pro založení kultur byly obvykle použity aktivně

rostoucí prýty, které byly nejprve odlistěny a poté rozřezány na krátké nodální segmenty obsahující jeden až dva axilární pupeny. Nodální segmenty a vrcholky prýtů byly sterilizovány v roztoku chloridu rtuťnatého (0,1 až 0,2 %) po dobu 20 až 45 minut. Po sterilizaci v HgCl_2 byly segmenty několikrát omyty ve sterilní destilované vodě a byly vysázeny na agarové živné médium. Kultury byly pasážovány po čtyřech až pěti týdnech.

Kultury byly pěstovány jednak v klimatizačních růstových komorách Conviron za kontrolovaných vnějších podmínek při teplotě 25 °C (ve dne) a 20 °C (v noci), při 16hodinovém osvětlení, při intenzitě osvětlení 5 až 10 kiloluxů. Zároveň byly kultury pěstovány v klimatizované místnosti při konstantní teplotě 25 °C, za nepřetržitého osvětlení, při intenzitě osvětlení 4 až 10 kiloluxů.

Kultury byly pěstovány na agarových živných médiích různého chemického složení. Pro pěstování kultur bylo použito GD médium, BTM, WPM a MS médium (složení použitých živných médií bylo uvedeno dříve — Chalupa, 1983, 1984, 1985). Pro zakořeňování prýtů byla použita živná média s nízkým obsahem minerálních látek (GD médium, BTM, WPM). Živná média byla zpevněna pomocí Difco Bacto agaru v koncentraci 6 až 7 g.l⁻¹. Jako zdroj uhlíku v médiích byla použita sacharóza (20 až 30 g.l⁻¹). Živná média byla sterilizována autoklávováním při teplotě 121 °C po dobu 20 minut.

Do živných médií byly přidávány regulátory růstu stimulující růst a množení kultur. Pro skupiny cytokininů byl testován zejména účinek 6-benzylaminopurinu — BAP [N-phenylmethyl]-1H-purin-6-amine] a rovněž účinek thidiazuronu (N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea). BAP byl testován v koncentracích 0,1 až 10 mg.l⁻¹, thidiazuron v koncentracích 0,001 až 1 mg.l⁻¹. Ze skupiny auxinů byla používána kyselina naftyloctová (NAA) a kyselina indolylmáslná (IBA). Pro každý experiment bylo použito 35 až 40 baněk s explantáty a každý experiment byl alespoň dvakrát opakován.

Prýty zakořeňené v živném médiu byly přesazeny do květináčů nebo kontejnerů obsahujících nesterilní substrát (směs rašeliny a agroperritu 1:1 v/v). Po přesazení z agaru do substrátu byly pěstovány dva až tři týdny za vysoké vzdušné vlhkosti (90 až 100%). Vysoká vzdušná vlhkost byla postupně snižována až na normální hodnoty okolního vzduchu. Po několikátýdenním pěstování sazenic za venkovních podmínek na stíněném místě byly stromky vysazeny na venkovní plochy, kde byl sledován jejich další růst.

VÝSLEDKY

ROZMNOŽOVÁNÍ LÍPY (*TILIA CORDATA* MILL.) *IN VITRO*

Množení prýtů *in vitro*

Z testovaných živných médií (GD, BTM, WPM, MS) byl rychlý růst a proliferace prýtů lípy nejlépe stimulována na MS médiu. Po umístění nodálních segmentů a vrcholků prýtů na toto živné médium se u nich vytvořily z axilárních pupenů nové prýty, které se během čtyř až pěti týdnů prodloužily. Tyto nově vytvořené prýty byly odříznuty, rozděleny na několik nodálních segmentů, které byly přesazeny na čerstvé živné médium, kde jejich proliferace pokračovala. Rychlé množení prýtů bylo dosaženo zejména na MS médiu, které obsahovalo nízké koncentrace cytokininu a auxinu.

Růst a vývoj kultur byl značně ovlivněn použitým druhem cytokininu a jeho koncentrací v živném médiu. Podrobněji jsme zjišťovali vliv různé koncentrace BAP a thidiazuronu na růst a množení prýtů lípy. Jak je zřejmé z tab. I, stimulovaly nízké koncentrace BAP (0,2 až 1 mg.l⁻¹), růst, množení a prodlužování prýtů. Počet prýtů vytvořených na živných médiích obsahujících BAP (za současné přítomnosti IBA 0,1 mg.l⁻¹ v médiu) byl významně vyšší, než na živném médiu neobsahujícím cytokinin. Se stoupající koncentrací BAP (0,2 až 1 mg.l⁻¹) v živném mé-



1.

1. Množící se prýty lípy pěstované na MS médiu obsahující BAP $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Tilia cordata* formed on MS medium supplemented with BAP $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$

2. Množící se prýty lípy pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Tilia cordata* produced on MS medium supplemented with thidiazuron $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$

3. Množící se prýty lípy pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$, BAP $0,4 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Tilia cordata* formed on MS medium supplemented with thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$, BAP $0,4 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$



2.



3.

diu, stoupal i počet vytvořených prýtů, avšak jejich výška klesala. Prýty pěstované na živném médiu obsahující vysokou koncentraci BAP (4 mg.l^{-1}) byly krátké a méně četné.

Významný vliv na vytváření nových prýtů z axilárních pupenů měl u lípy cytokinin thidiazuron. Tento cytokinin stimuloval vytváření čet-

I. Vliv BAP a thidiazuronu na vytváření prýtů u lípy *Tilia cordata* Mill. (počet prýtů vytvořených u explantátů po osmitýdenním pěstování na MS mediu obsahujícím IBA 0,1 mg.l⁻¹) — The effect of BAP and thidiazuron on shoot formation in small-leaved linden (*Tilia cordata* Mill.) (the number of shoots formed on the explants after eight weeks of cultivation on MS medium containing 0.1 mg.l⁻¹ IBA)

BAP [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]	Thidiazuron [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]
0,0	1,3 ± 0,8	1,7 ± 0,4	0,000	1,3 ± 0,8	1,7 ± 0,4
0,2	4,7 ± 2,2	2,3 ± 0,5	0,005	9,5 ± 3,2	1,4 ± 0,4
0,6	6,1 ± 2,4	2,5 ± 0,6	0,010	15,2 ± 6,4	1,2 ± 0,4
1,0	7,3 ± 2,5	2,2 ± 0,5	0,020	16,9 ± 7,3	1,1 ± 0,3
4,0	5,4 ± 2,3	1,6 ± 0,4	0,050	13,3 ± 5,6	0,7 ± 0,3

⁺ vypočteno z 24 měření

ných nových prýtů již při velmi nízkých koncentracích (0,005 až 0,05 mg.l⁻¹). U kultur lípy, které byly pěstovány na živných médiích obsahujících thidiazuron v nižších koncentracích, byl vytvářen velký počet axilárních prýtů, významně vyšší, než na živných médiích obsahujících BAP (tab. I). Prýty vytvořené na médiích obsahujících thidiazuron byly krátké a jejich prodlužování probíhalo pomalu. Rovněž listy byly významně menší na médiích s thidiazuronem, než na médiích obsahujících BAP. Zatímco thidiazuron v nízkých koncentracích (0,005 až 0,05 mg.l⁻¹) významně stimuloval vytváření četných axilárních prýtů, ve vyšších koncentracích (0,1 až 1 mg.l⁻¹) inhiboval prodlužování prýtů. Při zvolení vhodné koncentrace thidiazuronu, stimuloval tento cytokinin velmi významně množení prýtů lípy a počet prýtů lípy na živných médiích obsahujících thidiazuron byl významně vyšší, než při použití BAP.

Vytváření značného počtu nových prýtů u lípy jsme dosáhli i na živných médiích, která obsahovala současně dva cytokininy, BAP a thidiazuron (za současného přidání auxinu do média). Růst a proliferace prýtů lípy byla značně stimulována na MS mediu, které obsahovalo BAP (0,2 až 0,6 mg.l⁻¹), thidiazuron (0,01 až 0,02 mg.l⁻¹) a IBA nebo NAA (0,1 až 0,2 mg.l⁻¹). Na těchto živných médiích byl vytvářen velký počet prýtů, které dosahovaly i větší délky.

Zakořeňování prýtů

Vytváření kořenů u prýtů odebraných z kultury bylo stimulováno na živných médiích obsahujících nízkou koncentrací auxinu. Vysokého procenta zakořeňování prýtů lípy jsme dosáhli na minerálně chudších živných médiích (GD, BTM, WPM), která obsahovala nízkou koncentraci auxinu (IBA nebo NAA 0,1 až 0,3 mg.l⁻¹). Velkého procenta zakořeňování (85 až 95 %) prýtů jsme dosáhli na uvedených médiích obsahujících oba auxiny v nízké koncentraci (IBA 0,2 až 0,3 mg.l⁻¹ a NAA 0,1 až 0,2 mg.l⁻¹). Kořeny se začaly vytvářet na bázi prýtů za 10 až 14 dnů po umístění prýtů do živného média.

Zakořeňované prýty byly přesazeny do kontejnerů obsahujících nesterilní substrát a byly po dva až tři týdny pěstovány za vysoké vzdušné vlhkosti. 80 až 95 % přesazených sazeniček se ujalo a pokračovalo

4. Vytváření kořenů u prýtu lípy vypěstovaného *in vitro* — Rooted plantlet of *Tilia cordata*



v růstu. Vzdušná vlhkost byla postupně snižována na normální hodnoty a po otužení byly sazeničky přemístěny do venkovních podmínek, kde byly na stíněném místě pěstovány po dva až tři měsíce.

Růst stromů vypěstovaných *in vitro*

Lípy vypěstované *in vitro* byly po otužení a několikaměsíčním pěstování na stíněném místě přeneseny s kontejnery na venkovní pokusnou plochu, kde byly s balem vysazeny do připravených jamek. Ztráty na sazenicích byly minimální. Všechny sazenice se ujaly a během prvního zimního období nedošlo k úhynu žádné sazenice. Vzhledem k malým rozměrům sazenic, byly přírůstky v prvním vegetačním období malé. V dalších letech růst probíhal normálně a sazenice přirůstaly podobně jako sazenice vypěstované ze semen. U stromků vypěstovaných *in vitro* nebyly pozorovány žádné růstové a morfologické abnormality.

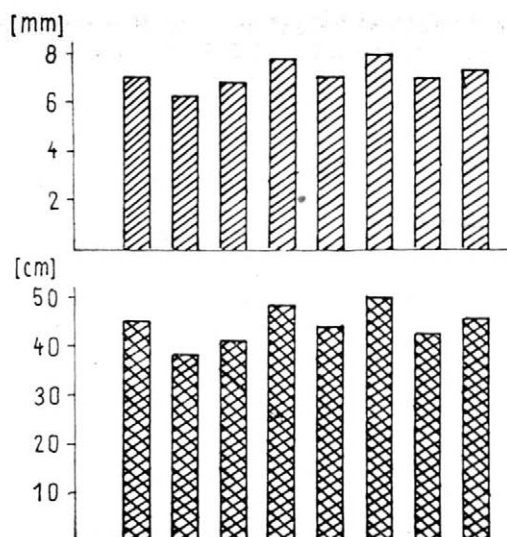
ROZMNOŽOVÁNÍ AKÁTU (*ROBINIA PSEUDOACACIA* L.) *IN VITRO*

Množení prýtů *in vitro*

Po umístění segmentů a vrcholků prýtů na agarové živné médium, začaly se u nich vytvářet během druhého týdne nové prýty, které po čtyřech až pěti týdnech dosáhly délky několika centimetrů. Nově vytvořené prýty byly odříznuty, rozděleny na nodální segmenty a přeneseny na čerstvé živné médium, kde jejich proliferace pokračovala.



5. Sazenička lípy vypěstovaná *in vitro* po přesazení do substrátu — *In vitro* propagated tree of *Tilia cordata* growing in soil



6. Difference ve výšce [cm] a v průměru kmínku [mm] stromů lípy (vypěstovaných *in vitro* z téhož mateřského stromu) na konci třetího vegetačního období — Differences in the tree height [cm] and the stem diameter [mm] of *in vitro* propagated trees of *Tilia cordata* (derived from the same mother tree) at the end of the third growing season

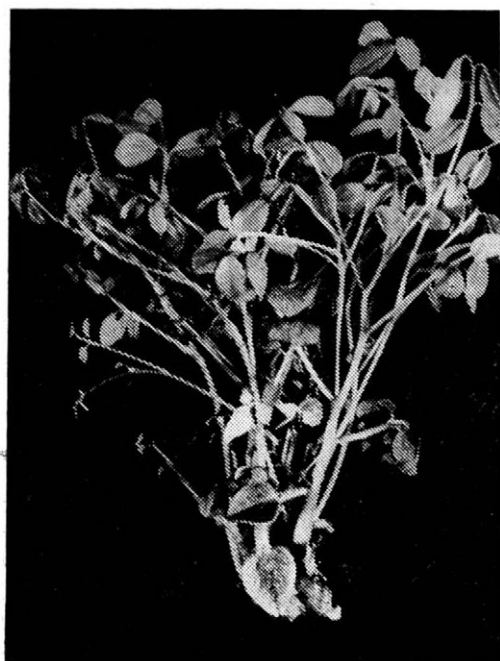
Z testovaných živných médií (GD, BTM, WPM, MS) bylo nejlepšího růstu kultur dosaženo na MS médiu, které obsahovalo nízkou koncentraci cytokininu a auxinu. Při pokusech jsme podrobněji zjišťovali vliv dvou cytokininů, BAP a thidiazuronu, na růst a množení prýtů akátu.

Počet prýtů akátu vytvořených na MS médiích obsahující nízké koncentrace BAP (0,2 až 1 mg.l⁻¹) byl významně vyšší, než na médiích neobsahujících cytokinin (tab. II). Počet vytvořených prýtů stoupal se

II. Vliv BAP a thidiazuronu na vytváření prýtů u akátu *Robinia pseudoacacia* L. (počet prýtů vytvořených u explantátů po osmítýdenním pěstování na MS médiu obsahujícím IBA 0,1 mg.l⁻¹) — The effect of BAP and thidiazuron on shoot formation in locust tree (*Robinia pseudoacacia* L.) (the number of shoots formed on the explants after eight weeks of cultivation on MS medium containing 0.1 mg.l⁻¹ IBA)

BAP [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]	Thidiazuron [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]
0,0	3,2 ± 1,8	2,4 ± 0,6	0,000	3,2 ± 1,8	2,4 ± 0,6
0,2	5,8 ± 2,2	2,5 ± 0,6	0,005	5,1 ± 2,3	2,2 ± 0,6
0,6	6,3 ± 2,3	2,3 ± 0,5	0,010	6,8 ± 2,6	2,0 ± 0,5
1,0	7,4 ± 2,6	2,1 ± 0,5	0,020	7,1 ± 3,0	1,7 ± 0,5
4,0	6,8 ± 2,5	1,7 ± 0,4	0,050	7,8 ± 2,8	1,4 ± 0,4

+ vypočteno z 24 měření



7.

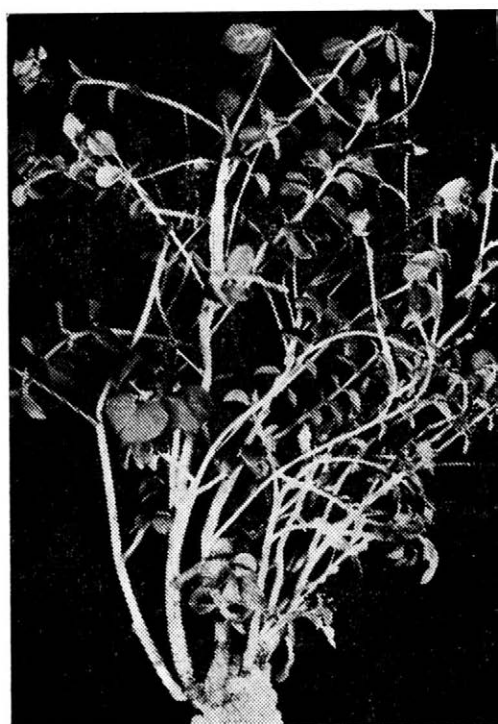
7. Množící se prýty akátu pěstované na MS médiu obsahující BAP $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Robinia pseudoacacia* formed on MS medium supplemented with BAP 0.6 mg.l^{-1} and IBA 0.1 mg.l^{-1}



8.

8. Množící se prýty akátu pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Robinia pseudoacacia* produced on MS medium supplemented with thidiazuron 0.02 mg.l^{-1} and IBA 0.1 mg.l^{-1}

9. Množící se prýty akátu pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$, BAP $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Robinia pseudoacacia* formed on MS medium supplemented with thidiazuron 0.02 mg.l^{-1} , BAP 0.2 mg.l^{-1} and IBA 0.1 mg.l^{-1}



9.

zvyšující se koncentrací BAP ($0,2$ až 1 mg.l^{-1}), jejich délka však se stoupající koncentrací klesala. Na MS médiu obsahujícím vyšší koncentraci BAP (4 mg.l^{-1}) byl počet prýtů velký, prýty však byly krátké a na bázi kultur se vytvářel velký kalus.

Thidiazuron podobně jako BAP stimuloval vytváření nových axilárních prýtů. Počet prýtů vytvořených na MS médiu obsahující thidiazuron v nízké koncentraci, byl významně vyšší, než na médiu neobsahujícím cy-

tokinin. Thidiazuron byl účinný již ve velmi nízkých koncentracích (0,005 až 0,05 mg . l⁻¹). Vysoké koncentrace thidiazuronu zpomalovaly růst prýtů, prýty byly krátké a vytvářel se velký kalus na bázi.

Proliferace prýtů akátu byla stimulována i na MS médiích obsahujících oba cytokininy, BAP a thidiazuron. Velký počet prýtů byl vytvářen na MS médiích obsahujících BAP (0,2 až 0,6 mg . l⁻¹), thidiazuron (0,005 až 0,2 mg . l⁻¹ a IBA nebo NAA (0,1 až 0,2 mg . l⁻¹).

Zakořeňování prýtů

Vytváření kořenů u prýtů odebraných z množící se kultury bylo stimulováno na médiích obsahujících nízkou koncentrací auxinu (IBA, NAA). K zakořeňování prýtů jsme použili živná média s nízkým obsahem minerálních látek (GD, BTM, WPM, poloviční nebo čtvrtinová koncentrace) obsahujících nízkou koncentraci sacharózy (5 až 10 g . l⁻¹). Vysokého procenta zakořeňování jsme dosáhli na živných médiích obsahujících nízké koncentrace auxinu (IBA 0,3 mg . l⁻¹ a NAA 0,3 mg . l⁻¹). Na těchto médiích 90 až 95 % prýtů zakořeňovalo během dvou až třech týdnů. Zakořeňované prýty byly přesazeny do nesterilního substrátu a byly pěstovány za vysoké vzdušné vlhkosti po dva až tři týdny. Většina (75 až 90 %) přesazených akátů přežila přenos z agaru do substrátu a pokračovala v růstu. Vzdušná vlhkost byla postupně snižována až na normální hodnoty. Sazenice vypěstované *in vitro* byly přesazeny do venkovních podmínek na stíněné místo, kde byly pěstovány po dva až tři měsíce.

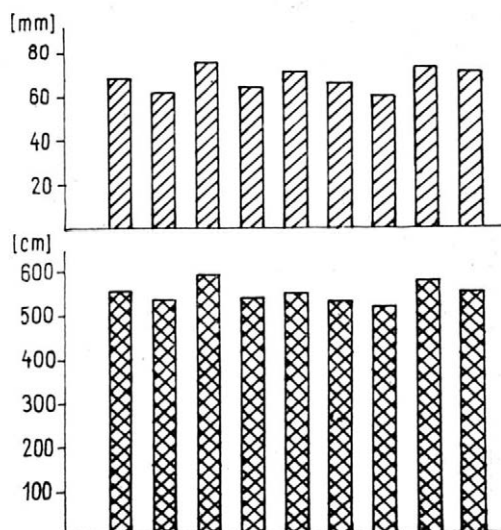


10. Vytváření kořenů u prýtu akátu vypěstovaného *in vitro* — Rooted plantlet of *Robinia pseudoacacia*

11. Stromy akátu vypěstované *in vitro*, rostoucí na pokusné ploše — *In vitro* propagated trees of *Robinia pseudoacacia*, growing in the field



12. Diference ve výšce [cm] a v průměru kmene [mm] stromů akátu (vypěstovaných *in vitro* z téhož mateřského stromu) na konci šestého vegetačního období — Differences in the tree height [cm] and the stem diameter [mm] of *in vitro* propagated trees of *Robinia pseudoacacia* (derived from the same mother tree) at the end of the sixth growing season



Růst stromů vypěstovaných *in vitro*

Sazenice akátu vypěstované *in vitro* byly na počátku léta vysazeny na venkovní pokusné plochy, kde pokračovaly v růstu. Všechny vysazené stromky se ujaly a do konce první vegetační doby dosáhly výšky ně-

kolika desítek centimetrů. Během prvního zimního období nedošlo k žádným ztrátám na vysazených sazenicích. V druhém roce stromky rychle přirůstaly a na konci druhé vegetační doby dosáhly značných rozměrů. Rovněž v dalších letech byl jejich růst rychlý a stromy vypěstované *in vitro* dosáhly během prvních pěti let růstu velkých rozměrů. Některé z těchto stromů rovněž kvetly a vytvořily klíčivá semena. Růst stromů vypěstovaných *in vitro* probíhal normálně a nebyly pozorovány žádné růstové ani morfologické abnormality.

ROZMNOŽOVÁNÍ JEŘÁBU (*SORBUS AUCUPARIA* L.) *IN VITRO*

Množení prýtů *in vitro*

Růst a proliferace aseptických kultur jeřábu byla stimulována na MS médiu obsahujícím nízkou koncentraci cytokininu a auxinu. Během čtyř až pěti týdnů se u nodálních segmentů umístěných na agarovém médiu vytvořily nové delší prýty. Tyto prýty byly odříznuty, rozřezány na nodální segmenty, které byly umístěny na čerstvé médium, kde proliferace prýtů pokračovala.

Z cytokininů významně stimuloval růst a množení prýtů jeřábu zejména BAP a thidiazuron. Vrcholky prýtů, umístěné na MS médiu které obsahovalo nízké koncentrace BAP (0,2 až 1,0 mg.l⁻¹), vytvořily během osmi týdnů značný počet prýtů, který byl významně vyšší, než počet prýtů vytvořených na médiu neobsahujícím cytokinin (tab. III). Počet prýtů stoupal se zvyšující se koncentrací BAP, jejich délka se však snižovala. Vyšší koncentrace BAP (4 mg.l⁻¹) stimulovaly vytváření axilárních prýtů, avšak tyto prýty byly velmi krátké.

Thidiazuron ovlivňoval růst a proliferaci prýtů jeřábu velmi výrazně. Již velmi nízké koncentrace thidiazuronu (0,005 až 0,05 mg.l⁻¹) stimulovaly vytváření velkého počtu axilárních prýtů, které však nedosahovaly větší délky. Vyšší koncentrace thidiazuronu (0,1 až 0,5 mg.l⁻¹) inhibovala prodlužování prýtů z indukovaných pupenů.

Vytváření velkého počtu delších prýtů bylo stimulováno na MS mé-

III. Vliv BAP a thidiazuronu na vytváření prýtů u jeřábu *Sorbus aucuparia* L. (počet prýtů vytvořených u explantátů po osmitýdenním pěstování na MS médiu obsahujícím IBA 0,1 mg.l⁻¹) — The effect of BAP and thidiazuron on shoot formation in European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) (the number of shoots formed on the explants after eight weeks of cultivation on MS medium containing 0.1 mg.l⁻¹ IBA)

BAP [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]	Thidiazuron [mg.l ⁻¹]	Počet nových prýtů ⁺	Délka prýtů ⁺ [cm]
0,0	1,4 ± 0,7	2,2 ± 0,5	0,000	1,4 ± 0,7	2,2 ± 0,5
0,2	5,3 ± 2,3	2,4 ± 0,6	0,005	7,2 ± 3,1	1,5 ± 0,5
0,6	12,7 ± 4,8	2,1 ± 0,6	0,010	10,1 ± 4,3	1,4 ± 0,4
1,0	15,4 ± 5,6	1,9 ± 0,5	0,020	15,2 ± 7,6	1,2 ± 0,4
4,0	18,3 ± 6,2	0,4 ± 0,2	0,050	14,1 ± 6,9	0,5 ± 0,3

⁺ vypočteno z 24 měření



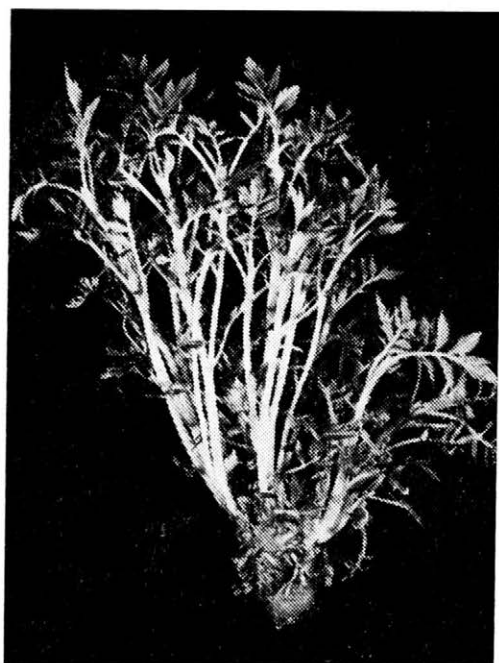
13.

13. Množící se prýty jeřábu pěstované na MS médiu obsahující BAP $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Sorbus aucuparia* formed on MS medium supplemented with BAP $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$



14.

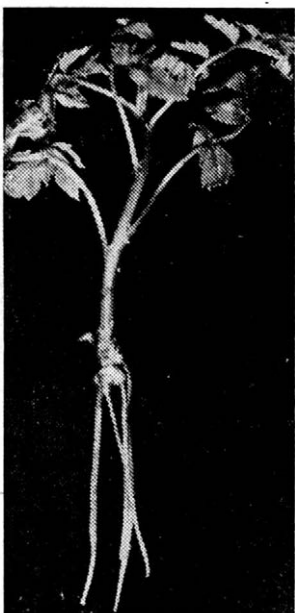
14. Množící se prýty jeřábu pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Sorbus aucuparia* produced on MS medium supplemented with thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$



15.

15. Množící se prýty jeřábu pěstované na MS médiu obsahující thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$, BAP $0,4 \text{ mg.l}^{-1}$ a IBA $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$ — Multiple shoots of *Sorbus aucuparia* formed on MS medium supplemented with thidiazuron $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$, BAP $0,4 \text{ mg.l}^{-1}$ and IBA $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$

diu, které obsahovalo oba cytokininy, BAP a thidiazuron, spolu s nízkou koncentrací auxinu. MS médium obsahující BAP ($0,2$ až $0,6 \text{ mg.l}^{-1}$), thidiazuron ($0,005$ až $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$) a IBA nebo NAA ($0,1$ až $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$) stimulovalo vytváření četných delších prýtů.



16. Vytváření kořenů u prýtu jeřábu vypěstovaného *in vitro* — Rooted plantlet of *Sorbus aucuparia*

Zakořeňování prýtů

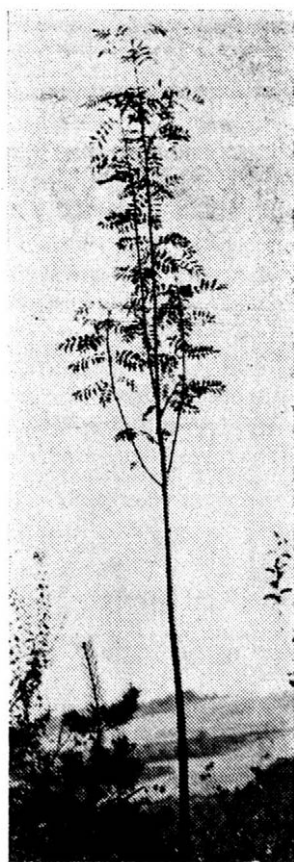
Prýty rostoucí v množící se kultuře byly odříznuty a umístěny na agarové médium, obsahující nízkou koncentraci auxinu. K zakořeňování byla použita živná média s nižším obsahem minerálních látek (GD, BTM, WPM, plná nebo poloviční koncentrace), obsahující nízkou koncentraci auxinu (NAA 0,3 mg.l⁻¹ a IBA 0,3 mg.l⁻¹). Na těchto živných médiích bylo dosaženo vysokého procenta zakořeňování prýtů (80 až 95 %). Během dvou až tří týdnů se vytvořily u prýtů kratší kořeny. Prýty s vytvořenými kořeny byly přesazeny do nesterilního substrátu a byly pěstovány za vysoké vzdušné vlhkosti. Většina přesazených jeřábů se ujala (85 až 95 %) a pokračovala v růstu. Po otužení byly sazenice přeneseny do venkovních podmínek a několik měsíců pěstovány na stíněném místě.

Růst stromů vypěstovaných *in vitro*

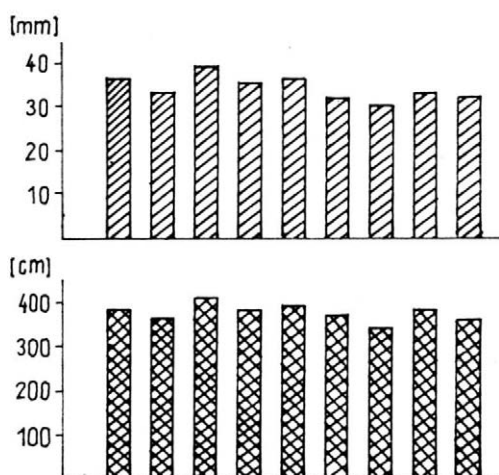
Stromky vypěstované *in vitro* byly po otužení vysazeny na venkovní pokusné plochy, kde do konce vegetační doby dosáhly obvykle výšky 30 až 40 cm. Ztráty během prvního zimního období byly malé nebo žádné. Stromky vydržely bez poškození i silné zimní mrazy a na jaře pokračovaly v růstu. Jejich růst byl rychlý, srovnatelný s růstem stromků vypěstovaných ze semen. Na konci pátého vegetačního období dosáhly stromky výšky 350 až 400 cm. Žádné abnormality v růstu nebo morfologii stromů vypěstovaných *in vitro* nebyly pozorovány.

DISKUSE

Dosavadní naše pokusy s množением lípy, akátu a jeřábu *in vitro* ukázaly, že rychlého množení těchto dřevin lze dosáhnout pomocí orgá-



17. Strom jeřábu vypěstovaný *in vitro* rostoucí na venkovní ploše — *In vitro* propagated tree of *Sorbus aucuparia* growing in the field



18. Difference ve výšce [cm] a v průměru kmene [mm] stromů jeřábu (vypěstovaných *in vitro* z téhož mateřského stromu) na konci pátého vegetačního období — Differences in the tree height [cm] and the stem diameter [mm] of *in vitro* propagated trees of *Sorbus aucuparia* (derived from the same mother tree) at the end of the fifth growing season

nových kultur, rychlou proliferací prýtů z axilárních pupenů (Chalu-
pa, 1981, 1983, 1984, 1987). U všech tří druhů dřevin byla rychlá
proliferace prýtů nejlépe stimulována na minerálně bohatém MS médiu.

Značný vliv na počet a délku nově vytvořených prýtů měla kon-
centrace a druh použitých cytokininů. Množení prýtů bylo stimulováno
jak cytokininy adeninového typu, tak i thidiazuronem. Naše pokusy s thi-
diazuronem ukázaly, že tento cytokinin stimuluje vytváření axilárních
prýtů velmi účinně a jeho cytokininová aktivita je velmi vysoká. Již
velmi nízké koncentrace thidiazuronu významně stimulovaly vytváření
četných axilárních prýtů u všech tří testovaných druhů dřevin. Thidia-
zuron rovněž stimuloval vytváření kalusu a ovlivňoval prodlužování prýtů.
Vzhledem ke své vysoké cytokininové aktivitě se thidiazuron projevuje
jako velmi slibný a účinný nový cytokinin, který může hrát významnou
úlohu při množení lesních dřevin *in vitro*. Thidiazuron může být použit
v živných médiích buď samotný, nebo ve směsi s jinými cytokininy ade-
ninového typu. V provedených pokusech s lípou, akátem a jeřábem sti-

muloval thidiazuron vytváření většího počtu nových prýtů již při velmi nízkých koncentracích.

Zakořeňování prýtů vypěstovaných *in vitro* bylo podporováno na minerálně chudších živných médiích při použití nízkých koncentrací auxinů. U všech tří druhů dřevin bylo dosaženo vysokého procenta zakořeňování. Při převodu rostlin vypěstovaných *in vitro* z agarového média do nesterilního substrátu nedocházelo k vysokým ztrátám a rostliny po přesazení pokračovaly v růstu.

Stromy vypěstované *in vitro* a vysazené na venkovních pokusných plochách rostly normálně. Ztráty po vysazení stromků na venkovní plochy byly v prvním zimním období minimální. Vysazené stromky přezimovaly bez větších ztrát a i v následujících letech nedošlo k žádným větším ztrátám v zimním období. Během několikaletého růstu dosáhly vysazené stromy značných rozměrů a některé z nich i kvetly a vytvořily klíčivá semena.

Literatura

- BONGA, J. M. — DURZAN, D. J. (eds): Tissue culture in forestry. The Hague - Boston - London 1982.
- BONGA, J. M. — DURZAN, D. J. (eds): Cell and tissue culture in forestry. Dordrecht - Boston - Lancaster 1987.
- BROWN, C. L. — SOMMER, H. E.: Vegetative propagation of dicotyledonous trees. In: Bonga, J. M., Durzan, D. J. (eds): Tissue culture in forestry. The Hague - Boston - London 1982, s. 109-149.
- CHALUPA, V.: *In vitro* propagation of some broad-leaved forest trees. Commun. Inst. Forest. Čechosl., 11, 1979, s. 157-170.
- CHALUPA, V.: Clonal propagation of broad-leaved forest trees *in vitro*. Commun. Inst. Forest. Čechosl., 12, 1981, s. 255-271.
- CHALUPA, V.: Rychlé vegetativní množení některých listnatých lesních dřevin *in vitro*. Lesnictví, 29, 1983, s. 309-320.
- CHALUPA, V.: Micropropagation of conifer and broadleaved forest trees. Commun. Inst. Forest. Čechosl., 13, 1983, s. 7-39.
- CHALUPA, V.: *In vitro* propagation of willows (*Salix* sp.), European mountain-ash (*Sorbus aucuparia* L.) and black locust (*Robinia pseudoacacia* L.). Biol. Plant., 25, 1983, s. 305-307.
- CHALUPA, V.: Vegetativní množení dubu (*Quercus robur* L.), lípy (*Tilia cordata* Mill.) a jeřábu (*Sorbus aucuparia* L.) *in vitro*. Lesnictví, 30, 1984, s. 1019-1028.
- CHALUPA, V.: *In vitro* propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata* Mill.). Biol. Plant., 26, 1984, s. 374-377.
- CHALUPA, V.: Rozmnožování osiky (*Populus tremula* L.) a topolu (*Populus nigra* L., *P. alba* L., *P. euramericana* /Dode/ Guin.) *in vitro* a růst stromů vzniklých *in vitro*. Lesnictví, 31, 1985, s. 785-801.
- CHALUPA, V.: Vegetativní rozmnožování listnatých dřevin řízkem a metodou *in vitro*. Lesnictví, 33, 1987, s. 501-510.
- CHALUPA, V.: European hardwoods. In: Bonga, J. M., Durzan, D. J. (eds): Cell and tissue culture in forestry. Dordrecht - Boston - Lancaster, 3, 1987, s. 224-246.
- CHALUPA, V.: Effect of benzylaminopurine and thidiazuron on *in vitro* shoot proliferation of *Tilia cordata* Mill., *Sorbus aucuparia* L. and *Robinia pseudoacacia* L. Biol. Plant., 29, 1987, s. 425-429.

Došlo dne 16. 3. 1988

ХАЛУПА, В. (Научно-исследовательский институт лесного и охотничьего хозяйства, Йиловиште-Стрнады): Размножение липы (*Tilia cordata* Mill.), акации (*Robinia pseudoacacia* L.) и рябины (*Sorbus aucuparia* L.) *ин vitro* и рост деревьев, выращенных *ин vitro*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 705-720.

Быстро вегетативного размножения липы, акации и рябины *in vitro* добились с помощью органических культур, выращиваемых в среде, содержащей цитокинин и ауксин. Из аттестированных цитокининов пролиферацию отпрысков стимулировал, главное, 6-бензил-аминопурин (BAP) и тидиазурон. Рост и пролиферацию отпрысков стимулировали в среде с пониженной концентрацией BAP ($0,2-1 \text{ мг. л}^{-1}$). Тидиазурон оказался весьма действенным цитокинином уже в низких концентрациях ($0,005-0,05 \text{ мг. л}^{-1}$). Рост и пролиферация отпрысков сильно стимулировались в среде, содержащей смесь обоих цитокининов. Окоренение проводилось на бедных минеральными веществами средах с низкими концентрациями ауксинов (IBA, NAA $0,1-0,3 \text{ мг. л}^{-1}$). Высокого % окоренения добились у всех трех видов пород. Выращиваемые *in vitro* деревья росли нормально. Потери в первый зимний период и в последующие годы минимальны. В конце 5-го периода вегетации деревья достигли значительных размеров, некоторые зацвели и образовали прорастающие семена.

лиственные породы; вегетативное размножение *in vitro*; цитокинины; тидиазурон

CHALUPA, V. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady): *In vitro* Propagation of Small-leaved Linden (*Tilia cordata* Mill.), Locust Tree (*Robinia pseudoacacia* L.), and European Mountain Ash (*Sorbus aucuparia* L.) and the Growth of Trees Cultivated *in vitro*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 705-720.

Fast *in-vitro* vegetative propagation of small-leaved linden, locust tree, and European mountain ash was achieved by means of organ cultures grown on MS medium containing cytokinin and auxin. Shoot proliferation was stimulated especially by 6-benzylaminopurine (BAP) and by thidiazuron. Shoot growth and proliferation were stimulated on media containing lower BAP concentrations (0.2 to 1 mg. l^{-1}). Thidiazuron appeared to be a very efficient cytokinin, active at very low concentrations (0.005 to 0.05 mg. l^{-1}). Shoot growth and proliferation were considerably stimulated on media containing a mixture of both these cytokinins. The rooting of shoots was induced on media with lower contents of mineral nutrients and with low concentrations of auxins (IBA and NAA, 0.1 to 0.3 mg. l^{-1}). A high rooting percentage was recorded in all three species. The growth of *in-vitro* propagated trees was normal. The losses that occurred during the first winter season after planting and in subsequent years were very low. The trees reached a considerable size at the end of the fifth vegetation period, and some of them formed blossoms and viable seeds.

deciduous trees; vegetative propagation *in vitro*; cytokinins; thidiazuron

CHALUPA, V. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady): Vermehrung der Linde (*Tilia cordata* Mill.), der Robinie (*Robinia pseudoacacia* L.) und der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) *in vitro* und das Wachstum der *in vitro* aufgezogenen Bäume. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 705-720.

Die schnelle vegetative Vermehrung der Linde, der Robinie und der Eberesche *in vitro* wurde mit Hilfe der auf dem Cytokinin und Auxin enthaltenden MS-Medium gezogenen Organkulturen erreicht. Von den getesteten Cytokininien stimulierte die Proliferation der Triebe besonders 6-benzylaminopurin (BAP) und Thidiazuron. Das Wachstum und die Proliferation der Triebe wurde auf Medien stimuliert, die niedrigere BAP-Konzentrationen enthielten ($0,2$ bis 1 mg. l^{-1}). Thidiazuron erwies sich als sehr wirksames Cytokinin, das bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen ($0,005$ bis $0,05 \text{ mg. l}^{-1}$) wirkt. Wachstum und Proliferation der Triebe wurden auf Medien stark stimuliert, die die Mischung beider Cytokinine enthielten. Die Bewurzelung der Triebe wurde auf mineralisch ärmeren Medien durchgeführt, die niedrige Konzentrationen von Auxinen enthielten (IBA und NAA $0,1$ bis $0,3 \text{ mg. l}^{-1}$). Es wurde ein hoher Prozentsatz der Bewurzelung bei allen drei Holzarten erreicht. Das Wachstum der *in vitro* aufgezogenen Bäume verlief

normal. Die Verluste in der ersten Winterperiode und auch in den folgenden Jahren waren minimal. Ende der fünften Vegetationsperiode erreichten die Bäume bedeutende Ausmaße und einige von ihnen blühten sogar und bildeten keimfähige Samen.

Laubbäume; vegetative Vermehrung *in vitro*; Cytokinine; Thidiazuron

Adresa autora:

Ing. Vladimír Chalupa, DrSc., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady, 156 04 Praha 5 - Zbraslav

IZOENZÝMOVÁ A SÉROLOGICKÁ VARIABILITA VYBRANÝCH DRUHOV JEDLÍ (*ABIES* SP.)

A. Kormuták

KORMUTÁK, A. (Ústav experimentálnej genetiky CBEV SAV, Nitra): *Izoenzýmová a sérologická variabilita vybraných druhov jedlí (Abies sp.)*. Lesníctví, 34, 1988 (8) : 721-730.

Chemotaxonomický status vybraných druhov jedlí sa posudzoval z hľadiska izoenzýmového zloženia semien a antigénnych vlastností ich bielkovín, respektíve s ohľadom na antigénnu štruktúru samičích reprodukčných orgánov. So systematickým členením rodu *Abies* prednostne korelovalo iba izoenzýmové zloženie peroxidázy, zatiaľ čo nešpecifická esteráza bola v tomto ohľade omnoho variabilnejšia. Avšak oba enzýmy obdržali svojím izoenzýmovým zložením diferenciáciu európskych a severoamerických druhov jedlí. Sérologicky boli obe skupiny jedlí takmer uniformné s výnimkou druhov *A. balsamea* a *A. lasiocarpa*, v semenách ktorých sa zistil redukovaný počet imunoprecipitátov. S taxonomickým postavením analyzovaných druhov a ich hybridologickými vzťahmi užšie korelovala iba antigénna štruktúra vajíčok.

Abies; izoenzýmové spektrá; antigénna štruktúra; taxonomický status; hybridologické vzťahy

Princíp biochemickej podmienenosti morfológických a fyziologických rozdielov organizmov je základným postulátom a východiskom každej chemotaxonomickej klasifikácie rastlín. Vysoko integrovaný stav metabolizmu rastlín, ktorého reakcie tvoria retikulum zatiaľ nedefinovateľného rozsahu a komplexnosti, znemožňuje v mnohých prípadoch vystihnúť jedinečnosť taxónov z chemického hľadiska. Preto v chemotaxonomických prístupoch dneška prevládajú tendencie aplikovať pri detekcii týchto rozdielov viaceré kritériá.

Bielkoviny ako vysokomolekulárne komponenty živých organizmov a bezprostredné produkty činnosti génov, poskytujú svojou štruktúrou viaceré možnosti genetickej analýzy. V oblasti taxonómie rastlín sa využívajú hlavne také ich parametre, akými sú veľkosť molekúl a ich elektroforetická mobilita, resp. sekvencia aminokyselín v molekulách a ich imunologické vlastnosti (Heslop-Harrison, 1968). Prvá z uvedených dvojíc vlastností má bezprostrednú súvislosť s molekulárnou heterogenitou enzýmov, t. j. s izoenzýmami, ktoré sú všeobecne považované za významný prostriedok štúdia fylogenetických vzťahov rastlín (Bartnicki-Garcia, 1970; Nagradova, 1970). Závislosť imunologických vlastností bielkovinných makromolekúl na poradí aminokyselín je naproti tomu sprostredkovaná štruktúrami vyššieho radu (Sela, 1974), avšak v konečnom dôsledku taktiež umožňuje pohodovú identifikáciu štrukturálnej podobnosti bielkovín, a tým aj stupeň taxonomickej príbuznosti rastlinných druhov pomocou imunologických metód. Veľkou prednosťou týchto metód je podľa Volodarského (1971) skutočnosť, že umožňujú diferencované štúdium jednotlivých antigénnych zložiek systému bez použitia náročných postupov ich frakcionácie a izolácie,

ktoré sú častokrát sprevádzané zmenou natívnych vlastností analyzovaných zložiek. Stanley a Linskens (1974) a Williams a Wilson (1975) zdôrazňujú v tejto súvislosti aj veľkú citlivosť imunologických metód.

Oba uvedené aspekty štrukturálnej organizácie bielkovín samičích reprodukčných orgánov (vajčiek) a semien boli konfrontované s taxonomickým a hybridologickým statusom vybraných druhov jedlí s cieľom bližšieho ozrejmeneia významu týchto makromolekúl pri štúdiu genetických vzťahov v rámci rodu *Abies*.

MATERIÁL A METÓDY

VÝCHODISKOVÝ MATERIÁL

Porovnávacie štúdium sérologických vlastností vajčiek zahrňovalo druhy *Abies alba* Mill., *A. nordmanniana* (Stev.) Spach, *A. cephalonica* Loud., *A. cilicica* (Ant. et Kotschy) Carr., *A. numidica* De Lann., *A. pinsapo* Boiss., *A. concolor* (Gord. et Glend.) Lindl. a *A. grandis* (Dougl.) Lindl., zatiaľ čo imunologická a izoenzymová analýza semenných bielkovín bola rozšírená aj o druhy *A. balsamea* (Linn.) Mill., *A. lasiocarpa* (Hook.) Nutt., *A. amabilis* (Dougl.) Forbes a hybridnú formu *A. × vilmorinii* Mast. S výnimkou semenného materiálu druhov *A. balsamea*, *A. lasiocarpa* a *A. amabilis* získaného z banky semien v Petawawa National Forestry Institute, Chalk River v Kanade, všetok experimentálny materiál pochádzal z Arboréta Mlyňany.

PRÍPRAVA PROTEÍNOVÝCH EXTRAKTOV Z VAJČÍČOK A SEMIEN

Pri vlastnej extrakcii bielkovín zo samičích reprodukčných orgánov sa vychádzalo z 1,5 až 2 g vajčiek extirpovaných zo samičích strobilov v čase kvitnutia jednotlivých druhov. Ako extrakčné médium sa použilo 3 ml 0,1 M Tris-HCl pufru, pH 8,3 s prísadou 0,5 M sacharózy, 5 mM cysteínu-HCl, 5 mM EDTA a 2 % Tweenu 80. Homogenát pripravený v Potter-Elvehjemovom homogenizátore sa centrifugoval pri 20 000 × g po dobu 15 minút, zatiaľ čo získaný supernatant sa dialyzoval najprv proti destilovanej vode (5 hodín) a potom proti 0,05 M Tris-HCl pufru, pH 8,0 (15 hodín). Všetky operácie sa uskutočnili pri zníženej teplote (2 až 4 °C). Bielkovinové extrakty získané týmto spôsobom sa bezprostredne použili pri imunologických analýzach.

Príprava proteínových extraktov zo semien zahrňovala extrakciu semien zbavených osemenia 0,1 M Tris-HCl pufrom, pH 8,3 s obsahom 0,5 M sacharózy, 5 mM cysteínu-hydrochloridu, 5 mM EDTA, 2 % Tweenu 80 a 0,5 % polyvinylpyrrolidónu. Supernatant získaný centrifugáciou pri 20 000 × g po dobu 15 minút bol podrobený dialýze cez kolónu Sephadexu G-25 ekvilibrovanú 0,1 M Tris-HCl pufrom, pH 8,0. Všetky operácie prebiehali pri 2 až 4 °C, pričom získaný proteínový extrakt sa použil bezprostredne pri imunologických a izoenzymových rozboroch.

PRÍPRAVA POLYVALENTNÝCH KRÁLIČÍCH ANTISÉR

Pri štúdiu sérologických vlastností vajčiek sa používalo králičie antisérum pripravené proti antigénom druhu *A. concolor* (Gord. et Glend.) Lindl. vyššie popísaným spôsobom, zatiaľ čo analogické vlastnosti semien sa testovali pomocou antiséra pripraveného proti semenným antigénom druhu *A. cilicica* (Ant. et Kotschy) Carr. s nižšie uvedeným spôsobom prípravy.

Semená jedle cilickej zbavené osemenia boli delipidované pomocou opakovanej extrakcie petroléterom (2 × 30 minút) a následnej extrakcie acetónom pri -20 °C, po dobu 3 hodín. Po 10 minútach centrifugácie homogenátu pri 2000 × g a -20 °C sa získal acetónový prášok, ktorý sa vysušil pri laboratórnej teplote a vzápätí extrahoval 0,1 M Tris-HCl pufrom, pH 8,0 obsahujúcim 0,9 % NaCl. Centrifugáciou homogenátu pri 17 000 × g a 2 °C sa získal proteínový extrakt, ktorý počas 15 hodín sa dialyzoval proti destilovanej vode a následne zahusťoval polyetylen glykolom (m. h. 17 000) na výslednú koncentráciu bielkovín 3,5 %.

V rámci imunizačnej schémy sa aplikácia vyššie uvedeného antigénu, resp. bielkovinového extraktu vajíčok jedle strienistej (*A. concolor* /Gord. et Glend./ Lindl.) uskutočnila intradermálne s použitím kompletného Freundovho adjuvansu v pomere 3 ml antigénu : 2 ml adjuvansu. V šesťtyždňovom časovom odstupe sa uskutočnila druhá aplikácia antigénu, intramuskulárne a bez adjuvansu, v množstve 3 ml. Po dosiahnutí titru protilátok 1 : 30 boli králiky vykrvené.

POUŽITÉ METÓDY SÉROLOGICKEJ A IZOENZÝMOVEJ ANALÝZY

Sérologické vlastnosti vajíčok a semien jednotlivých druhov sa testovali pomocou Ouchterlonyho dvojitej imunodifúzie v 0,9 % agaróze (Ouchterlony, 1958), respektíve jedno- a dvojrozmernej imunoelektroforézy v 1,5 % agaróze (Grabar a Williams, 1953). Výsledky imunologických analýz sa kvantitatívne vyhodnocovali (Sneath a Sokal, 1973), zatiaľ čo sérotaxonomické vzťahy analyzovaných druhov sa znázornili vo forme dendrogramu a dendritu.

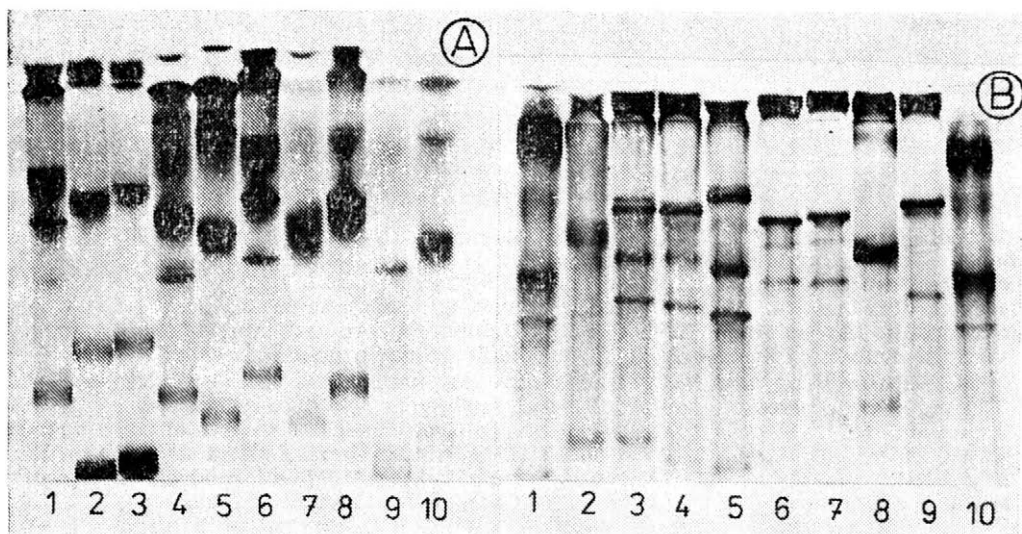
Elektroforetická separácia izoenzýmov sa uskutočnila pri 4 °C, za použitia 7,5 % polyakrylamidového gélu a Tris-glycerinového elektródového pufru, pH 8,3 (Maurer, 1971). Pri vlastnej analýze sa nanášalo na gel 300 µg bielkovín každej vzorky, ktoré boli delené po dobu 90 až 120 minút, pri aplikácii 2,5 až 3 mA prúdu na gél. Ako markér sa používal 0,01 % roztok bromfenolovej modrej. Izoenzýmy peroxidázy a esterázy sa vizualizovali (Gangon, Gavrilenko et al., 1975).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Začlenenie do experimentu dvanástich druhov jedlí reprezentujúcich taxonomicky štyri rozdielne sekcie a dva hlavné areály rozšírenia týchto významných predstaviteľov svetovej dendroflóry umožnilo nahliadnuť na stupeň biochemickej diferenciácie jednotlivých druhov i celých taxonomických skupín vo vnútri rodu *Abies*. V rámci použitých metodických postupov to bolo izoenzýmové zloženie semien, ktoré presnejšie odrážalo taxonomické postavenie jednotlivých druhov, ako ich antigénna štruktúra.

Z obr. 1 vyplýva, že molekulárna heterogenita oboch testovaných enzýmov, t. j. peroxidázy a nešpecifickej esterázy bola charakterizovaná tromi až ôsmimi izoenzýmami peroxidázy a štyrmi až siedmimi izoformami esterázy. Nie je bez zaujímavosti v tejto súvislosti skutočnosť, že Juo a Stotzky (1974) zistili pri porovnávanom štúdiu izoenzýmových spektier druhov rodu *Pinus*, *Abies* a *Pseudotsuga* až deväť frakcií s esterázovou aktivitou u druhu *A. concolor*, čo kontrastuje so zymogramom uvedeného druhu ilustrovaným na obr. 1B a reprezentovaným iba štyrmi elektroforeticky rozlíšiteľnými formami esterázy. Podobné rozdiely sa spravidla pripisujú rozdielnemu geografickému pôvodu experimentálneho materiálu, prípadne rozdielnemu veku a fyziologickému stavu porovnávaných jedincov.

Aj napriek tomu, že zmienení autori nepovažujú peroxidázu a esterázu za spoľahlivé markéry biochemickej diferenciácie rodov *Pinus*, *Abies* a *Pseudotsuga*, druhovo špecifické izoenzýmové spektrá naznačujú určitý vzťah týchto enzýmových systémov semien ku geografickému rozšíreniu jednotlivých skupín druhov, ako aj k systematickému členeniu celého rodu *Abies*. V kontexte pozorovanej medzidruhovej variability vyníma sa totiž redukcia počtu izoenzýmov severoamerických druhov *A. grandis*, *A. concolor*, *A. balsamea*, *A. lasiocarpa*, pri ktorých sa zistili dva až štyri izoenzýmy peroxidázy a tri až štyri izoenzýmy esterázy. Zodpovedajúce počty molekulárne odlišných foriem enzýmov v semenách európskych druhov *A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. cephalonica*, *A. pinsapo*, *A. cilicica*



1. Izoenzýmové zloženie peroxidázy (A) a nešpecifickej esterázy (B) v semenách druhov *A. alba* (1); *A. nordmanniana* (2); *A. cephalonica* (3); *A. pinsapo* (4); *A. cilicica* (5); *A. numidica* (6); *A. grandis* (7); *A. concolor* (8); *A. balsamea* (9) a *A. lasiocarpa* (10) — Isoenzyme patterns of peroxidase (A) and non-specific esterase (B) of seed proteins in *A. alba* (1); *A. nordmanniana* (2); *A. cephalonica* (3); *A. pinsapo* (4); *A. cilicica* (5); *A. numidica* (6); *A. grandis* (7); *A. concolor* (8); *A. balsamea* (9); *A. lasiocarpa* (10)

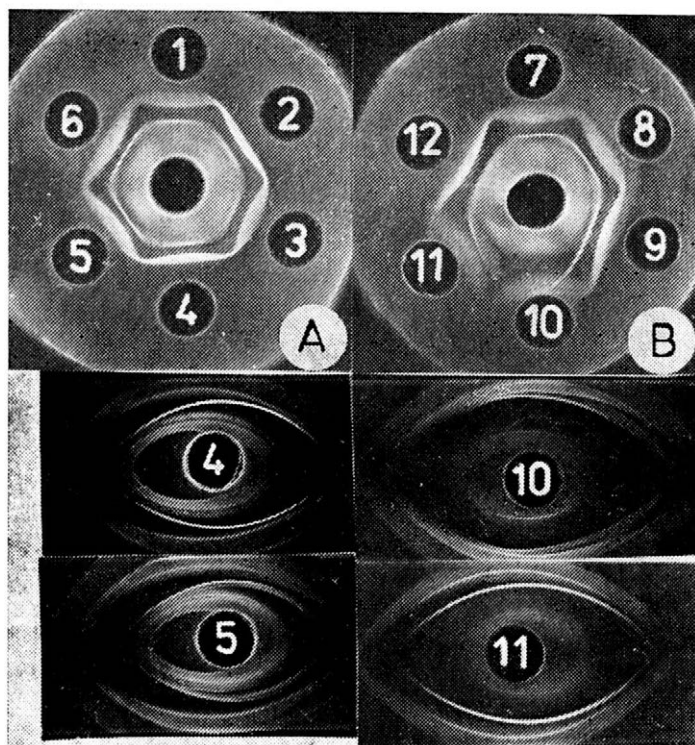
a *A. numidica* sa naproti tomu pohybovali v rozmedzí troch až ôsmich izoperoxidáz a štyroch až siedmich izoesteráz. Výnimku tvoril v tomto smere iba druh *A. lasiocarpa*, ktorý sa svojimi piatimi izoesterázami podobal druhu *A. alba* (obr. 1).

S najnovším systematickým členením rodu *Abies* podľa Liu (1971) korelovalo iba peroxidázové zloženie druhov *A. nordmanniana* a *A. cephalonica* zo sekcie *Abies*, pri ktorých sa celkove identifikovali tri izoenzýmy. Rovnaký počet izoperoxidáz obsahoval aj tretí zástupca tejto sekcie *A. alba*, avšak ich elektroforetická mobilita sa výrazne odlišovala (obr. 1A). V porovnaní s vyššie uvedenými druhmi sekcie *Abies*, boli izoenzýmové spektrá sekcie *Piceaster* obohatené o jeden až štyri izoenzýmy, pričom jej druhy *A. pinsapo*, *A. cilicica* a *A. numidica* sa navzájom odlišovali tak s ohľadom na počet izoperoxidáz, ako aj ich mobilitu. Pomerne vysokým stupňom podobnosti sa vyznačovalo aj izoperoxidázové zloženie druhov *A. grandis* a *A. concolor* zo sekcie *Grandes*, respektíve druhov *A. balsamea* a *A. lasiocarpa* zo sekcie *Balsameae*.

Korelatívna súvislosť medzi zložením nešpecifickej esterázy semien a systematickým zoskupením jednotlivých druhov jedlí takmer chýbala, hlavne pre veľkú heterogenitu izoperoxidázových spektier a ich individuálne druhový charakter (obr. 1B). Enzymatická podobnosť sa v tomto prípade prednostne vzťahovala na zástupcov rozdielnych sekcií, t. j. na dvojice druhov *A. cephalonica* a *A. pinsapo*, resp. *A. numidica* a *A. grandis*.

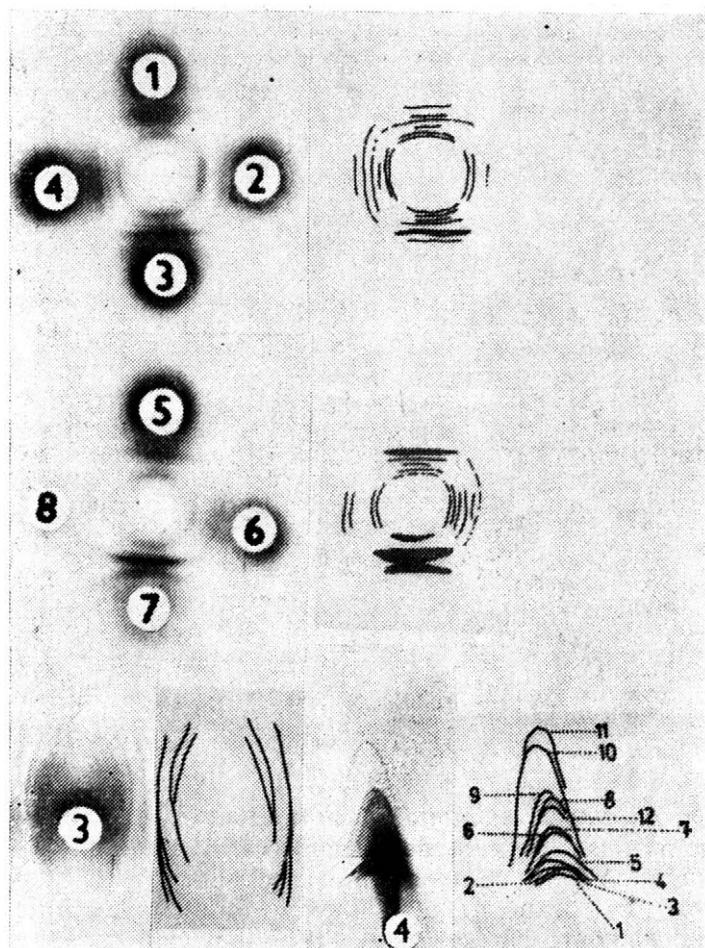
Sérologicky sa biochemickú odlišnosť semien európskych druhov podarilo dokumentovať iba čiastočne. Ako znázorňuje obr. 2, imunodifúzne precipitáty druhov *A. alba*, *A. nordmanniana*, *A. cephalonica*, *A.*

2. Antigénna štruktúra semenných bielkovín druhov *A. alba* (1); *A. nordmanniana* (2); *A. cephalonica* (3); *A. × vilmorinii* (4); *A. pinsapo* (5); *A. cilicica* (6); *A. numidica* (7); *A. grandis* (8); *A. concolor* (9); *A. balsamea* (10); *A. lasiocarpa* (11); *A. amabilis* (12) zistená imunodifúziou (A-B) a jednorozmernou imuno-elektroforézou — The antigenic structure of seed proteins in *A. alba* (1); *A. nordmanniana* (2); *A. cephalonica* (3); *A. × vilmorinii* (4); *A. pinsapo* (5); *A. cilicica* (6); *A. numidica* (7); *A. grandis* (8); *A. concolor* (9); *A. balsamea* (10); *A. lasiocarpa* (11); *A. amabilis* (12), revealed either by immunodiffusion (A-B), or by one-dimensional immunoelectrophoresis



vilmorinii, *A. pinsapo*, *A. cilicica* a *A. numidica* boli identické a zhodne obsahovali tri zóny precipitácie. Rovnako uniformné boli aj imunoplatne uvedených druhov získané elektroforetickou analýzou semenných bielkovín, ktorej výsledky sú ilustrované na príklade hybridnej formy *A. × vilmorinii* a druhu *A. pinsapo*. Na rozdiel od imunodifúzie sa však týmto spôsobom zistilo až šesť sérologicky aktívnych bielkovinných frakcií.

Spomedzi analyzovaných severoamerických druhov jedlí sa zhodnou antigénnou štruktúrou s európskymi druhmi vyznačovali iba *A. grandis*, *A. concolor* a *A. amabilis*, zatiaľ čo druhy *A. balsamea* a *A. lasiocarpa* tvorili v tomto smere nápadne odlišnú dvojicu. Imunodifúziou sa pri nich detekovali iba dva precipitáty a primerane redukovaný bol aj počet bielkovinných frakcií získaných jednorozmernou elektroforézou (obr. 2). Na pozadí analyzovaného sortimentu jedlí ide o zástupcov sekcie *Balsameae* so vzájomne kompatibilným hybridologickým vzťahom (H a w l e y a D e H a y e s, 1985). S ohľadom na túto skutočnosť možno konštatovať, že v rámci bielkovinového zloženia semien sú to pravdepodobne antigénne vlastnosti štrukturálnych a zásobných bielkovín, v ktorých sa najvýraznejšie prejavuje postulovaná genetická príbuznosť jednotlivých druhov jedlí (Klaehn a Winieski, 1962), ktorá však ani zďaleka nevystihuje ich taxonomické postavenie v takom rozsahu ako izoenzýmy. Posledne uvedený typ makromolekúl reprezentuje už totiž skupinu katalyticky aktívnych, a teda aj funkčne veľmi polymorfných bielkovín, v zložení ktorých možno na pozadí geneticky stroho determinovaných frakcií a podjednotiek rozlíšiť aj značnú časť izoenzýmovej variability



3. Antigénna štruktúra vajíčok jedlí ilustrovaná pomocou imunodifúzie bielkovín všetkých ôsmich analyzovaných druhov, ako aj jedno-rozmernou elektroforézou vajíčok druhu *A. cephalonica* (3) a dvoj-rozmernou elektroforézou druhu *A. cilicica* (4) — The antigenic structure of fir ovules characterized by means of immunodiffusion of proteins of all the eight analyzed species, or by one-dimensional electrophoresis of *A. cephalonica* ovules (3), and by two-dimensional electrophoresis of *A. cilicica* ovules (4)

epigenetického charakteru. Ontogeneticky prechodným a prostredím modifikovateľným enzýmovým frakciám možno pripísať častokrát konštatovanú slabšiu koreláciu, prípadne až úplnú absenciu korelatívnej súvislosti izoenzýmových spektier so systematickým zaradením a hybridologickými vzťahmi študovaných rastlinných taxónov.

Antigénnu štruktúru vajíčok odhalenú imunodifúziou, jedno- a dvoj-rozmernou elektroforézou znázorňuje obr. 3, zatiaľ čo celkový počet imunoprecipitátov detekovaný pri jednotlivých druhoch jedlí zhrňuje tab. I. Vyníma sa najmä vysoká rozlišovacia schopnosť dvojrozmernej imunoelktroforézy, ktorou sa zistilo osem až dvanásť precipitátov, oproti trom až šiestim zónam precipitácie detekovaných imunodifúziou a jedno-rozmernou elektroforézou. V rámci troch porovnávaných sekcií rodu *Abies* sa sérologicky najviac odlišovala sekcia *Grandes* s dvojicou druhov *A. concolor* a *A. grandis*, ktorých imunoplatne obsahovali zhodne po štyroch, respektíve po ôsmich precipitátoch (tab. I). Schematicky sa to odrazilo spoločným zoskupením týchto severoamerických jedlí na dendrograme a ich identickou polohou na dendrite (obr. 4), čo je v súlade s vysokou mierou ich vzájomnej hybridologickej afinity (G a t h y, 1957; Duffield a Snyder, 1958; Rohmeder a Schönbach, 1959;

I. Počet imunoprecipitátov zistený rozdielnymi imunologickými technikami v bielkovinách vajícok ôsmich porovnávaných druhov jedlí — The number of immunoprecipitates revealed by different immunological techniques in protein extracts of the ovules in eight species of firs

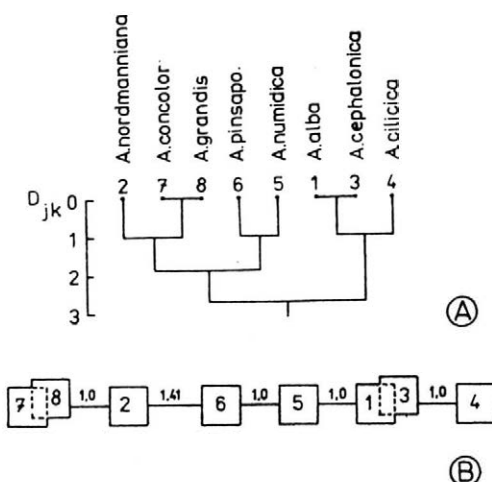
Typ imunologickej analýzy	Druhy							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Imunodifúzia	6	3	6	6	5	6	4	4
1-rozmerná foréza	5	4	5	5	5	5	4	4
2-rozmerná foréza	11	9	11	12	10	9	8	8

Označenie druhov — Designation of the species

- | | |
|----------------------------|------------------------|
| 1 — <i>A. alba</i> | 5 — <i>A. numidica</i> |
| 2 — <i>A. nordmanniana</i> | 6 — <i>A. pinsapo</i> |
| 3 — <i>A. cephalonica</i> | 7 — <i>A. concolor</i> |
| 4 — <i>A. cilicica</i> | 8 — <i>A. grandis</i> |

Frederick, 1977], respektíve s ich výrazne inkompatibilným hybridologickým vzťahom k európskym druhom jedlí (Kormuťák, 1985). Počet sérologicky aktívnych frakcií bielkovín vo vajíčkach ostatných druhov bol totiž o poznanie vyšší a pritom aj pomerne vyrovnaný. S ohľadom na kompatibilný charakter zistených hybridologických vzťahov tejto skupiny druhov, prednostne však koreloval s ich systematickým postavením. Spomedzi druhov sekcie *Abies*, t. j. *A. alba*, *A. cephalonica* a *A. nordmanniana* sa napríklad veľmi úzka sérologická príbuznosť pozorovala iba medzi prvými dvoma druhmi, zatiaľ čo jedľa kaukazská sa od oboch uvedených zástupcov tejto sekcie odlišovala redukovaným počtom precipitátov. V súlade se sérologickou štruktúrou tejto sekcie sa preto druh *A. nordmanniana* situoval pri grafickom znázornení serotaxonomických vzťahov vedľa dvojice severoamerických jedlí *A. concolor* a *A. grandis*, zatiaľ čo druhy *A. alba* a *A. cephalonica* vytvorili na dendrograme spoločnú dvojicu s identickou polohou na dendrite. Analogický vzťah sa pozoroval aj medzi trojicou druhov sekcie *Piceaster*, t. j. medzi

4. Serotaxonomické vzťahy analyzovaných druhov jedlí odvodené na základe antigénnych vlastností ich vajícok a znázornené pomocou dendrogramu (A) a dendritu (B) — Serotaxonomical relationships between the analyzed fir species inferred from the antigenic properties of their ovules, represented in the form of a dendrogram (A) and a dendrite (B)



A. pinsapo, *A. numidica* a *A. cilicica*, kde iba posledne uvedený zástupca nezapadal do rámca danej sekcie a zvýšeným počtom imunoprecipitátov inklinoval v navrhnutom sérotaxonomickom systéme skôr k druhom *A. alba* a *A. cephalonica*. Naproti tomu experimentálne potvrdený vzťah kompatibility medzi druhmi *A. pinsapo* a *A. numidica* našiel svoj odraz v spoločnom zoskupení uvedenej dvojice jedlí na grafoch znázornených na obr. 4.

Celkove sa zdá, že v porovnaní so semenami je antigénna štruktúra vajíčok omnoho komplexnejšia a pritom aj druhovo variabilnejšia, kde vzťah medzi sérologickým a taxonomicko-hybridologickým statusom jednotlivých druhov je neporovnateľne užší. To dáva určité záruky na využitie tejto črty samičích reprodukčných orgánov nielen pri taxonomickom štúdiu jedlí, ale aj pri analýze biochemickej podstaty špecifickej kombinačnej schopnosti ich druhov a vlastného mechanizmu nekřížiteľnosti, kde sa predpokladá imunologický typ interakcie medzi vodivým pletivom vajíčok a peľovými zrnami (Sampson, 1962, Knox et al., 1972, Heslop-Harrison et al., 1975).

Literatúra

- BARTNICKI-GARCIA, S.: Cell wall composition and other biochemical markers in Fungal phylogeny. In: Phytochemical phylogeny. Academic Press, 1970, s. 81-103.
- DUFFIELD, J. W. — SNYDER, E. B.: Benefits from hybridizing American forest tree species. J. For., 56, 1958, s. 809-815.
- FREDERICK, D. J.: An integrated population of *Abies grandis* × *A. concolor* in Central Idaho and its relation to decay. Silvae Gen., 26, 1977, s. 8-10.
- GANGON, C.: Peroxidase in healthy and diseased elm trees investigated by the benzidine histochemical technique. Can. J. Bot., 46, 1968, s. 1491-1494.
- GAVRILENKO, V. F. — LADYGINA, M. E. — KHANDOBINA, L. M.: Boľšoj praktikum po fiziologii rastenij. Vysšaja škola, Moskva 1975, s. 324-325.
- GHATY, P. P.: A propos de l'hybride naturel *Abies concolor* (Gord.) Engelmann × *A. grandis* (Link.). Silvae Gen., 6, 1957, s. 186-190.
- GRABAR, P. — WILLIAMS, C.: Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétique et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application du sérum anguin. Biochem. Biophys. Acta, 10, 1953, s. 193-194.
- HAWLEY, G. J. — DeHAYES, D. H.: Hybridization among several North American firs. I. Crossability. Can. J. For. Res., 15, 1985, č. 1, s. 42-49.
- HESLOP-HARRISON, J.: Chairman's summing-up. In: Chemotaxonomy and serotaxonomy (ed. Hawkes). Academic Press 1968, s. 279-284.
- HESLOP-HARRISON, J. — KNOX, R. B. — HESLOP-HARRISON, Y. — MATTSON, O.: Pollen-wall proteins: Emission and role in incompatibility responses. In: The biology of male gamete. Ed. Duckett, Racey, New York, Academic Press 1975, s. 189-201.
- JUO, P. S. — STOTZKY, G.: Electrophoretic analysis of isozymes from seeds of *Pinus*, *Abies* and *Pseudotsuga*. Can. J. Bot., 51, 1974, s. 2201-2205.
- KLAHN, F. U. — WINIESKI, J. A.: Interspecific hybridization in the genus *Abies*. Silvae Gen., 11, 1962, s. 136-142.
- KNOX, R. B. — WILLING, R. R. — ASHFORD, A. E.: Role of pollen wall proteins as recognition substances in interspecific incompatibility in poplars. Nature 237, 1972, s. 381-383.
- KORMUTÁK, A.: Study on species hybridization within the genus *Abies*. Acta dendrobiologica, VEDA (Bratislava), 1985.
- LIU, T. S.: A monograph of the genus *Abies*. The National Taiwan University, Taiwan, 1971.

- MAURER, H. R.: Disc-electrophoresis and related techniques in polyacrylamide gel electrophoresis. Walter de Gruyter, Berlin - New York, 1971.
- NAGRADOVA, N. K.: Sravnitel'no-biohimičeskie aspekty struktury belka i jeho katalytičeskoj funkcii. Uspechy Sovr. Biol., 69, 1970, s. 3-25.
- OUCHTERLONY, O.: Diffusion in gel methods for immunological analysis. Progr. Allergy 5, 1958, s. 1-2.
- ROHMEDER, E. — SCHÖNBACH, H.: Genetik und Züchtung der Waldbäume. Parey, Hamburg - Berlin, 1959.
- SAMPSON, D. R.: Intergenetic pollen-stigma incompatibility in the *Cruciferae*. Can. J. Genet. Cytol., 4, 1962, s. 38-49.
- SELA, M.: The antigens. Vol. II. Academic Press, 1974.
- SNEATH, P. H. A. — SOKAL, R. R.: Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, 1973.
- STANLEY, R. C. — LINSKENS, H. F.: Pollen-biology biochemistry, management. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 1974.
- VOLODARSKIJ, A. D.: Immunohimičeskij analiz antigennoj struktury tkanej rastenij. In: Biofizičeskie metody v fiziologii rastenij. Nauka — Moskva, 1971, s. 14-33.
- WILLIAMS, B. L. — WILSON, K.: Principles and techniques of practical biochemistry. Edward Arnold, 1975.

Došlo dňa 17. 2. 1988

КОРМУТЯК, А. (Институт экспериментальной генетики САН, Нитра): **Изоферментная и серологическая изменчивость избранных видов пихты (*Abies* sp.)**. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 721-730.

Обсуждено хемотаксономическое положение избранных видов пихт с точки зрения изоферментного состава семян и антигенных свойств их протеинов, или же учитывая антигенную структуру женских органов репродукции. Отчётливая корреляция с систематическим расчленением вида *Abies* была обнаружена только в изоферментном составе пероксидазы, пока неспецифическая эстераза была в этом отношении значительно более изменчива. Однако, оба фермента отражали своим изоферментным составом дифференциацию европейских и североамериканских видов пихт. Серологически были обе группы пихт почти единообразны, за исключением видов *A. balsamea* и *A. lasiocarpa*, в семенах которых было обнаружено пониженное количество иммунопреципитатов. Более узкая корреляция таксономического положения анализированных видов с их гибридологическими отношениями появилась только в антигенной структуре семяпочек.

Abies; изоэнзимные спектры; антигенная структура; таксономическое положение; гибридологические отношения

KORMUTÁK, A. (Ústav experimentálnej genetiky CBEV SAV, Nitra): **Isoenzyme and Serological Variability of Selected Fir (*Abies* sp.) Species**. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 721-730.

The chemotaxonomical status of selected fir species was evaluated from the aspect of the isoenzyme patterns of seeds and the antigenic properties of their proteins, and/or with respect to the antigenic structure of female reproductive organs. The systematic classification of the genus *Abies* was predominantly correlated only by the isoenzyme patterns of peroxidase whereas non-specific esterase was much more variable in this respect. However, the two enzymes reflected in their isoenzyme patterns the differentiation of the European and North American fir species. Serologically, the two fir groups were almost uniform, except the species *A. balsamea* and *A. lasiocarpa*, whose seeds contained a reduced number of immunoprecipitates. The taxonomical status of the analyzed species and their hybridological relationships were closely correlated only in the antigenic structure of ovules.

Abies; isoenzyme patterns; antigenic structure; taxonomical status; hybridological relationships

KORMUŤÁK, A. (Ústav experimentálnej genetiky CBEV SAV, Nitra): *Isoenzymatische und serologische Variabilität ausgewählter Tannenarten (Abies sp.)*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 721-730.

Der chemotaxonomische Status ausgewählter Tannenarten wurde vom Standpunkt der Isoenzymstruktur ihrer Samen und der Antigeneigenschaften ihrer Proteine, bzw. mit Rücksicht auf die Antigenstruktur weiblicher Reproduktionsorgane beurteilt. Mit der systematischen Gliederung der Gattung *Abies* korrelierte vorzugsweise nur die Isoenzymzusammensetzung der Peroxidase, während die nichtspezifische Esterase in dieser Hinsicht wesentlich mehr variabel war. Beide Enzyme widerspiegeln jedoch durch ihre Isoenzymzusammensetzung die Differenzierung europäischer und nordamerikanischer Tannenarten. Serologisch waren beide Tannengruppen fast uniform mit Ausnahme der Arten *A. balsamea* und *A. lasiocarpa*, in deren Samen eine reduzierte Anzahl von Immunopräzipitaten festgestellt wurde. Mit der taxonomischen Stellung der analysierten Arten und mit ihren hybridologischen Beziehungen korrelierte enger nur die Antigenstruktur der Eier.

Abies; Isoenzymspektren; Antigenstruktur; taxonomischer Status; hybridologische Beziehungen

Adresa autora:

RNDr. Andrej K o r m u ť á k, CSc., Ústav experimentálnej genetiky CBEV SAV,
Hlohovská 2, 949 92 Nitra

VÝZNAM ŠLECHTĚNÍ LESNÍCH DŘEVIN NA PŘÍKLADU OSIKY (*POPULUS TREMULA* L.)

J. Pospíšil, L. Alferi

POSPÍŠIL, J. — ALFERI, L. (Lesnická fakulta VŠZ, Brno): *Význam šlechtění lesních dřevin na příkladu osiky (Populus tremula L.)*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 731-754.

Ze získaných výsledků za období let 1955 až 1987 je možno učinit tyto závěry: 1) Bylo provedeno 895 kombinací křížení s využitím samičích jedinců z ČSSR a samčích jedinců z ČSSR i zahraničí. 2) Získaná hybridní potomstva byla selektována a vysazována na trvalé výzkumné i poloprovozní plochy, na kterých je sledován jejich další růst a vývoj. Tyto plochy jsou založeny v oblasti lesního závodu (LZ) Buchlovice, LZ Kašperské Hory, LZ Klášterec nad Ohří, ŠLP Křtiny, SLTŠ Trutnov, LZ Znojmo. Nejstarší plochy jsou umístěny na ŠLP Křtiny (Sokolnice 31 let, Rajhrad 26 let — tato plocha byla založena jako mezinárodní plocha v rámci RVHP), LZ Znojmo (Dyjákovice) 26 let. 3) Byla vyselektována řada hybridů s vynikajícím heteroorním efektem ve smyslu růstových schopností i odolnosti proti jádrové hnilobě, které jsou uplatněny v praxi pro založení surovinové základny pro zápalkářský průmysl a pro oblasti ohrožené průmyslovými exhalacemi. 4) Ve skutečné produkci a v produkci propočteného objemu dřevní hmoty na jeden hektar, hybridní potomstva a vyselektovaní hybridní jedinci výrazně převyšují kontrolní potomstva. 5) Klonová potomstva heterovegetativně namnožených hybridů s vynikajícím heteroorním efektem se ve věku 15 let v tloušťce ($d_{1,3}$) a v produkci přibližují výchozím hybridním jedincům a ve výškovém růstu je ve většině případů převyšují. 6) Byl prokázán kladný vliv geograficky vzdálené hybridizace při správné volbě rodičovských partnerů, i kladný vliv mezidruhovité hybridizace na získaná potomstva. 7) Kladné výsledky byly také získány u některých potomstev z volného opylení vynikajících mateřských jedinců. Na uvedeném příkladu šlechtitelských prací s osikou je dokumentován přínos aplikace poznatků genetiky a šlechtění lesních dřevin pro lesní hospodářství.

šlechtění lesních dřevin; hybridizace; osika; využití

Aplikaci poznatků genetiky a šlechtění lesních dřevin můžeme považovat za jednu z nejvýznamnějších cest ke zvyšování výnosů v lesním hospodářství, k získání odolných potomstev vůči biotickým a abiotickým činitelům. V neposlední řadě i k záchraně některých ohrožených druhů našich lesních dřevin. Genetika, kromě svého významu teoretické vědy objasňující základní zákonitosti živých organismů, dědičnosti a proměnlivosti, má mimořádný význam praktický. To je možno dokumentovat celou řadou její praktické aplikace a získanými výsledky v zemědělské výrobě jak rostlinné, tak i živočišné.

Můžeme očekávat, že podobnými metodami jako v zemědělství, tj. v úzké spolupráci genetiků a šlechtitelů, dosáhneme i v lesnictví stejně průkazných výsledků.

Zlepšování vlastností lesních dřevin umělým výběrem je značně zdoluhavé a obtížné. Přesto však metodu umělého výběru považujeme za metodu základní, ze které vycházíme při použití dalších šlechtitelských metod a kterými metoda výběru neustále prolíná.

Jednou z nejúčinnějších metod šlechtění dřevin je záměrné křížení — hybridizace, poskytující zpravidla při správném výběru rodičovských partnerů hybridní potomstva s heterózním efektem. Křížením lze docílit vlastností, které pouhým výběrem nikdy nezískáme, neboť selekce sama netvoří nové, nýbrž pouze objevuje již přítomné (Hrubý, 1961).

Hybridizace má v lesnictví nesmírný význam. Převážná část nových jedinců v porostech vzniká křížovým opylením. Můžeme tedy říci, že každý nově vzniklý jedinec — až na nepatrné výjimky (Dengler, 1942; Kantor a Vincent, 1970) — představuje jedince hybridního. Při volném opylení však dochází k náhodnému spojení gamet (panmixie), které může být z hlediska biologického prospěšné a vyhovující, z hlediska hospodářské prospěšnosti však nikoliv.

Naším úkolem při záměrné hybridizaci je, abychom prospěšnost biologickou usměrnili vždy tak, aby co nejvíce sloužila zájmům praxe — společnosti, tedy aby prospěšnost biologická při pohlavním spojení vyústila v prospěšnost hospodářskou.

Šlechtěním osiky se zabýváme od roku 1952. Od té doby byly publikovány získané dílčí výsledky (Pospíšil, 1956, 1958, 1972, 1975, 1980, 1981, 1985).

Za tuto dobu, tj. 35 let prošlechtování osiky u nás, docházelo k četným změnám názorů na účelnost zabývat se dřevinou, která je méně významnou složkou našich porostů a nepatří mezi dřeviny hospodářsky významné, tzn. mezi dřeviny hlavní. Tento názor některých našich lesníků převládá dodnes, i když v současné době se názor na zastoupení osiky v porostech poněkud změnil, zejména v oblastech, které jsou ohroženy průmyslovými exhalacemi.

Cíl, obsah a hlavní náplň šlechtitelských prací s osikou však zůstávají nezměněny. To znamená, dosáhnout šlechtitelskými metodami takových hybridních potomstev a jedinců, kteří by dosáhli maximální produkce kvalitní dřevní hmoty, byli odolní proti biologickým činitelům, tedy aby bylo dosaženo maximálního heterozního efektu.

Za celé uváděné období byla vyselektována řada hybridů s vynikajícím heterozním efektem ve smyslu růstových schopností i odolnosti proti jádrové hnilobě, kteří byli již uplatnění v praxi pro založení surovinové základny zápalkářského průmyslu n. p. Solo Sušice (Pospíšil, 1980; Mottl et al., 1980).

Od založení prvních výzkumných i poloprodučních ploch se získanými hybridními osikami uplynulo 29 a 24 let. Je tedy možno ze získaných výsledků hodnotit přínos šlechtění lesních dřevin na příkladu osiky pro naše lesní hospodářství.

Topolům byla a je věnována značná pozornost jako rychle rostoucím dřevinám šlechtiteli nejen u nás, ale i v ostatních evropských i mimo-evropských státech. Hlavní pozornost však byla věnována převážně topolům sekce *Aigeiros* a jejich křížencům, sekci *Leuce* pozornost menší až okrajová. Pouze v SSSR byla pěstování a šlechtění osiky věnována velká pozornost v období před II. světovou válkou i po ní.

Osika — *Populus tremula* L. náležející k sekci *Leuce*, podsekce *Trepidae*, podobně jako ostatní druhy topolů, byla téměř předurčena k prvním rozsáhlejším šlechtitelským pracím, zejména pro jejich jednoduchost a možnost křížení i na uříznutých větvích ve vodných kulturách (Wettstein, 1937). V neposlední řadě i pro široký areál jejího rozšíření

a především pro produkci kvalitního dřeva pro speciální účely dřevozpracujícího průmyslu.

Spotřeba osikového dřeva v ČSSR neustále stoupá a až na nepatrné výjimky tuto spotřebu kryjeme dovozem z SSSR. Přitom osika je naší autochtonní dřevinou, která je zastoupena v lesních porostech od pahorkatin až po nadmořské výšky 1000 m (i nad 1000 m), čímž je naznačena její velká ekologická amplituda (Pospíšil, 1958; Z á c h e j, 1970; Mottl a Prudič, 1973). Dosud se jí však nepodařilo plně využít pro potřeby našeho národního hospodářství. Tento nedostatek je do jisté míry způsoben nedostatečnou péčí o tuto dřevinu, která byla a mnohdy tomu tak je ještě dnes, intenzívně z lesních porostů, zejména v mladších věkových třídách, odstraňována. Při zvýšené pěstitelské péči, zavedením produktivnějších a vůči chorobám odolnějších hybridů, můžeme však omezit dovoz na minimum.

Problematika zdravotního stavu osiky, zejména odolnosti proti jádrové hnilobě, způsobené chorošovitou houbou *Phellinus igniarius* f. *tremulae* Bond., řeší mnohé šlechtitelské práce a je možno konstatovat, že v dnešní době jsou již získáni hybridi odolní proti jádrové hnilobě. Rovněž zjištění odolnosti proti průmyslovým exhalacím v současné době znovu zvýšilo zájem o tuto dřevinu (M a t e r n a, 1978; P o s p í š i l, 1980, 1985).

Z velkého počtu prací, zabývajících se šlechtěním osiky, je možno uvést dnes již klasické práce, které provedl J a b l o k o v (1939), dále pak A r a š e n k o a O r l e n k o (1957); B o u v a r e l (1959); B ö r s e t (1962); E i n s p a h r a B e n s o n (1964); E i n s p a h r e t a l. (1963); I v a n n i k o v (1959); I v a n e s c u (1966); J o h n s s o n (1956); M a r c e t (1963); M e l c h i o r a S e i t z (1966); S c h ö n b a c h (1957) aj.

Také v ČSSR má šlechtění osiky, speciálně generativní hybridizace, bohatou tradici. Jsou to práce, které publikovali: B i e l i k o v á (1978); M o t t l a P r u d i č (1973); M o t t l a Š p a l e k (1961); P e š i n a (1961); P o s p í š i l (1956, 1958, 1972, 1985); V i n c e n t a Š p a l e k (1954); V o j t u š (1973); Z á c h e j (1970).

Získané výsledky uváděných autorů dokazují kladný vliv šlechtění osiky, zejména záměrné hybridizace na zvýšení produkční schopnosti i odolnosti získaných hybridních potomstev při použití vhodných rodičovských partnerů.

METODA

K dosažení stanovených šlechtitelských cílů s osikou byla volena metoda záměrné generativní hybridizace vybraných rodičovských partnerů. Výchozím materiálem pro generativní hybridizaci byli voleni vynikající samičí jedinci z ČSSR a vynikající samčí jedinci z ČSSR i zahraničí.

Křížení byla prováděna jak na rostoucích samičích jedincích, tak i na uříznutých větvích ve vodných kulturách. Získaná hybridní semena i semena kontrolní (volné opylení) byla vysévána do bedniček se zeminou ve skleníku, později do rašelinových substrátů a hydroponie v plastických krytech.

Hybridní i kontrolní semenáčky z bedniček byly pikýrovány do PE sáčků a po dosažení průměrné výšky 10 cm přesazeny na plochu školky. Jako jednoletky v příštím jarním období byly sazenice vyzvednuty, provedena selekce, měření a vysazeny na trvalé výzkumné plochy. Při výsevech do rašelinových substrátů a hydroponie v plastických krytech byly semenáčky vyzvednuty na podzim téhož vegetačního období, provedena selekce, měření a v příštím jarním období vysazeny na trvalé výzkumné plochy.

Na výzkumných plochách byly hybridní sazenice vysazeny jamkovou sadbou ve sponu 2 × 2 m, resp. 3 × 3 m. Rozmístění potomstev jednotlivých kombinací v řadách, později ve skupinách po 25 ks, rozmístěných na ploše podle počtu získaných sazenic v jednotlivých kombinacích křížení.

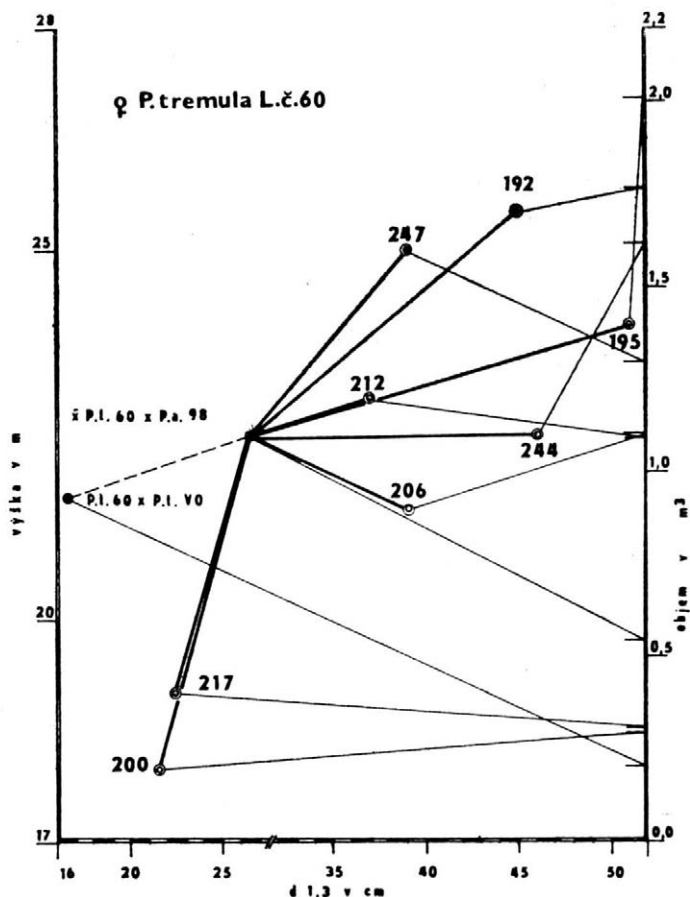
Hybridní jedinci na výzkumných plochách byli každoročně měřeni do věku pěti let (tloušťka v krčku kořenovém, po dosažení příslušné výšky v $d_{1,3}$ a výška). V dalším období bylo měření prováděno v pětiletých intervalech. V době měření bylo provedeno hodnocení zdravotního stavu, fenologická pozorování, zjišťování zastoupení pohlaví i kvalitativního hodnocení použitím klasifikace Katedry pěstění lesů (KPL) aj. Hodnocení nejsou zahrnuta v předložené práci.

Zvlášť vynikající jedinci, kteří v průběhu pěti až deseti let projevili výrazný heterozní efekt, byli množeni vegetativně — roubováním na podnože, vypěstované ze semen téhož mateřského jedince. Takto získaná klonová potomstva byla rovněž vysazena na trvalé výzkumné plochy.

Část ♀ i ♂ jedinců použitých pro kombinační křížení, kteří v průběhu šlechtitelských prací s osikou projevili kladné genotypové vlastnosti a vyselektováni vynikající jedinci, byli zařazeni do hlavové školky k produkci roubů pro další vegetativní množení.

Výpočet stromového objemu i předpokládaných zásob v $m^3 \cdot ha^{-1}$ byl proveden podle tabulek, které zpracoval Krüdenner a Orlov (1931) a Halaj (1963). Zásoba na 1 ha byla propočtena za předpokladu 1111 jedinců na 1 ha při sponu 3 × 3 m u hybridů osiky a 625 jedinců na 1 ha při sponu 4 × 4 m u hybridů osiky s topolem bílým, případně topolem šedým.

Rozdíly získaných výsledků pro rok 1980 (výška V, tloušťka T, objem O) byly testovány za použití Duncanova testu, Snedecorova F-rozdělení a jsou uvedeny



1. Průměrné výšky, tloušťky, objem vybraných potomstev křížení a vybraných hybridů — Mean heights, diameters and volumes of the selected cross progenies and hybrids

I. Přehled hodnocených kombinací křížení z roku 1955 — A survey of the cross combinations from 1955 subjected to evaluation

♀	×	♂	Hybrid č.
<i>Populus tremula</i> L. č. 60 Brno		<i>P. tremula</i> L. volné opylení <i>P. tremula</i> L. č. 83 Brno <i>P. tremula</i> L. č. 75 Chlum u Třeboně <i>P. tremula</i> L. č. 73 Vysoký Chlumec <i>P. tremula</i> L. č. 1 Lubochňa-Veličná <i>P. tremula</i> L. Brno	
		<i>P. tremula</i> L. směs pylu (č. 83, 84, 73, 75)	1572
		<i>P. alba</i> L. č. 98 Brno	192, 195, 200, 206, 212, 217, 244, 247
<i>Populus tremula</i> L. č. 80 Brno		<i>P. tremula</i> L. č. 83	483
		<i>P. tremula</i> L. č. 75 <i>P. tremula</i> L. č. 1 <i>P. tremula</i> L. č. 2 Lubochňa-Veličná	
		<i>P. tremula</i> L. č. 6 Podolinec-Mníšek	1950, 1954
		<i>P. tremula</i> L. Varšava	
		<i>P. tremuloides</i> Michx. č. 97 Kanada	1646, 1648, 1650, 1651, 1652, 1654, 1655, 1656, 1660, 1662, 1668, 1669
<i>Populus tremula</i> L. č. 81 Brno		<i>P. tremula</i> L. č. 21 Vrbové Dechtice	1127, 1173, 1192, 1240, 1242, 1265
		<i>P. tremula</i> L. č. 22 Vrbové Dechtice	1285, 1362, 1367
		<i>P. tremula</i> L. č. 75 Chlum u Třeboně	1418, 1423, 1436
		<i>P. tremula</i> L. č. 73 Vysoký Chlumec	722, 729, 769, 841, 866, 878, 929, 931, 973

v příslušných tabulkách. Vzhledem k tomu, že se nepodařilo u všech mateřských stromů získat potomstvo z volného opylení, bylo testování provedeno v průměru všech potomstev, získaných na každém mateřském stromu (x̄). V případě použití opylitele *Populus alba* L. bylo testování provedeno s potomstvy *P. tremula* L. a zvlášť s potomstvy *P. tremula* L. a *P. alba* L.

II. Průměrné výšky (m), tloušťky $d_{1,3}$ (cm) hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců ♀ *P. tremula* L. č. 60 — The mean heights (m) and $d_{1,3}$ diameters (cm) in the cross combinations and selected ♀ individuals of *P. tremula* L. no. 60

♀ (hybrid č.)	Rok					
	1955	1960	1965	1970	1975	1980
Výšky:						
<i>P. t.</i> VO	0,07	1,70	7,38	13,30	19,87	21,63
<i>P. t.</i> č. 83	0,31	1,43	5,34	8,82	13,83	15,08
<i>P. t.</i> č. 75	0,06	1,69	6,54	10,35	12,00	22,32
<i>P. t.</i> č. 73	0,12	1,78	6,41	11,87	18,80	22,50
<i>P. t.</i> č. 1	0,05	1,48	6,28	11,17	18,43	21,43
<i>P. t.</i> Brno	0,20	1,91	4,25	9,48	13,45	15,50
<i>P. t.</i> směs pylu 1572	0,07	3,66	9,31	15,50	20,90	23,05
	0,10	5,20	10,90	17,80	21,50	24,00
<i>P. a.</i> č. 98	0,37	3,50	9,43	15,54	20,54	22,50
	192	0,49	4,50	10,90	15,50	24,00
	195	0,40	4,50	10,60	18,50	23,00
	200	0,29	4,85	10,20	15,00	16,50
	206	0,46	3,10	8,00	15,00	20,00
	212	0,56	3,20	8,90	16,50	22,00
	217	0,34	4,50	9,60	14,60	18,00
	244	0,30	5,20	12,00	19,00	21,00
	247	0,41	5,20	13,00	19,50	24,00
Tloušťky:						
<i>P. t.</i> VO	0,54*	0,80	6,32	11,36	14,50	16,50
<i>P. t.</i> č. 83	1,25	1,17	3,92	8,13	13,20	19,34
<i>P. t.</i> č. 75	0,61	0,71	6,23	12,41	16,51	19,79
<i>P. t.</i> č. 73	0,60	0,93	5,63	10,70	15,80	17,50
<i>P. t.</i> č. 1	0,58	0,61	5,66	9,86	16,00	18,36
<i>P. t.</i> Brno	0,90	1,37	4,93	9,00	12,61	17,10
<i>P. t.</i> směs pylu 1572	0,61	2,00	8,81	14,17	17,40	20,00
	0,90	3,00	11,50	17,60	21,00	29,00
<i>P. a.</i> č. 98	1,19	2,28	10,18	17,69	24,88	26,66
	192	1,30	3,40	14,90	25,30	36,00
	195	1,20	4,30	16,20	29,50	42,00
	200	0,80	3,00	10,00	15,90	18,00
	206	1,70	1,60	9,10	21,50	34,50
	212	1,60	1,90	9,10	18,00	31,00
	217	1,30	2,70	9,60	15,20	19,50
	244	1,20	5,20	16,50	27,70	36,50
	247	1,20	3,40	15,20	25,40	33,00

* — v roce 1955 tloušťka v krčku kořenovém

P. t. VO — *P. tremula* L. volné opylení

P. t. č. 83 — *P. tremula* L. č. 83

P. a. č. 98 — *P. alba* L. č. 98

VÝSLEDKY A JEJICH ZPRACOVÁNÍ

Za období 1952 až 1987 bylo provedeno 895 kombinací křížení. Získaná hybridní potomstva byla vysazována na trvalé i poloproduktivní plochy,

III. Počet jedinců v jednotlivých letech a přirozený úhyn hodnocených kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 60 — The number of individuals in the years of investigation and the natural mortality of the cross combinations of the ♀ individuals of *P. tremula* L. no. 60

♂	Rok							Úhyn celkem	
	1955	1960	1965	1970	1975	1980		[ks]	[%]
						[ks]	[%]		
<i>P. t.</i> VO	10	7	5	5	4	4	40	6	60
<i>P. t.</i> č. 83	89	59	28	27	13	13	15	76	85
<i>P. t.</i> č. 75	50	40	24	22	16	14	28	36	72
<i>P. t.</i> č. 73	16	14	9	9	5	5	31	11	69
<i>P. t.</i> č. 1	38	27	15	13	7	7	18	31	82
<i>P. t.</i> Brno	72	58	35	30	5	5	7	67	93
<i>P. t.</i> směs pylu	30	25	17	16	10	9	30	21	70
<i>P. a.</i> č. 98	150	132	97	81	38	37	25	113	75

na kterých je sledován jejich růst a vývoj. Tyto plochy jsou založeny v oblasti LZ Buchlovice, LZ Kašperské Hory, LZ Klášterec nad Ohří, ŠLP Křtiny, LZ Litovel, LZ Litvínov, LZ Ostravice, SLTŠ Trutnov a LZ Znojmo.

Nejstarší plochy jsou umístěny na ŠLP Křtiny (Sokolnice a Rajhrad, byly založeny jako mezinárodní plochy v rámci RVHP) a LZ Znojmo.

Plocha umístěná na ŠLP Křtiny VŠZ Brno, Sokolnice, je předmětem hodnocení této práce.

Plocha Sokolnice A (nadmořská výška 210 m, reliéf terénu: — rovina, geologický podklad — aluviální náplavy, půda — černozem, průměrná roční teplota 9 °C, průměrné srážky 461 mm) byla založena v roce 1956 výsadbou sazenic potomstev hybridního původu z kombinačního křížení, uskutečněného v roce 1955 i sazenic kontrolních. Bylo celkem vysazeno 50 kombinací křížení ve sponu 2 × 2 m. Porost byl záměrně ponechán přirozenému vývoji bez výchovného zásahu, s výjimkou vyvětvění.

V uváděných výsledcích je pozornost zaměřena na ♀ jedince a potomstva těch kombinací křížení, ze kterých byli vyselektováni jedinci, vyznačující se heterozním efektem a byli navrženi k dalšímu vegetativnímu — klonovému množení. Někteří z těchto vyselektovaných jedinců byli již v roce 1965 namnoženi a vysazeni na výzkumnou plochu Sokolnice B, takže je možno i tato klonová potomstva ve věku 15 let porovnávat s výchozími jedinci.

Hodnocení potomstev bylo provedeno u tří použitých ♀ jedinců a 12 ♂ jedinců-opylitelů (tab. I).

Mateřský strom *Populus tremula* L. č. 60

Dendrometrické údaje získaných potomstev i vyselektovaných jedinců v průběhu pětiletých období roku 1955 až 1980 jsou uvedeny v tab. II,

IV. Průměrný objem a zásoba hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců v roce 1980 (25 let) ♀ *P. tremula* L. č. 60 — The mean volume and the growing stock of the cross combinations and selected individuals in 1980 (25 years) in the ♀ trees of *P. tremula* L. no. 60

♂ (hybrid č.)	Výška [V]	Tloušťka $d_{1,3}$	Objem	
			[m ³ .ks ⁻¹]	[m ³ .ha ⁻¹]
<i>P. t.</i> VO	21,63	16,50	0,217	241,09
<i>P. t.</i> č. 83	15,08	19,34	0,205	227,76
<i>P. t.</i> č. 75	22,32	19,79	0,317	352,19
<i>P. t.</i> č. 73	22,50	17,50	0,252	279,98
<i>P. t.</i> č. 1	21,43	18,36	0,263	292,19
<i>P. t.</i> Brno	15,50	17,10	0,166	184,42
<i>P. t.</i> směs pylu 1572	23,05	20,00	0,333	369,97
	24,00	29,00	0,683	758,81
<i>P. a.</i> č. 98	22,50	26,66	0,568	355,00
192	25,50	45,00	1,776	1110,00
195	24,00	51,00	2,054	1283,75
200	18,00	21,50	0,299	186,88
206	21,50	39,30	1,148	717,50
212	23,00	37,30	1,121	700,63
217	19,00	22,50	0,328	205,00
244	22,50	46,00	1,635	1021,88
247	25,00	39,00	1,316	822,50
$\bar{x}$ <i>P. t.</i>	19,97	18,68	0,256	
$\bar{x}$ <i>P. t.</i> + <i>P. a.</i>	20,38	19,48	0,300	

$\bar{x}$ zásoba potomstev kombinací křížení i objem vyselektovaných jedinců v tab. III a na obr. 1.

Z tab. II vyplývá (ve srovnání s volným opylením — kontrola), že v roce 1980 je to opylitel *Populus tremula* L. č. 73 a *P. tremula* L. č. 75 jejichž potomstva v $\bar{x}$ výšce předstihují potomstvo kontrolní a opylitel *P. tremula* L. č. 1, jehož potomstvo se přibližuje kontrole. Kladně se také projevilo použití směsi pylu i použití opylitele *P. alba* L. č. 98 při mezi-druhovém hybridizaci. V $\bar{x}$ tloušťce potomstva všech opylitelů předstihují kontrolní potomstvo.

K dalšímu vegetativnímu množení vyselektování jedinci ve výšce předstihují $\bar{x}$ potomstva, s výjimkou jedince č. 200, 206, 217 opylitele *P. alba* L. č. 98. Stejně tak i v tloušťce, s výjimkou jedince č. 200 a č. 217 téhož opylitele. Uvedení tři jedinci byli však vybráni pro mimořádnou tvárnost kmene a jemné ovětvení (výběr proveden obdobně i u ♀ č. 80 a č. 81 *P. tremula* L.).

V. Testování rozdílů výšek (V), tloušťek $d_{1,3}$ (T), objemu (O) hodnocení kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 60 — Testing the differences in heights (V), diameters $d_{1,3}$ (T), and volumes (O) in the cross combinations of ♀ *P. tremula* L. no. 60

D_p	V	T	O
♀ <i>P. t.</i> č. 60			
<i>P. t.</i> VO : <i>P. t.</i> č. 83	4,46 ⁺⁺	1,33 ⁻	0,24 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	0,47 ⁻	1,55 ⁻	1,89 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 73	0,50 ⁻	0,40 ⁻	0,57 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 1	0,12 ⁻	0,80 ⁻	0,79 ⁻
: <i>P. t.</i> Brno	3,40 ⁺	0,24 ⁻	0,82 ⁻
: <i>P. t.</i> směs	0,92 ⁻	1,56 ⁻	2,09 ⁻
	<i>F</i> 7,97 ⁺⁺	0,45 ⁻	1,83 ⁻
<i>P. t.</i> VO : <i>P. t.</i> č. 83	3,48 ⁺	0,67 ⁻	0,09 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	0,36 ⁻	0,78 ⁻	0,74 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 73	0,39 ⁻	0,20 ⁻	0,22 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 1	0,10 ⁻	0,40 ⁻	0,31 ⁻
: <i>P. t.</i> Brno	2,78 ⁻	0,12 ⁻	0,32 ⁻
: <i>P. t.</i> směs	0,77 ⁻	0,78 ⁻	0,82 ⁻
: <i>P. a.</i> č. 98	0,05 ⁻	2,77 ⁻	2,82 ⁻
	<i>F</i> 4,53 ⁺⁺	2,27 ⁺	3,45 ⁺⁺

⁻ rozdíly neprůkazné, insignificant differences

⁺ rozdíly průkazné $\alpha = 0,05$, significant differences at $\alpha = 0.05$

⁺⁺ rozdíly vysoko průkazné $\alpha = 0,01$, highly significant differences at $\alpha = 0.01$

Uvedeným hodnotám potom odpovídají i zásoby (tab. IV). Z uvedené tabulky je patrné, že je to právě vliv mezidruhové hybridizace i použití směsi pylu, poskytující výrazný heterozní efekt vyselektovaných jedinců.

Z tab. III je patrné, že vlivem přirozeného výběru uhynulo v průběhu 25 let, při uvedeném sponu 2×2 m, v $\bar{x}$ 75,8 % jedinců všech potomstev.

Z tab. V vyplývá, že rozdíly $\bar{x}$ (V, T, O) získaných potomstev opylitelů *P. tremula* s potomstvem volného opylení jsou neprůkazné, s výjimkou V u opylitele *P. tremula* L. č. 83 a opylitele *P. tremula* L. Brno; s potomstvy *P. tremula* včetně *P. alba* jsou rovněž neprůkazné, s výjimkou V u opylitele *P. tremula* L. č. 83.

Z tab. VI vyplývá, že rozdíly $\bar{x}$ V, T, O potomstev:

a) všech použitých opylitelů *P. tremula* k jejich celkovému $\bar{x}$ jsou neprůkazné, s výjimkou V u opylitele *P. tremula* L. č. 83, *P. tremula* L. č. 75, *P. tremula* L. Brno, *P. tremula* L. směs pylu, jejichž hodnoty jsou průkazné až vysoko průkazné;

b) všech použitých opylitelů *P. tremula* včetně *P. alba* jsou rovněž neprůkazné, s výjimkou V u opylitele *P. tremula* L. č. 83, T, O u opylitele *P. alba* L. č. 98, jejichž hodnoty jsou vysoko průkazné.

VI. Testování rozdílů výšek (V), tlouštěk $d_{1,3}$ (T), objemu (O) hodnocených kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 60 — Testing the differences in heights (V), diameters $d_{1,3}$ (T), and volumes (O) in the cross combinations of ♀ *P. tremula* L. no. 60

D_p	V	T	O
$\bar{x}$ <i>P. t.</i> : <i>P. t.</i> č. 83	6,04 ⁺⁺	0,55 ⁻	1,97 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	3,01 ⁺	0,95 ⁻	2,39 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 73	2,06 ⁻	0,65 ⁻	0,09 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 1	1,38 ⁻	0,21 ⁻	0,21 ⁻
: <i>P. t.</i> Brno	3,64 ⁺	0,87 ⁻	2,28 ⁻
: <i>P. t.</i> směs	3,26 ⁻	0,95 ⁻	2,56 ⁻
	<i>F</i> 9,09 ⁺⁺	0,34 ⁻	15,47 ⁺⁺
$\bar{x}$ <i>P. t.</i> : <i>P. t.</i> č. 83	5,18 ⁺⁺	0,25 ⁻	1,33 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	2,20 ⁻	0,05 ⁻	0,24 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 73	1,50 ⁻	0,70 ⁻	0,43 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 1	0,93 ⁻	0,52 ⁻	0,38 ⁻
: <i>P. t.</i> Brno	3,07 ⁺	0,81 ⁻	1,21 ⁻
: <i>P. t.</i> směs	2,44 ⁻	0,04 ⁻	0,40 ⁻
: <i>P. a.</i> č. 98	2,06 ⁻	5,01 ⁺⁺	5,65 ⁺⁺
	<i>F</i> 5,10 ⁺⁺	2,25 ⁺⁺	3,12 ⁺⁺

Mateřský strom *Populus tremula* L. č. 80

Dendrometrické údaje potomstev i vyselektovaných jedinců jsou uvedeny v tab. VII, $\bar{x}$ zásoba potomstev kombinací křížení i objem vyselektovaných jedinců v tab. VIII. Vzhledem k tomu, že u tohoto mateřského stromu nebylo získáno potomstvo z volného opylení, je pro porovnání volen průměr ($\bar{x}$) potomstev všech kombinací na tomto mateřském stromě.

Z tab. VIII vyplývá, že v roce 1980 jsou to opylitelé *P. tremula* L. č. 6, *P. tremula* L. Varšava a *P. tremuloides* Michx. č. 97, jejichž potomstva v $\bar{x}$ výšce předstihují $\bar{x}$ potomstev, v $\bar{x}$ tloušťce pouze potomstva opylitelů *P. tremula* L. č. 83 a *P. tremuloides* Michx. č. 97 (obr. 2).

K dalšímu vegetativnímu množení vyselektování jedinci ve výšce předstihují $\bar{x}$ výšku potomstva téhož opylitele, s výjimkou jedince č. 1950 opylitele *P. tremula* L. č. 6 a jedince č. 1651, 1652, 1655, 1660, 1668, 1669 opylitele *P. tremuloides* Michx. č. 97. V tloušťce jedinec č. 1950 a jedinec č. 1652, 1656, 1662, 1668 zaostávají za $\bar{x}$ téhož potomstva.

Z tab. VIII je patrné, že $\bar{x}$ zásoba u potomstva použitých opylitelů i objem vybraných jedinců je vyšší $\bar{x}$ potomstev při použití opylitele *P. tremula* L. č. 6 a *P. tremuloides* Michx. č. 97. Objem vyselektovaných jedinců převyšuje $\bar{x}$ potomstva téhož opylitele s výjimkou jedince č. 1950 opylitele *P. tremula* L. č. 6, jedince č. 1652, 1662, 1668, 1669 opylitele *P. tremuloides* Michx. č. 97. Také v tomto případě je patrný výrazný vliv mezidruhově hybridizace.

VII. Průměrné výšky (m), tloušťky $d_{1,3}$ (cm) hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců ♀ *P. tremula* L. č. 80 — The mean heights (m) and diameters $d_{1,3}$ (cm) of the cross combinations and selected individuals of ♀ *P. tremula* L. no. 80

♂ (hybrid č.)	Rok					
	1955	1960	1965	1970	1975	1980
Výšky:						
<i>P. t.</i> č. 83	0,28	3,05	7,96	13,86	18,60	21,50
483	0,30	4,40	9,00	13,80	21,00	22,50
<i>P. t.</i> č. 75	0,13	2,22	7,34	12,68	18,57	21,14
<i>P. t.</i> č. 73	0,15	2,33	8,31	13,37	18,93	21,23
<i>P. t.</i> č. 1	0,12	1,93	7,14	10,77	17,08	19,62
<i>P. t.</i> č. 2	0,10	2,61	9,40	12,93	19,20	20,60
<i>P. t.</i> č. 6	0,12	4,45	10,02	16,31	20,47	22,57
1950	0,15	4,60	9,50	16,30	20,00	21,50
1954	0,12	4,60	11,00	17,80	23,00	25,00
<i>P. t.</i> Varšava	0,09	2,10	8,41	13,31	20,38	22,43
<i>P. ides</i> č. 97	0,15	4,67	11,58	18,40	22,00	24,54
1646	0,18	5,15	12,00	18,50	24,50	26,00
1648	0,15	3,95	12,20	19,80	26,00	28,00
1650	0,22	3,90	11,20	19,00	23,50	25,00
1651	0,09	5,00	12,50	19,50	21,50	21,50
1652	0,15	4,15	12,00	18,00	22,50	24,00
1654	0,09	5,80	13,00	21,40	24,00	26,50
1655	0,14	5,20	13,20	18,00	22,00	23,00
1656	0,08	5,00	11,50	16,00	24,00	25,50
1660	0,09	4,56	11,00	19,70	22,00	23,50
1662	0,17	4,85	10,50	18,00	20,50	22,00
1668	0,25	3,90	10,60	17,30	19,00	20,50
1669	0,18	4,70	10,80	18,40	20,00	22,00
Tloušťky:						
<i>P. t.</i> č. 83	0,31*	1,45	7,88	14,28	17,60	20,11
483	0,91	2,90	10,20	16,30	17,90	22,40
<i>P. t.</i> č. 75	0,98	1,48	6,55	11,82	14,51	18,95
<i>P. t.</i> č. 73	1,09	1,78	6,27	12,31	14,23	18,52
<i>P. t.</i> č. 1	1,11	1,32	6,74	10,79	14,72	17,33
<i>P. t.</i> č. 2	0,58	1,45	7,37	12,63	17,00	18,00
<i>P. t.</i> č. 6	0,12	2,76	10,39	15,44	18,84	20,67
1950	0,15	3,00	9,70	13,50	15,50	20,20
1954	0,12	2,70	12,10	17,40	23,50	30,10
<i>P. t.</i> Varšava	0,81	1,07	7,45	9,84	15,90	18,63
<i>P. ides</i> č. 97	0,15	3,04	11,86	19,12	22,85	25,77
1646	0,18	3,20	12,80	21,40	27,00	33,00
1648	0,15	2,30	11,70	22,80	27,50	31,00
1650	0,22	2,30	10,60	20,80	24,50	30,00
1651	0,09	3,50	11,90	17,80	19,00	29,00
1652	0,15	2,60	10,50	17,80	21,50	22,00
1654	0,09	4,40	14,20	21,40	26,50	30,00
1655	0,14	4,40	12,90	20,20	23,00	26,00
1656	0,08	2,90	12,40	18,80	21,00	25,00
1660	0,09	2,70	12,50	19,40	25,00	28,00
1662	0,17	3,10	13,00	18,00	22,50	24,00
1668	0,25	2,40	10,60	16,60	21,00	23,00
1669	0,18	2,90	11,70	19,10	23,50	26,00

P. ides č. 97 — *P. tremuloides* Michx. č. 97

* — tloušťky v krčku kořenovém

VIII. Průměrný objem a zásoba hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců v roce 1980 (25 let) ♀ *P. tremula* L. č. 80 — The mean volume and growing stock of the cross combinations and selected individuals in 1980 (25 years) in ♀ *P. tremula* L. no. 80

♂ (hybrid č.)	Výška	Tloušťka $d_{1,3}$	Objem	
			[m ³ .ks ⁻¹]	[m ³ .ha ⁻¹]
<i>P. t.</i> č. 83	21,50	20,11	0,300	333,30
483	22,50	22,40	0,398	442,18
<i>P. t.</i> č. 75	21,14	18,95	0,276	306,64
<i>P. t.</i> č. 73	21,23	18,52	0,266	295,53
<i>P. t.</i> č. 1	19,62	17,33	0,217	241,09
<i>P. t.</i> č. 2	20,60	18,00	0,300	333,30
<i>P. t.</i> č. 6	22,57	20,67	0,348	386,63
1950	21,50	20,20	0,317	352,19
1954	25,00	30,10	0,795	883,25
<i>P. t.</i> Varšava	22,43	18,63	0,284	315,52
<i>P. ides</i> č. 97	24,54	25,77	0,578	642,16
1646	26,00	33,00	0,989	1098,78
1648	28,00	31,00	0,944	1048,78
1650	25,00	30,00	0,790	877,69
1651	21,50	29,00	0,697	774,37
1652	24,00	22,00	0,382	424,40
1654	26,50	30,00	0,838	931,02
1655	23,00	26,00	0,551	612,16
1656	25,50	25,00	0,568	631,05
1660	23,50	28,00	0,650	722,15
1662	22,00	24,00	0,452	502,17
1668	20,50	23,00	0,389	432,18
1669	22,00	26,00	0,527	585,50
∅ $\bar{x}$	21,54	19,75	0,321	356,63

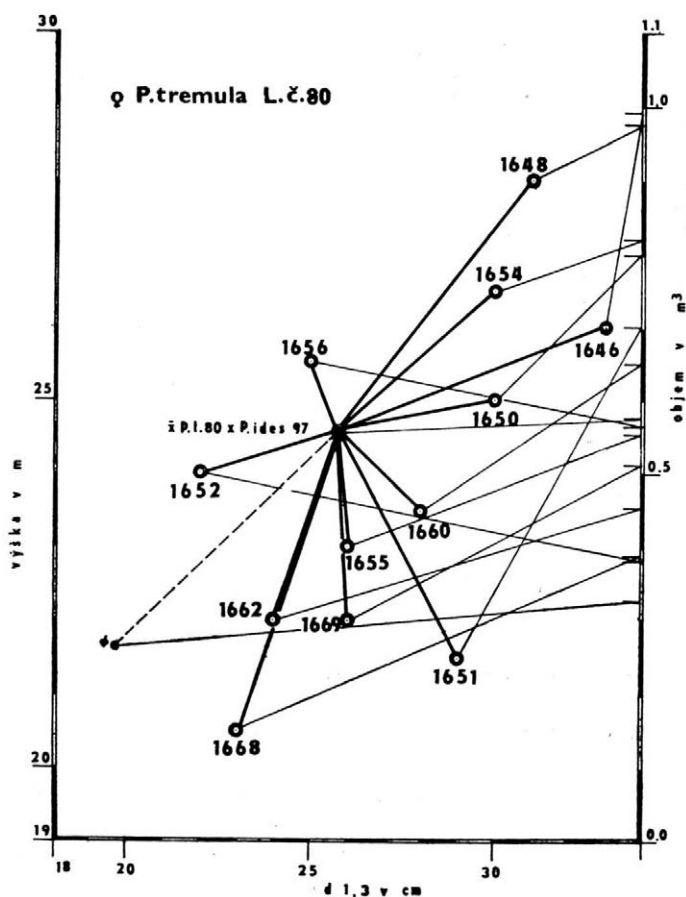
Z tab. IX je patrné, že vlivem přirozeného výběru uhynulo v průběhu 25 let v $\bar{x}$ 75,5 % jedinců všech potomstev tohoto mateřského stromu.

Z tab. X vyplývá, že rozdíly $\bar{x}$ V, T, O potomstev všech použitých opylitelů k jejich celkovému $\bar{x}$ jsou neprůkazné, s výjimkou T, O u opylitele *P. tremula* L. č. 75, *P. tremula* L. č. 1 a *P. tremuloides* Michx. č. 97, jejichž hodnoty jsou průkazné až vysoko průkazné.

IX. Počet jedinců v jednotlivých letech a přirozený úhyn hodnocených kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 80 — The numbers of individuals in the years of investigation and the natural mortality in the cross combinations of ♀ *P. tremula* L. no. 80

♂	Rok							Úhyn celkem	
	1955	1960	1965	1970	1975	1980		[ks]	[%]
						[ks]	[%]		
<i>P. t.</i> č. 83	115	36	31	29	20	9	8	106	92
<i>P. t.</i> č. 75	166	107	84	82	59	57	34	109	66
<i>P. t.</i> č. 73	140	97	83	69	40	35	25	105	75
<i>P. t.</i> č. 1	96	40	21	19	11	10	10	86	90
<i>P. t.</i> č. 2	33	14	9	9	5	5	15	28	85
<i>P. t.</i> č. 6	41	28	23	21	16	14	34	27	66
<i>P. t.</i> Varšava	33	25	17	17	8	8	24	25	76
<i>P. ides</i> č. 97	28	21	13	13	13	13	46	15	45

2. Průměrné výšky, tloušťky, objem vybraných potomstev křížení a vybraných hybridů — Mean heights, diameters and volumes of the selected cross progenies and hybrids



X. Testování rozdílů výšek (V), tlouštěk $d_{1,3}$ (T), objemu (O) hodnocených kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 80; ♀ *P. tremula* L. č. 81; ♂ *P. tremula* L. č. 75; ♂ *P. tremula* L. č. 73 — Testing the differences in the heights (V), diameters $d_{1,3}$ (T) and volumes (O) of the cross combinations of ♀ *P. tremula* L. no. 80; ♀ *P. tremula* L. no. 81; ♂ *P. tremula* L. no. 75; ♂ *P. tremula* L. no. 73

D_p	V	T	O
♀ <i>P. t.</i> č. 80			
$\bar{x}$ <i>P. t.</i> : <i>P. t.</i> č. 83	0,03 ⁻	0,71 ⁻	0,55 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	0,64 ⁻	3,50 ⁺	3,58 ⁺
: <i>P. t.</i> č. 73	0,41 ⁻	4,46 ⁺⁺	4,60 ⁺⁺
: <i>P. t.</i> č. 1	1,45 ⁻	5,04 ⁺⁺	4,85 ⁺⁺
: <i>P. t.</i> č. 2	0,51 ⁻	2,62 ⁻	0,41 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 6	0,91 ⁻	2,24 ⁻	0,87 ⁻
: <i>P. t.</i> Varšava	0,62 ⁻	2,10 ⁻	0,90 ⁻
: <i>P. ides</i> č. 98	2,56 ⁻	14,18 ⁺⁺	7,86 ⁺⁺
	<i>F</i> 0,84 ⁻	21,60 ⁺⁺	9,30 ⁺⁺
♀ <i>P. t.</i> č. 81			
$\bar{x}$ <i>P. t.</i> : <i>P. t.</i> č. 21	0,21 ⁻	0,43 ⁻	0,51 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 22	1,48 ⁻	0,29 ⁻	0,02 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 75	1,02 ⁻	0,63 ⁻	0,58 ⁻
: <i>P. t.</i> č. 73	0,56 ⁻	1,29 ⁻	1,68 ⁻
	<i>F</i> 0,78 ⁻	0,24 ⁻	0,71 ⁻
♂ <i>P. t.</i> č. 75			
♀ <i>P. t.</i> č. 80 : ♀ <i>P. t.</i> č. 60	1,18 ⁻	0,86 ⁻	1,22 ⁻
: ♀ <i>P. t.</i> č. 81	0,86 ⁻	1,39 ⁻	0,87 ⁻
♀ <i>P. t.</i> č. 60 : ♀ <i>P. t.</i> č. 81	0,28 ⁻	0,40 ⁻	0,35 ⁻
	<i>F</i> 0,46 ⁻	0,58 ⁻	0,49 ⁻
♂ <i>P. t.</i> č. 73			
♀ <i>P. t.</i> č. 80 : ♀ <i>P. t.</i> č. 60	0,93 ⁻	0,66 ⁻	0,93 ⁻
: ♀ <i>P. t.</i> č. 81	1,24 ⁻	2,07 ⁻	0,80 ⁻
♀ <i>P. t.</i> č. 60 : ♀ <i>P. t.</i> č. 81	0,21 ⁻	1,04 ⁻	1,43 ⁻
	<i>F</i> 1,13 ⁻	0,39 ⁻	0,69 ⁻

Mateřský strom *Populus tremula* L. č. 81

Dendrometrické údaje potomstev i vyselektovaných jedinců jsou uvedeny v tab. XI, XII, $\bar{x}$ zásoba potomstev kombinací křížení i objem vyselektovaných jedinců v tab. XIV. Také u tohoto mateřského stromu ne-

XI. Průměrné výšky (m) hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců ♀ *P. tremula* L. č. 81 — The mean heights (m) of the cross combinations and selected individuals of ♀ *P. tremula* L. no. 81

♂ (hybrid č.)	Rok					
	1955	1960	1965	1970	1975	1980
<i>P. t.</i> č. 21	0,17	1,88	7,66	13,36	18,96	22,32
1127	0,27	3,50	10,00	16,90	20,50	24,00
1173	0,17	3,65	9,40	16,60	22,00	24,00
1192	0,15	4,15	10,40	15,40	20,00	22,50
1240	0,21	4,70	11,30	17,00	19,00	22,50
1242	0,32	3,95	10,70	19,00	20,00	23,00
1265	0,85	4,30	11,50	16,70	21,50	24,50
<i>P. t.</i> č. 22	0,16	1,80	6,91	13,70	19,41	22,87
1285	0,12	4,25	10,00	17,60	23,00	24,00
1362	0,12	2,90	9,30	17,00	21,00	24,00
1367	0,21	2,38	8,30	16,00	21,00	23,50
<i>P. t.</i> č. 75	0,23	2,20	7,61	13,64	19,20	21,97
1418	0,19	3,30	10,20	18,00	20,00	23,00
1423	0,20	4,00	10,00	16,40	21,00	23,50
1436	0,15	4,50	11,70	16,20	21,00	23,50
<i>P. t.</i> č. 73	0,19	2,12	8,10	13,50	17,46	22,26
722	0,23	5,60	12,80	17,20	19,00	22,00
729	0,36	3,85	10,70	17,00	20,00	23,50
769	0,18	5,95	15,25	18,00	22,00	23,00
841	0,18	2,67	10,00	15,00	18,50	23,50
866	0,20	5,60	13,50	18,40	22,00	23,50
878	0,14	3,90	10,40	14,80	21,00	24,00
929	0,50	3,70	9,50	17,20	23,50	24,50
931	0,31	5,10	13,80	22,00	24,00	25,50
973	0,14	3,80	10,50	16,80	20,00	24,00

bylo získáno potomstvo z volného opylení. Pro porovnání byl proto, jako u mateřského stromu č. 80, volen $\bar{x}$ všech potomstev použitých opylitelů.

Z tab. XIV vyplývá, že v roce 1980 je to jen opylitel *P. tremula* L. č. 22, jehož potomstvo v $\bar{x}$ výšce předstihuje $\bar{x}$ potomstev, v $\bar{x}$ tloušťce jen potomstvo opylitele *P. tremula* L. č. 75 a č. 21.

K dalšímu vegetativnímu množení vyselektovaní jedinci ve výšce předstihují $\bar{x}$ výšku potomstva téhož opylitele, s výjimkou jedince č. 722 opylitele *P. tremula* L. č. 73. V tloušťce všichni vyselektovaní jedinci předstihují $\bar{x}$ tloušťku potomstva téhož opylitele.

Z tab. XIV je patrné, že $\bar{x}$ zásoba u potomstev použitého opylitele

XII. Průměrné tloušťky $d_{1,3}$ (cm) hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců ♀ *P. tremula* L. č. 81 — The mean diameters $d_{1,3}$ (cm) of the cross combinations and selected individuals of ♀ *P. tremula* L. no. 81

♂ (hybrid č.)	Rok					
	1955	1960	1965	1970	1975	1980
<i>P. t.</i> č. 21	0,96*	0,88	7,21	12,44	17,48	19,84
1127	0,14	2,10	10,70	21,60	23,00	25,00
1173	1,20	1,80	9,70	17,00	22,00	24,50
1192	0,90	2,60	11,70	19,80	23,00	25,00
1240	0,90	2,70	11,00	16,50	22,00	26,50
1242	1,70	4,50	11,50	17,20	21,00	24,50
1265	0,60	2,30	10,90	20,30	25,50	29,00
<i>P. t.</i> č. 22	1,40	0,97	7,26	11,31	15,28	19,37
1285	1,10	3,40	13,40	20,20	23,00	25,00
1362	0,90	1,70	8,80	17,30	22,00	25,00
1367	1,30	1,20	7,90	16,00	20,00	23,00
<i>P. t.</i> č. 75	0,94	0,87	7,02	9,46	17,96	20,27
1418	1,20	1,70	9,20	16,50	20,50	23,50
1423	1,60	1,70	9,60	17,80	21,50	24,00
1436	0,80	1,40	9,60	17,30	21,50	25,00
<i>P. t.</i> č. 73	1,12	2,01	7,00	12,10	15,40	19,03
722	1,50	4,00	12,20	17,20	20,00	22,00
729	2,00	2,00	10,10	16,90	22,50	24,00
769	1,20	4,20	14,20	20,80	22,00	23,00
841	1,10	1,40	9,20	16,80	19,50	22,00
866	1,40	4,50	13,10	17,80	20,00	22,00
878	1,40	2,30	9,30	18,00	22,00	24,00
929	1,70	1,80	10,90	19,30	24,00	25,00
931	1,40	3,20	15,20	21,10	24,00	25,50
973	1,40	2,20	10,30	17,30	23,00	24,50

* — tloušťky v krčku kořenovém

P. tremula L. č. 73 je nižší, než u $\bar{x}$ všech potomstev. Všichni vyselektovaní jedinci převažují v objemu $\bar{x}$ potomstva téhož opylitele.

Z tab. XIII je patrné, že vlivem přirozeného výběru uhynulo v průběhu 25 let v $\bar{x}$ 68,7 % jedinců všech potomstev tohoto mateřského stromu.

Z tab. X vyplývá, že rozdíl $\bar{x}$ V, T, O potomstev všech použitých opylitelů k jejich celkovému $\bar{x}$ jsou neprůkazné.

Jak již bylo uvedeno, z potomstev některých kombinací křížení na uvedených mateřských stromech byli vyselektováni jedinci (tab. I) heterovegetativně (roubováním) v roce 1965 namnoženi a jako klonová potomstva vysazeni na výzkumnou plochu Sokolnice B. V roce 1980 tato

XIII. Počet jedinců v jednotlivých letech a přirozený úhyn hodnocených kombinací křížení ♀ *P. tremula* L. č. 81 — The number of individuals in the years of investigation and the natural mortality of the cross combinations of ♀ *P. tremula* L. no. 81

♂	Rok							Úhyn celkem	
	1955	1960	1965	1970	1975	1980		[ks]	[%]
						[ks]	[%]		
<i>P. t. č. 21</i>	266	191	138	130	99	82	31	184	69
<i>P. t. č. 22</i>	107	87	60	47	27	19	12	88	82
<i>P. t. č. 75</i>	25	28	19	16	15	15	43	20	57
<i>P. t. č. 73</i>	290	238	153	148	106	95	33	195	67

klonová potomstva dosahovala věku 15 let a bylo je tedy možno porovnat ve výškovém a tloušťkovém růstu i objemu s jedinci výchozími za stejné období (tab. XV, obr. 3, 4).

Z hodnot uvedených v tab. XV vyplývá, že v $\bar{x}$ výšce klonová potomstva předstihují výšku výchozích jedinců, s výjimkou klonů č. 1950 (*P. tremula* L. č. 80 × *P. tremula* L. č. 6), č. 1651 (*P. tremula* L. č. 80 × *P. tremuloides* Michx. č. 97), č. 1244 (*P. tremula* L. č. 81 × *P. tremula* L. č. 21), č. 722 (*P. tremula* L. č. 81 × *P. tremula* L. č. 73).

V $\bar{x}$ tloušťce klonová potomstva nedosahují tloušťky výchozích jedinců, s výjimkou klonů č. 200 a č. 217 (*P. tremula* L. č. 60 × *P. alba* L. č. 98), č. 1288 (*P. tremula* L. č. 81 × *P. tremula* L. č. 22), č. 769 (*P. tremula* L. č. 81 × *P. tremula* L. č. 73).

V $\bar{x}$ objemu kmene a zásobě na hektar klonová potomstva nedosahují objemu výchozích jedinců ve stejném věku, s výjimkou klonů č. 200, 217, 1288, 1436 a 1652.

Z rozdílů $\bar{x}$ V, T, O (tab. X) potomstev použitých opylitelů *P. tremula* L. č. 75 a č. 73 na uvedených mateřských stromech, použitých ke kombinačnímu křížení v roce 1955 vyplývá, že hodnoty jsou neprůkazné a lze tedy usuzovat na vhodný genotyp mateřských stromů i použitých opylitelů.

DISKUSE

Z výsledků kombinačního křížení *Populus tremula* L. uvedených na příkladu tří mateřských stromů a 12 opylitelů z roku 1955, vyselektovaných jedinců k dalšímu vegetativnímu (klonovému) množení, je možno posoudit efektivnost i racionalizační přínos šlechtění lesních dřevin pro lesní hospodářství.

Na uvedených příkladech je také možno dokumentovat význam správné volby rodičovských partnerů k získání hybridních potomstev s požadovanými vlastnostmi. Je celkem známou skutečností, že problematika ověřování genotypu výchozích jedinců — rodičovských partnerů — je zejména u lesních dřevin neobyčejně složitá vzhledem k jejich dlouhověkosti. Využití časných testů k ověřování genotypu dosud nelze využít v plné míře v praktickém šlechtění lesních dřevin. Proto převážná

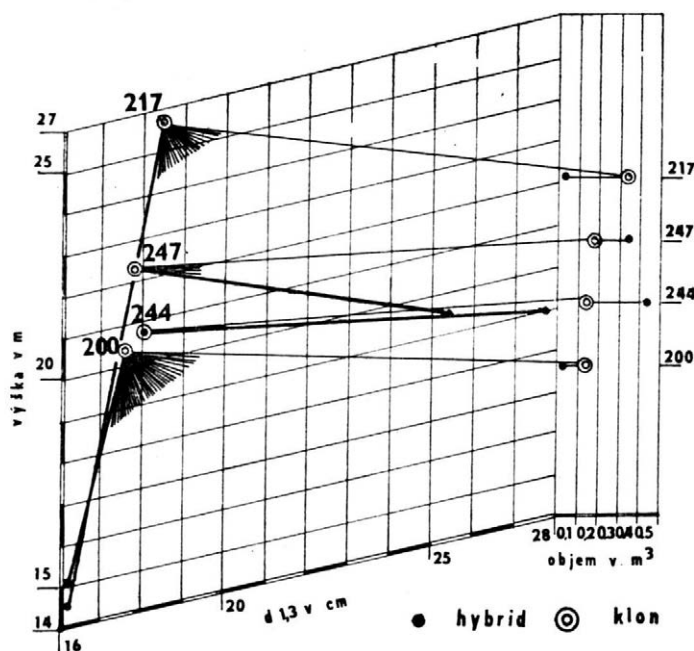
XIV. Průměrný objem a zásoba hodnocených kombinací křížení a vybraných jedinců v roce 1980 (25 let) ♀ *P. tremula* L. č. 81 — The mean volume and growing stock of the cross combinations and selected individuals in 1980 (25 years) in ♀ *P. tremula* L. no. 81

♂ (hybrid č.)	Výška	Tloušťka $d_{1,3}$	Objem	
			$[m^3 \cdot ks^{-1}]$	$[m^3 \cdot ha^{-1}]$
<i>P. t.</i> č. 21	22,32	19,84	0,318	353,30
1127	24,00	25,00	0,513	569,94
1173	24,00	24,50	0,493	547,72
1192	22,50	25,00	0,434	482,17
1240	22,50	26,50	0,469	521,06
1242	23,00	24,50	0,455	505,51
1265	24,50	29,00	0,758	842,14
<i>P. t.</i> č. 22	22,87	19,37	0,312	346,63
1285	24,00	25,00	0,534	593,27
1362	24,00	25,00	0,534	593,27
1367	23,50	23,00	0,435	483,28
<i>P. t.</i> č. 75	21,97	20,27	0,326	362,19
1418	23,00	23,50	0,472	524,39
1423	23,50	24,00	0,482	535,50
1436	23,50	25,00	0,619	687,71
<i>P. t.</i> č. 73	22,26	19,03	0,293	325,52
722	22,00	22,00	0,382	424,40
729	23,50	24,00	0,472	524,39
769	23,00	23,00	0,435	483,29
841	23,50	22,00	0,417	463,29
863	23,50	22,00	0,417	463,29
878	24,00	24,00	0,493	547,72
929	24,50	25,00	0,575	638,83
931	25,50	25,50	0,599	665,49
973	24,00	24,50	0,493	547,72
Ø $\bar{x}$	22,36	19,63	0,312	346,63

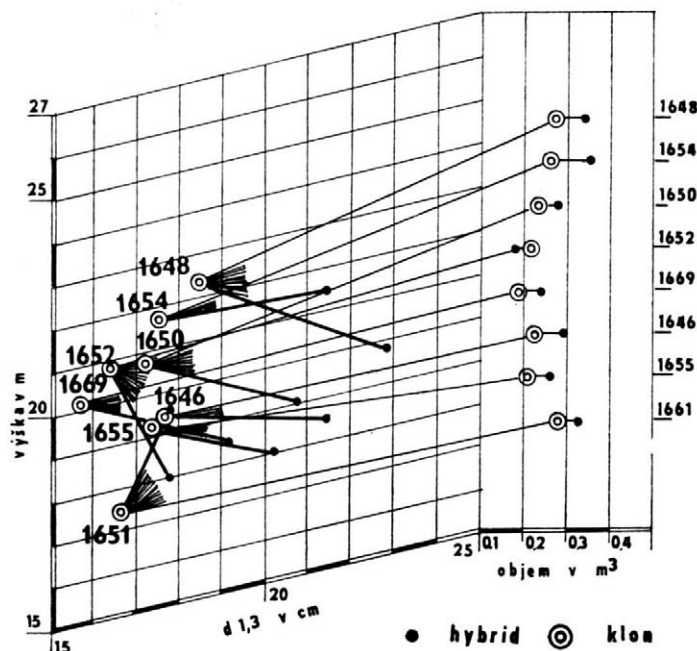
většina rodičovských partnerů — zpravidla výběrových stromů — je volena podle fenotypu, na základě subjektivních představ toho kterého šlechtitele, který se šlechtěním příslušného druhu zabývá. Vycházíme-li ze skutečnosti, že genotyp je souborem všech dědičných schopností určitého organismu a fenotyp součinem působení genotypu a životního prostředí (Hrubý, 1961), je takto prováděný výběr rodičovských partnerů správný. Přesto však na základě našich poznatků (Pospíšil, 1964) lze tvrdit, že v lesních porostech uniká pozornosti celá řada genotypově

3. Průměrné výšky, tloušťky, objem vybraných hybridů a jejich klony ve stáří 15 let — Mean heights, diameters and volumes of selected hybrids and their clones at the age of 15 years

P.tremula L.č.60 x P.alba L.č.98



P.tremula L.č.80 x P.tremuloides Michx.č.97



4. Průměrné výšky, tloušťky, objem vybraných hybridů a jejich klony ve stáří 15 let — Mean heights, diameters and volumes of selected hybrids and their clones at the age of 15 years

XV. Hybrydy — Klony x výšky, tloušťky, objem a zásoba ve stáří 15 let — Hybrids — Clones, mean heights, diameters, volume and growing stock at the age of 15 years

Kombinace křížení hybrid č. = klon č.	Hybrid						Klon					
	výška	tloušťka	objem		zásoba		výška	tloušťka	objem		zásoba	
			[m³ . ks ⁻¹]		[m³ . ha ⁻¹]				[m³ . ks ⁻¹]		[m³ . ha ⁻¹]	
			1	2	1	2			1	2	1	2
<i>P. t. č. 60</i> × <i>P. t. směs</i> 1572	17,80	17,60	0,200	0,206	222,2	228,86	19,22	16,77	0,178	0,177	197,76	196,64
<i>P. t. č. 60</i> × <i>P. a. č. 98</i>												
200	15,00	15,90	0,136	0,140	85,0	87,50	20,45	17,52	0,231	0,232	144,38	145,00
217	14,60	15,20	0,129	0,126	80,6	78,75	25,75	18,50	0,441	0,362	275,63	226,25
244	19,00	27,70	0,512	0,515	320,0	321,88	20,80	18,00	0,245	0,245	153,13	153,13
247	19,50	25,40	0,445	0,447	278,1	279,38	22,27	17,66	0,288	0,254	180,00	158,75
<i>P. t. č. 80</i> × <i>P. t. č. 6</i> 1950	16,30	13,50	0,112	0,122	124,4	135,54	13,16	14,36	0,098	0,102	108,88	113,32
<i>P. t. č. 80</i> × <i>P. ides 97</i>												
1646	18,50	21,40	0,299	0,306	332,1	339,97	19,42	17,62	0,224	0,223	248,86	247,75
1648	19,80	22,80	0,333	0,369	369,9	409,96	22,32	18,71	0,280	0,277	311,01	307,74
1650	19,00	20,80	0,284	0,297	315,5	329,97	20,71	17,02	0,229	0,221	254,42	245,53
1651	19,50	17,80	0,227	0,231	252,2	256,64	17,50	16,77	0,182	0,184	202,20	204,42
1652	18,00	17,80	0,194	0,209	215,5	232,20	20,74	16,48	0,207	0,208	229,98	231,09
1654	21,40	21,40	0,347	0,353	385,5	392,18	21,75	17,54	0,268	0,245	297,75	272,20
1655	18,00	20,20	0,264	0,265	293,3	294,42	19,48	17,47	0,212	0,218	235,53	242,20
1669	18,40	19,10	0,239	0,245	265,5	272,20	20,11	15,73	0,199	0,184	221,09	204,42
<i>P. t. č. 81</i> × <i>P. t. č. 21</i> 1244	16,00	14,80	0,138	0,118	153,5	131,10	14,38	14,42	0,106	0,103	117,77	114,43
<i>P. t. č. 81</i> × <i>P. t. č. 22</i> 1288	13,00	14,60	0,095	0,096	105,5	106,66	15,10	14,64	0,116	0,111	128,88	123,32
<i>P. t. č. 81</i> × <i>P. t. č. 75</i> 1436	16,20	17,30	0,161	0,159	178,9	176,65	16,67	15,90	0,173	0,161	192,20	178,87
<i>P. t. č. 81</i> × <i>P. t. č. 73</i>												
722	17,20	17,20	0,187	0,181	207,7	201,10	14,25	17,20	0,146	0,149	162,20	165,54
769	18,00	20,80	0,276	0,260	306,6	288,86	18,00	18,50	0,215	0,213	238,87	236,64

kvalitních jedinců, kteří jsou výchovnými zásahy z porostů odstraňování nebo nemohou dobré genotypové vlastnosti uplatnit v plné míře právě vlivem prostředí (např. ve směsi dřevin, nesprávný výchovný zásah). To je možno dokumentovat na výsledcích, získaných na mateřském stromě *Populus tremula* L. č. 81, který z přísného hlediska posuzování fenotypu zcela nesplňuje požadavky, přesto však v průběhu našich šlechtitelských prací s osikou v převážné většině splňuje kritéria kvalitního genotypu a poskytuje (v závislosti na opyliteli) vysoce kvalitní potomstva.

Kombinace křížení, uskutečněné v roce 1955 i v dalších letech, byly voleny vždy s tím cílem, aby na všech použitých mateřských stromech byli použiti také stejní opylitelé a mohl být na získaném potomstvu sledován vliv mateřského i otcovského partnera na kvalitu potomstva. Za kontrolní potomstvo mělo sloužit potomstvo z volného opylení na rostoucím mateřském jedinci. I když záměr byl proveden, nepodařilo se u všech uskutečněných kombinací křížení po opylení získat hybridní potomstvo. Stejně tak se nepodařilo v mnoha případech získat osivo, a tím i potomstvo kontrolní. Rozhodující úlohu v případě křížení na rostoucích stromech měli klimatictí činitelé a výskyt škůdců, v případě křížení na uříznutých větvích pak výskyt škůdců (*Steganoptycha neglectana* Duf., *Steganoptycha oppressana* Tr., *Batrachedra praeangusta* Hw., *Xanthia fulvago* L., *Xanthia gilvago* Esp.). V takových případech proto pro srovnání opylitelů na mateřském stromě byl brán průměr všech získaných potomstev na tom kterém mateřském stromě.

Z přehledu kombinací křížení uskutečněných v roce 1955, z nichž v předložené práci jsou hodnocena potomstva tří samičích jedinců je patrné (tab. I), že navzájem je možno porovnávat tyto tři samičí jedince při použití dvou opylitelů (*P. tremula* L. č. 75 a č. 73), dva samičí jedince při použití čtyř opylitelů (*P. tremula* L. č. 83, č. 75, č. 73, č. 1). Hodnocení je provedeno z roku 1980, další hodnocení bude v roce 1990.

Vzájemné porovnání (testování) je provedeno u výšek, tloušťek a objemu Duncanovým testem. Faktem zůstává, že očekávaným finálním produktem šlechtění lesních dřevin (mimo speciální účely) je množství kvalitní dřevní hmoty (výnosy).

Budeme-li z tohoto hlediska posuzovat použití samičího jedince a opylitele zjistíme, že opylitel *P. tremula* L. č. 75 použitý na mateřském stromě *P. tremula* L. č. 80 poskytl potomstvo s nejmenší produkcí dřevní hmoty a je tedy možno tuto kombinaci křížení považovat za nejméně vhodnou. Naproti tomu na dalších dvou mateřských stromech poskytl tento opylitel potomstva, z hlediska produkce dřevní hmoty kvalitní a je možno hovořit o kvalitním genotypu obou rodičovských partnerů a jejich prospěšném vzájemném spojení.

Použití opylitele *P. tremula* L. č. 73 na uvedených mateřských stromech je možno hodnotit rovněž kladně, neboť poskytl potomstva s vyrovnanou produkcí dřevní hmoty, s mírnou převahou u mateřského jedince *P. tremula* L. č. 81.

Použitý opylitel *P. tremula* L. č. 83 na mateřském stromě *P. tremula* L. č. 60 poskytl potomstvo s nejmenší produkcí dřevní hmoty i vzhledem k produkci potomstva získaného z volného opylení a je tuto kombinaci možno považovat za nejméně vhodnou. Na mateřském stromě *P. tremula* L. č. 80 však tento opylitel poskytl potomstvo s produkcí dřevní hmoty o 154,31 % vyšší, než na mateřském stromě *P. tremula* L. č. 60.

Použitý opylitel *P. tremula* L. č. 1 na obou mateřských stromech *P. tremula* L. č. 60 a č. 80 poskytl potomstva s produkcí dřevní hmoty celkem vyrovnanou, s mírnou převahou na mateřském stromě *P. tremula* L. č. 60. Kladně se projevila mezidruhovná hybridizace při použití opylitelů *P. alba* L. č. 98 a *P. tremuloides* Michx. č. 97.

ZÁVĚR

Ze získaných výsledků šlechtitelských prací s osikou za období let 1952 až 1980 je možno učinit tyto závěry: a) Za uvedené období bylo provedeno 895 kombinací křížení s využitím ♀ jedinců z ČSSR a ♂ jedinců z ČSSR i zahraničí. b) Získaná hybridní potomstva byla selektována a vysazována na trvalé výzkumné i poloproduční plochy, na kterých je sledován jejich další růst a vývoj. c) Byla vyselektována celá řada hybridů s vynikajícím heterozním efektem ve smyslu růstových schopností i odolnosti proti jádrové hnilobě, způsobené chorošovitou houbou *Phellinus igniarius* f. *tremulae* Bond. a doporučeno jejich zavedení do praxe. Speciálně pro založení osikových porostů pro zápalkářský průmysl n. p. Solo Sušice a pro oblasti ohrožené průmyslovými exhalacemi, zejména pro oblast Krušných hor. d) Ve skutečném objemu a propočtené zásobě $m^3 \cdot ha^{-1}$ hybridní potomstva i vyselektovaní hybridní jedinci výrazně převyšují kontrolní potomstva. e) Klonová potomstva heterovegetativně namnožených hybridů s vynikajícím heterozním efektem se ve věku 15 let v tloušťce ($d_{1,3}$) a v objemu přibližují výchozím hybridním jedincům a ve výškovém růstu je ve většině případů převyšují. f) Byl prokázán kladný vliv geograficky vzdálené hybridizace při správné volbě rodičovských partnerů i kladný vliv mezidruhovné hybridizace na získaná potomstva. g) Kladné výsledky byly také získány u některých potomstev z volného opylení vynikajících mateřských jedinců.

Na uvedeném příkladu šlechtitelských prací s osikou je dokumentován přínos aplikace poznatků genetiky a šlechtění lesních dřevin pro lesní hospodářství.

Literatura

- ARAŠENKO, V. D. — ORLENKO, E. G.: Formy osiny v lesích BSSR i ich ispol'zovanie v lesnom chozajstve. Izd. Běl. NIILCH, Gomel, 1957.
- BIELIKOVÁ, K.: Šľachtenie topoľov skupiny Leuce. [Kandidátská disertační práce.] Zvolen 1978. — Vysoká škola lesnícka a drevárska. Fakulta lesnícka.
- BOUVAREL, P.: Hybridation des trembles et peupliers blancs — Station de recherches de Nancy. Rev. for. franc. 1959, č. 10, s. 679-698.
- BÖRSET, O.: The role of Aspen as a nursing or accessory species for Spruce plantations in Norway. Tagungsberichte Deutsch. Akad. der Landw. zu Berlin, 53, 1962, s. 79-86.
- DENGLER, A.: Herkunfts- und Kreuzungsversuche im Versuchsgarten des Waldbauinstituts Eberswalde Mitteilungen der Deutschen Dendrologischen Gesellschaft, 55, 1942, s. 157-169.
- EINSPAHR, D. W. — BUIJTENEN, J. P. — PECKHAM, J. R.: Natural variation and heritability in triploid Aspen. Silvae Genet., 1963, č. 12, s. 51-58.
- EINSPAHR, D. W. — BENSON, M. K.: Production and evaluation of Aspen hybrids. J. for., 1964, č. 11, s. 806-809.
- HALAJ, J.: Tabuľky na určovanie hmoty a prírastku porastov. Bratislava, SVPL 1963.
- HRUBÝ, K.: Genetika. Praha, ČSAV 1961.
- IVANESCU, D.: Cultura Plopului Tremurator. Brasov, Inst. Polit. 1966.

- IVANNIKOV, S. P.: Selekcija osiny v lesostepi na bystrotu rosta, ustojčivost protiv gnili i kačestvo drevesiny. Izd. Min. Selschoz. SSSR, Opyt i dostiženija po selekcii lesnych porod, Moskva 1959, s. 63-124.
- JABLOKOV, A. S.: Ob ulučení biologičeskich i lesovodstvennyh svojstv osiny pri pomoči gibrizacij. Puškino, Trudy VNIILCH, 1939, č. 5.
- JOHNNSSON, H.: Heterosiserscheinungen bei Hybriden zwischen Breitengradsassen von *Populus tremula*. Zachr. f. Forstgen. u. Forstpfezüchl., 1956, č. 5/6, s. 156-160.
- KANTOR, J. — VINCENT, J.: Lze předcházet ústupu jedle z našich lesů? Lesnictví, 1970, č. 3, s. 235-246.
- KRUDENER, A. — ORLOV, M. M.: Hmotové tabulky pro osiku ex: Vincent, G. — ŠPALEK, V.: Topoly, jejich pěstování a dřevní produkce. Praha, Stát. zem. nakl. 1954, s. 209.
- MARCET, M.: Die Aspe und ihr Anbau, Hespera Mitteilungen, 1963, č. 3, 28 s.
- MATERNA, J.: Práce a výsledky výzkumu v Krušnohorské kouřové oblasti. In: Sborník referátů. Fláje, MLVH ČSR, 1978, s. 40-54.
- MELCHIOR, G. H. — SEITZ, F. W.: Einige Ergebnisse bei Testanbauten mit Aspenhybriden. Silvae Genet. 1966, č. 4, s. 127-133.
- MOTTL, J. — PRUDÍČ, Z.: Pěstování hybridní osiky. [Dílčí závěrečná zpráva.] Zbraslav-Strnady 1973. — VŮLHM.
- MOTTL, J. — PRUDÍČ, Z. — ŠTERBA, S.: Zavádění a pěstování hybridní osiky (vegetativní množení). [Závěrečná zpráva.] Zbraslav-Strnady 1980. — VŮLHM.
- MOTTL, J. — ŠPALEK, V.: Pěstujeme topoly. Praha, Stát. zem. nakl. 1961.
- PEŠINA, K.: Šlechtění topolů a vrb. [Závěrečná zpráva.] Zbraslav-Strnady 1961. — VŮLHM.
- POSPÍŠIL, J.: Šlechtění osiky. Lesnictví, 1956, č. 7-8, s. 489-498.
- POSPÍŠIL, J.: Rozšíření osiky v ČSR. Lesnictví, 1958, č. 9, s. 761-780.
- POSPÍŠIL, J.: Šlechtění osiky. [Kandidátská disertační práce.] Brno 1964. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Možnosti využití polyploidie při šlechtění osiky. [Habilitační práce.] Brno 1964. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Deset let mezinárodní výzkumné plochy *Populus tremula* L., založené v rámci RVHP. [Závěrečná zpráva.] Brno 1972. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Šlechtění a pěstování bílých topolů a osiky. [Závěrečná zpráva.] Brno 1975. Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Generativní hybridizace vybraných rodičovských párů osiky a selekce stávajících hybridů pro n. p. Solo Sušice. [Dílčí závěrečná zpráva.] Brno 1980. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Šlechtění lesních dřevin a využití hybridního osiva — základní racionalizační prvek lesnické výroby. [Doktorská disertační práce.] Brno 1981. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- POSPÍŠIL, J.: Výběr odolných klonů osiky vůči imisnímu zatížení. [Závěrečná zpráva.] Brno 1985. — Vysoká škola zemědělská. Lesnická fakulta.
- SCHÖNBACH, H.: Die bisherigen Ergebnisse der Züchtungsarbeiten mit verschiedenen Pappelarten der Sektion Leuce. Berlin, Beiträge zur Pappelforschung. 1957, s. 149-178.
- VOJTUŠ, M.: Zhodnocení dosavadních výsledků šlechtění a pěstování osiky a bílých topolů a vypracování směrnic. [Dílčí závěrečná zpráva.] Zvolen 1973. — VŮLH.
- WETTSTEIN, W.: Forstpflanzliche Züchtungsversuche besonders mit *Populus*. Bot. Not., 1937.
- VINCENT, M. — ŠPALEK, V.: Topoly, jejich pěstování a dřevní produkce. Praha, Stát. zem. nakl. 1954.
- ZÁCHEJ, Š.: Šľachtenie a pestovanie bielych topoľov a osiky. [Dílčí závěrečná zpráva.] Zvolen 1970. — VŮLH.

Došlo dne 17. 2. 1988

ПОСПИШИЛ, И. — АЛФЕРИ, Л. (Факультет лесоводства СХИ, Брно): Значение селекции лесных древесных пород на примере осины. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 731-754.

Из полученных результатов за период 1955—1987 гг. можно сделать следующие заключения: 1. произвели 895 комбинаций скрещивания с использованием женских особей из ЧССР и мужских особей из ЧССР и зарубежа. 2. полученные гибридные потомства селекционировались и высаживались на постоянные исследовательские

и полупроизводственные площади на которых изучали их дальнейший рост и развитие. Эти площади заложены в области лесхоза (ЛХ) Бухловице, ЛХ Кацперске горы, ЛХ Клаштерец над Огржи, (УПЛ = Учебное лесное предприятие) Кржтины, лесоводческого хозяйства Трутнов, ЛХ Зноймо. Самые старые по возрасту площади находятся на УПЛ Кржтины (Соколнице 31-ин год, Рейград 26-ть лет — эта площадь была заложена как международная, в рамках СЭВ), ЛХ Зноймо (Дыяковиче) 26-ть лет. 3. произвели селекционирование ряда гибридов с отличным гетерозисным эффектом в смысле ростовых способностей и устойчивости против гнили стволовой, которые применены на практике с целью создания сырьевой базы для спичечной промышленности и для областей пораженных промышленными спадами. 4. в действительной продукции и в продукции рассчитанного объема древесины на 1 га, гибридное потомство и выведенные гибридные особи значительно превышают контрольные потомства. 5. клонные потомства гетероветативно размноженных гибридов с отличным гетерозисным эффектом в возрасте 15 лет, при толщине ($d_{1.3}$) и по продукции приближаются к исходным особям, а по росту в высоту в большинстве случаев их опережают. 6. было доказано положительное влияние географически отдаленной гибридизации при правильном выборе родительских партнеров, и положительное влияние межвидовой гибридизации на полученные потомства. 7. положительные результаты получили и у некоторых потомств из свободного опыления отличных материнских особей. На приведенном примере селекционных работ с осиною документируется польза применения знаний по генетике и селекции лесных древесных пород для лесхозов.

кастрирование лесных древесных пород; гибридизация; осина; использование

POSPÍŠIL, J. — ALFERI, L. (Lesnická fakulta VŠZ, Brno): *The Importance of Forest Tree Breeding: An Example of the Aspen*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 731-754.

The following conclusions can be drawn from the results gained during the period from 1955 to 1987: 1) Aspen was crossed in 895 cross combinations using ♀ individuals from Czechoslovakia and ♂ individuals from both Czechoslovakia and other countries. 2) The hybrid progenies were selected and planted on both permanent research areas and pilot areas where their further growth and development could be monitored. These areas were set up in the territories of the Forest Establishments of Buchlovice, Kašperské Hory and Klášterec nad Ohří, at the Training Forest Establishment at Křtiny, and in the forests of the Secondary Forestry Technical School of Trutnov, and the Znojmo Forest Establishment. The forest stands of the Training Forest Establishment at Křtiny (Sokolnice 31 years, Rajhrad 26 years, the latter area set up as an experimental area for the international co-operation of the CMEA countries, and the Znojmo /Dyjákovice/ Forest Establishment) are the oldest. 3) A number of hybrids were selected, all with outstanding heterosis effect in growth and in resistance to heartwood decay. These hybrids will be used in practice for establishing a raw material base for the match-making industry and for planting in the areas exposed to industrial exhalations. 4) The hybrid progenies and the selected hybrid individuals have much higher values of actual wood production and production of tree volume converted per 1 hectare. 5) At the age of 15 years, the diameter data ($d_{1.3}$) and volume production in the clone progenies of hetero-vegetatively propagated hybrids with excellent heterosis effect were close to those of the starting hybrid individuals, and their height growth data are even higher. 6) Both the geographically distant hybridization with adequate parent partners and interspecific crossing were demonstrated to have a positive influence on the progenies. 7) Positive results were also obtained in some progenies from the open pollination of the maternal individuals. The breeding work with aspen is a good example to demonstrate the contribution of the practical use of knowledge in genetics and tree breeding to progress in forestry.

forest tree breeding; hybridization; aspen; use

Adresa autorů:

Prof. ing. Jiří Pospíšil, DrSc., ing. Ludmila Alferi, lesnická fakulta VŠZ, Zemědělská 3, 613 00 Brno

PROMĚNLIVOST ZDRAVOTNÍHO STAVU, VZRŮSTU A JAKOSTI RŮZNÝCH PROVENIENCÍ MODŘÍNU OPADAVÉHO (*LARIX DECIDUA* MILL.) V LESNÍ OBLASTI 1 – KRUŠNÉ HORY

J. Šindelář

ŠINDELÁŘ, J. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady): *Proměnlivost zdravotního stavu, vzrůstu a jakosti různých proveniencí modřínu opadavého (Larix decidua Mill.) v lesní oblasti 1 – Krušné hory*. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 755-768.

V roce 1969 byla založena v oblasti lesního závodu Janov v Krušných horách výzkumná provenienční plocha s modřínem opadavým. Obsahuje 25 pokusných variant. Při hodnocení ve věku 18 let byla registrována mortalita, zdravotní stav, měřeny výšky, výčetní tloušťky a klasifikována tvárnost (jakost) kmene. Pro další pěstování v Krušných horách a v ostatních horských oblastech hercynskosudetských se doporučuje přednostní využití jesenických (sudetských) modřínů z větších nadmořských výšek (vegetační lesní stupně 5, 6). K zabezpečení osiva se navrhuje založení semenných plantáží.

provenienční výzkum; imise; modřín

Do roku 1969 existovaly v oblasti Krušných hor celkem tři provenienční plochy s modřínem, které byly využity jako zdroj poznatků o růstu různých dílčích populací druhu *Larix decidua* Mill. Jde o plochy založené Rubnerem v roce 1932 v tehdejších lesích města Chomutova a dále o jednu menší výzkumnou plochu vysázenou v rámci druhé mezinárodní provenienční série IUFRO 1959/62 na lesním závodě Litvínov, lesní správě Přítkov.

K doplnění soustavy výzkumných ploch s modřínem v oblasti Krušných hor byla proto mimo jiné v roce 1969 vysazena v oblasti lesního závodu Janov, lesní správa Nová Ves v horách výzkumná plocha 16 s potomstvy uznaných jednotek modřínu opadavého, vesměs z areálu původního rozšíření jesenického (sudetského) modřínu a z přilehlých oblastí. Tato plocha je součástí trojčetného ověřovacího souboru ploch [další plochy na lesním závodě Tábor a na SPLO Jíloviště Strnady].

Cíl založení a hodnocení výzkumné plochy 16 v Krušných horách lze formulovat takto:

— Posoudit zdravotní stav, výškový a tloušťkový růst a tvárnost (jakost) kmene modřínů vysazených na náhorní planině Krušných hor v podmínkách výrazného zatížení znečištěním ovzduší (pásma ohrožení A).

— Získat informace o stupni proměnlivosti dílčích populací v rámci ekotypu jesenického modřínu a o možnostech hromadné selekce pro horské imisní oblasti.

MATERIÁL A METODA

K založení ověřovací plochy 16 Janov v Krušných horách bylo použito osivo československých proveniencí modřínu opadavého (*Larix decidua* Mill.) a jednoho

oddílu osiva modřínu japonského *Larix leptolepis* Gord. Osivo modřínu opadavého pocházelo z uznanych jednotek a bylo jako drobné vzorky po 30 g dodáno do ústavu tehdejšími Semenářským závodem státních lesů v Českých Budějovicích. Přehled zařazených uznanych jednotek respektive pokusných členů je zřejmý z tab. I. Veškeré uznané jednotky jsou ze severní Moravy a představují jesenický modřín, a to zčásti autochtonní, částečně alochtonní dílčí populace. Ze 24 dílčích populací připadají na lesní oblasti (Modely hospodaření — Lesprojekt, 1985) tyto položky

Lesní oblast	Dílčí populace (číselná označení)
29a — Nízký Jeseník	13, 14, 15, 16, 17
29b — Oderské vrchy	9, 10, 11, 12
28 — Předhoří Hrubého Jeseníku	2, 8, 19, 31
27 — Hrubý Jeseník	21, 22, 23, 24
30a — Dražanská vrchovina	25, 26, 29, 30
31b — Zábřežské krystalinikum	8, 27, 28

Pokud jde o klasifikaci zastoupených dílčích populací podle vegetačních lesních stupňů (Plíva, 1980), podává informaci tento přehled:

Vegetační lesní stupeň	Dílčí populace (číselná označení)
1 — dubový	28, 30
2 — bukodubový	8, 16, 17, 27
3 — dubobukový	9, 12, 13, 14, 15, 18, 25, 26
4 — bukový	10, 11, 19, 29, 31
5 — jedlobukový	2
6 — smrkobukový	21, 22, 23, 24

Ze 24 pokusných členů druhu *Larix decidua* je 13 dílčích populací autochtonních, ostatní jsou sekundární, rostoucí mimo areál původního rozšíření jesenického modřínu. Je však pravděpodobné, že tyto alochtonní provenience jsou vesměs jesenického původu. Osivo bylo sklizeno z porostů dospívajících až přestálých (věk 73 až 164 let).

Výzkumná plocha 16 byla založena v porostě 247 b v oblasti lesního závodu Janov, lesní správa Nová Ves v horách v nadmořské výšce 730 m v hřebenové části Krušných hor (obr. 1). Typologicky byla lokalita v rámci stanovištního průzkumu zařazena do souboru lesních typů 6 T — jedlosmrková bučina se sedmikvítkem na rašelinných horských, místy podmačených hnědozemích. Prostředí,

1. opakování

2. opakování

2	8	9	10	11	28	12	23	17	2
12	13	14	15	16	24	8	13	29	18
17	18	19	21	22	30	14	19	25	9
23	24	25	26	27	15	10	21	31	26
28	29	30	31	33	16	11	33	22	27
12	15	13	16	14	19	30	9	25	14
23	27	24	26	25	2	17	23	28	12
33	30	29	28	31	22	33	16	11	27
9	2	10	8	11	29	18	13	8	24
21	18	22	17	19	15	21	26	10	31

3. opakování

4. opakování

1. Situační náčrt — rozmístění proveniencí — Situational plan — distribution of provenances

I. Přehled a charakteristika uznaných jednotek (provenienci) — Survey and characteristics of the certified units (provenances)

Číslo	Označení	Lesní závod	Polesí	Nadmořská výška [m]	Původ	Věk porostů	Mezibonita
2	IIB MD 117-IV Br	Bruntál	Rázová	650	AUT	104	1
8	IIB MD 673-IV Šu	Zábřeh	Dubicko	362–447	AUT	102–130	1–4
9	IIB MD 1-IV Nj	Vítkov	Nové Vrbno	470	AUT	100	2
10	IIB MD 55-IV Op	Vítkov	Budišov 1	500–580	AUT	91–110	1–2
11	IIB MD 55-IB Op	Vítkov	Budišov 2	500–580	AUT	91–110	1–2
12	IIB MD 58-IV Op	Vítkov	Čermná	480–520	AUT	73–88	1–2
13	IIB MD 81-IV Ol	Šternberk	Řídeč 1	370–420	AL	115–125	1–4
14	IIB MD 81-IV Ol	Šternberk	Řídeč 2	370–420	AL	115–125	1–4
15	IIB MD	Šternberk	Horní Žleb		AL		
16	IIB MD 462-IV Br	Krnov	Cvilín 1	350–400	AUT	105–108	3–4
17	IIB MD 462-IV Br	Krnov	Cvilín 2	350–400	AUT	105–108	3–4
18	IIB MD 456-IV Br	Krnov	Ježník	460–490	AUT	121–143	4–5
19	IIB MD 544-Ib Šu	Ruda nad Moravou	Ruda nad Moravou	460	AL	118–125	2–4
21	IIB MD 239 Ib Br	Janovice	Stará Ves 1	870	AUT	164	1
22	IIB MD 239 Ib Br	Janovice	Stará Ves 2	870	AUT	164	1
23	IIB MD 204 Ib Br	Janovice	Malá Morávka 1	760–800	AUT	115–126	1
24	IIB MD 204 Ib Br	Janovice	Malá Morávka 2	760–800	AUT	115–126	1
25	IIB MD 27 IV Ol	Litovel	Bouzov 1	340–460	AL	83–101	2–3
26	IIB MD 27 IV Ol	Litovel	Bouzov 1	340–460	AL	83–101	2–3
27	IIB MD 791-IV Šu	Litovel	Mírov	350–400	AL	103–115	3
28	IIB MD 46-V-Ol	Litovel	Úsov	330	AL	72	
29	IIB MD 34-IV Ol	Litovel	Kozov	570	AL	101	2
30	IIB MD 43- V-Ol	Litovel	Mladeč	245–275	AL	79–98	1
31	IIB MD 5-IV Br	Město Albrechtice		520–600	AUT	96–99	1–4
33	<i>Larix leptolepis</i> Gord. — orig. semeno z Japonska — bez dokumentace — autochtonní						

v němž byla plocha umístěna, tvořil na jaře 1969 komplex rozsáhlých holin a nezajištěných kultur na plochách vzniklých likvidací většinou nesmíšených smrkových porostů účinkem průmyslových imisí. Pro velmi přibližnou charakteristiku průměrných teplot lze využít dosti vzdálené meteorologické stanice Spičák, která leží v nadmořské výšce 790 m. Průměrná roční teplota je 5,0 °C, ve vegetační době (duben až září) pak 10,7 °C. Teploty nad 10 °C nastupují na základě dlouhodobých průměrů 20. 5. a trvají do 18. 9., takže průměrná délka vegetační doby obnáší 122 dní. Roční dlouhodobý průměr úhrnu srážek je 875 mm, průměrný počet dní se sněhovou pokrývkou je 128,5 dne. Místní klima rozsáhlých holin, na nichž je výzkumná plocha založena, je charakterizováno zejména značnými amplitudami teplotními. Pozdní mrazy v měsíci květnu a červnu poškozují kultury a brzdí jejich vzrůst. Mokrý sníh působí v souvislosti s odtáváním a přimrzáním často scísnutí větví, jejich prolámání a celkové deformace kmínků a korun. Celkově lze konstatovat, že klimatické poměry lokality, kde je výzkumná plocha založena, jsou velmi drsné až extrémní.

Výzkumná plocha je umístěna v nejvyšším pásmu imisního zatížení (pásmo A). Zatížení prostředí znečištěním ovzduší (hlavně SO₂) působí na organismy v interakci s drsnými klimatickými faktory, které byly stručně charakterizovány.

Výzkumná plocha byla vysazena na jaře 1969 dvouletými školkovanými sazenicemi metodou dvojité mříže ve čtyřech opakováních. Celkový počet parcel je 100, velikost parcely 10 X 10 m, spon výsadby 2 X 1 m, takže na parcelu bylo vysazeno přibližně 45 sazenic.

V pořadí již třetí měření se uskutečnilo na podzim 1985, tedy ve věku 18 let. K měření výšek se použilo měřické latě, výčetní tloušťky se měřily na centimetry. Tvárnost kmene, obdobně jako při předchozích hodnoceních, byla okulárně bonitována podle tohoto schématu:

- 1 — kmen zcela rovný (přímý),
- 2 — kmen mírně zakřivený,
- 3 — kmen silně zakřivený až křivolaký,
- 4 — jedinci zakrslého nebo keřovitého růstu.

Zdravotní stav byl hodnocen podle stupnice:

- 1 — jedinec zcela zdravý,
- 2 — vitalita snížena,
- 3 — jedinci zřetelně chřadnoucí až odumírající.

Kromě výškového a tloušťkového růstu, tvárnosti kmene, zdravotního stavu byla na základě registrace ztrát hodnocena i mortalita, resp. podíl jedinců rostoucích z celkového počtu jedinců na plochu vysazených. Kvantitativní znaky byly statisticky charakterizovány, proměnlivost byla hodnocena analýzou variance. Pokud šlo o relativní veličiny (%), byla pro účely analýzy provedena úhlová transformace těchto veličin. Rozdíly mezi průměrnými hodnotami veličin pro jednotlivé pokusné členy (provenience) byly zkoumány Duncanovým mnohonásobným pořadovým testem.

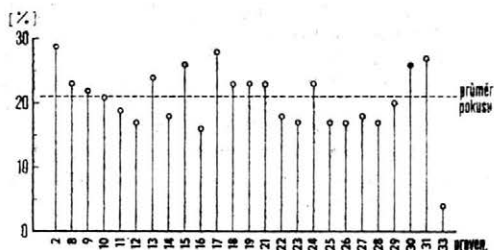
VÝSLEDKY

PODÍL ROSTOUCÍCH SAZENIC

Za kritérium životaschopnosti jednotlivých proveniencí považujeme především procentuální podíl sazenic, které se na ploše do věku 18 let udržely. Informace o procentuálním počtu rostoucích sazenic jsou patrné z tab. II a dále z obr. 2. Značná mortalita na ploše byla především v prvních letech po výsadbě. Podíl rostoucích jedinců z celkového počtu sazenic na plochu vysazených kolísá u modřínu opadavého podle proveniencí v mezích od 17 do 29 %. Rozdíly mezi proveniencemi (tab. IV) jsou statisticky nevýznamné. Nejméně životaschopný je v daných podmínkách modřín japonský, provenience 33 — Hokkaido. Z celkového počtu 180 vysazených sazenic se do věku 18 let udrželo pouze sedm jedinců.

ZDRAVOTNÍ STAV

V exponovaných podmínkách hřebenových partií Krušných hor, kde jsou dřeviny kromě působení průmyslových imisí vystaveny drsným klimatickým podmínkám, je zdravotní stav zkoumaných proveniencí vedle



2. Podíl rostoucích jedinců (%) z celkového počtu vysazených ve věku 18 let — The proportion of the growing individuals (%) in the total number of planted trees, stand age of 18 years

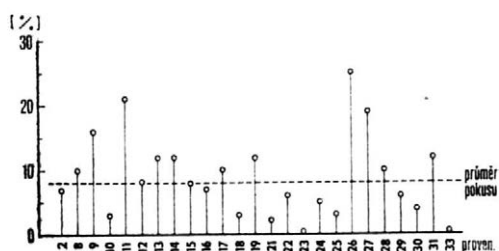
II. Počet a podíl rostoucích jedinců — The number and proportion of the growing individuals

Provenience	Vysazeno [ks]	Počet rostoucích sazenic ve věku [ks]			Podíl rostoucích sazenic ve věku 18 let [%]
		8	10	18	
2 - Bruntál	148	85	67	43	29
8 - Zábřeh	168	66	64	39	23
9 - Vítkov	168	72	62	37	22
10 - Vítkov	180	54	57	37	21
11 - Vítkov	180	62	59	34	19
12 - Vítkov	140	58	53	24	17
13 - Šternberk	180	62	60	43	24
14 - Šternberk	180	44	39	32	18
15 - Šternberk	180	72	70	46	26
16 - Krnov	180	44	43	28	16
17 - Krnov	180	72	69	51	28
18 - Krnov	132	86	76	37	28
19 - Ruda nad Moravou	180	58	55	42	23
21 - Janovice	180	72	67	42	23
22 - Janovice	180	53	51	33	18
23 - Janovice	180	48	46	31	17
24 - Janovice	180	64	63	41	23
25 - Litovel	180	40	40	31	17
26 - Litovel	180	54	49	27	17
27 - Litovel	180	69	62	32	18
28 - Litovel	180	50	48	31	17
29 - Litovel	180	64	63	36	20
30 - Litovel	180	62	60	47	26
31 - Město Albrechtice	180	78	73	48	27
33 - <i>Larix leptolepis</i> Gord.	180	24	22	7	4

schopnosti přežití dalším důležitým kritériem pro jejich použitelnost v lesnické praxi. Zhoršený zdravotní stav na ploše se projevuje sníženým přírůstem, ve srovnání s jedinci zdravými, kratšími jehlicemi, nadměrným žloutnutím, případně opadáváním jehlic, prosýcháním korun. Z tab. III je patrné, že v průměru 86 % z celkového počtu rostoucích jedinců bylo klasifikováno stupněm 1, a pouze u zbytku, tj. 14 %, bylo konstatováno snížení vitality. Nejmenší podíl jedinců zcela zdravých vykazuje provenience 26 — Litovel, tj. pouze 75 %, zatímco dílčí populace 23 — Janovice, Malá Morávka je charakteristická tím, že plných 100 % jedinců bylo klasifikováno stupněm 1. Rozdíly ve zdravotním stavu, resp. mezi podílem jedinců zcela zdravých z celkového počtu rostoucích, jsou mezi proveniencemi statisticky nevýznamné (tab. IV). Je tedy

III. Základní charakteristika zkoumaných veličin — Basic characteristics of the test traits

Provenience	Výška		Výčetní tloušťka		Tvárnost kmene kategorie [%]				Zdravotní stav kategorie [%]	
	$\bar{x}_m$	Vk [%]	$\bar{x}_{cm}$	Vk [%]	1	2	3	4	1	2
2 - Bruntál	3,70	36	4,88	53	.	72	28	.	93	7
8 - Zábřeh	3,87	29	4,67	50	.	74	26	.	90	10
9 - Vítkov	4,16	38	5,92	51	.	71	26	3	84	16
10 - Vítkov	3,81	33	5,11	53	.	76	24	.	97	3
11 - Vítkov	3,18	44	3,82	65	.	59	41	.	79	21
12 - Vítkov	3,56	45	4,71	60	4	58	38	.	92	8
13 - Šternberk	3,36	38	4,44	50	.	63	37	.	88	12
14 - Šternberk	3,73	36	4,88	49	.	88	12	.	88	12
15 - Šternberk	3,71	29	5,11	49	2	76	22	.	93	7
16 - Krnov	3,50	37	4,79	46	.	64	36	.	93	7
17 - Krnov	3,83	33	5,02	62	.	71	29	.	88	12
18 - Krnov	3,53	37	4,32	58	.	59	41	.	97	3
19 - Ruda nad Moravou	3,93	33	4,95	50	.	74	26	.	93	7
21 - Janovice	3,39	37	4,50	61	2	67	31	.	98	2
22 - Janovice	3,89	37	5,03	51	3	70	27	.	94	6
23 - Janovice	4,82	27	6,45	42	.	77	23	.	100	.
24 - Janovice	3,83	40	5,10	50	3	85	12	.	95	5
25 - Litovel	4,27	36	5,77	49	.	77	23	.	97	3
26 - Litovel	3,02	50	4,04	68	.	57	39	4	75	25
27 - Litovel	3,53	42	4,69	54	.	72	28	.	81	19
28 - Litovel	3,69	57	5,35	46	.	81	19	.	90	10
29 - Litovel	4,24	32	5,83	50	.	75	25	.	94	6
30 - Litovel	4,65	25	6,34	48	2	94	4	.	96	4
31 - Město Albrechtice	3,65	40	4,94	61	.	71	29	.	88	12
33 - <i>Larix leptolepis</i> Gord.	4,33	23	7,17	37	.	67	33	.	100	.

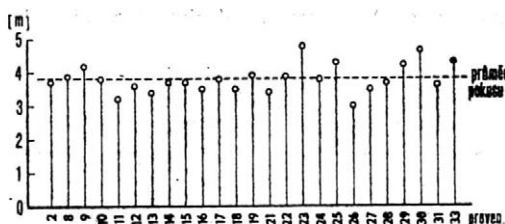


3. Podíl jedinců se sníženou vitalitou klasifikovaných jako kategorie 2 (z celkového počtu rostoucích) — The proportion of individuals with reduced growth vigour classified as category 2 (of the total number of the growing trees)

IV. Přehled výsledků analýzy variance — Survey of the results of the analysis of variance

Znaky vlastnosti	Příčina proměnlivosti	Součet čtverců	N	Průměrný čtverec	F
Podíl rostoucích jedinců	provenience	0,2326	23	0,0101	0,87 ^{NS}
	opakování	0,0704	3	0,0235	2,03 ^{NS}
	reziduální	0,7993	69	0,0116	
	celková	0,1023	95		
Zdravotní stav	provenience	1,4592	23	0,0634	1,33 ^{NS}
	opakování	0,8596	3	2,2865	6,02 ⁺⁺
	reziduální	3,2852	69	0,0476	
	celková	5,6040	95		
Průměrné výšky	lesní oblast	3,4029	5	0,6806	2,63 ⁺
	provenience	14,9123	18	0,8285	3,20 ⁺⁺
	opakování	4,0034	3	1,9345	5,16 ⁺⁺
	reziduální	17,8884	69	0,2587	
	celková	40,1670	95		
	vegetační lesní stupeň	3,4041	5	0,6608	2,55 ⁺
	provenience	15,0111	18	0,8340	3,22 ⁺⁺
	opakování	4,0034	3	1,3345	5,16 ⁺⁺
	reziduální	17,8484	69	0,2587	
	celková	40,1670	95		
Průměrné výčetní tloušťky	lesní oblast	7,2900	5	1,4580	1,62 ^{NS}
	provenience	35,0359	18	1,9464	2,16 ⁺
	opakování	2,3653	3	0,7551	0,84 ^{NS}
	reziduální	62,2304	69	0,9019	
	celková	107,1216	95		
	vegetační lesní stupeň	9,0075	5	1,8115	2,01 ^{NS}
	provenience	33,5684	18	1,8649	2,07 ⁺
	opakování	2,2653	3	0,7551	0,84 ^{NS}
	reziduální	62,2304	69	0,9019	
	celková	107,1216	95		
Tvárnost kmene	provenience	2,0268	23	0,0881	1,61 ^{NS}
	opakování	0,1672	3	0,0667	1,02 ^{NS}
	reziduální	3,7766	69	0,0547	
	celková	5,9706	95		

nutno, z hlediska zdravotního stavu, pokládat všechny zkoumané dílčí populace modřinu opadavého za stejnocenné. Vliv opakování na celkovou proměnlivost se projevuje jako statisticky vysoce významný, což je



4. Průměrné výšky proveniencí ve věku 18 let — The mean heights of the provenances at the age of 18 years

důsledkem značných rozdílů mezi souborem prvního a třetího bloku na straně jedné a souboru druhého a čtvrtého bloku na straně druhé. Příčinu tohoto jevu není možno vysvětlit. Nelze vyloučit vlivy náhodné povahy. Pokud jde o modřín japonský, byli všichni rostoucí jedinci zařazeni do kategorie 1.

VÝŠKOVÝ RŮST

Výšky ve věku 18 let (tab. III) se pohybují v mezích 3,02 m (provenience 26 — Litovel Bouzov) až 4,82 m (22 — Janovice, Malá Morávka). Průměrná výška je 3,80 m (obr. 4), což dokumentuje skutečnost, že modřín na ploše roste velmi pomalu s ohledem na extrémní klimatické a do určité míry i půdní podmínky. Podle průměrné výšky nedosahuje plocha jako celek zdaleka výšky, která charakterizuje třetí, tj. nejnižší bonitu růstových tabulek (Schöber, 1975). Značná je variabilita výškového růstu ve výběrových souborech jednotlivých proveniencí. Jak je patrné z analýzy (tab. IV) jsou rozdíly mezi proveniencemi statisticky vysoce významné. Od všech ostatních pokusných variant se statisticky významně odlišuje nejrychleji rostoucí provenience 23 — Janovice, Malá Morávka, pak v sestupném pořadí následuje dvojice dalších populací 30 — Litovel, Mírov a 21 — Janovice, Stará Ves. Soubor s nejpomalejším růstem tvoří provenience 11 — Vítkov, Budišov a 26 — Litovel, Bouzov. Modřín japonský patří co do výškového růstu na čtvrté místo v sestupném pořadí. Ve věku osmi let patřil k nejpomaleji rostoucím. Výsledky naznačují, že tento modřín, charakteristický mimořádně vysokou mortalitou v prvním desetiletí po výsadbě, roste v pozdějších fázích uspokojivě.

Větší počet proveniencí modřínu z jesenické (sudetské) oblasti, které jsou na výzkumné ploše zastoupeny, umožňuje formulovat otázku, z kterých lesních oblastí, případně z kterých vegetačních lesních stupňů se použití osiva modřínu v Krušných horách ukazuje jako nejvhodnější. 24 proveniencí jesenických modřínů autochtonních a alochtonních jesenického původu pochází celkem ze šesti lesních oblastí a ze šesti vegetačních lesních stupňů. Abychom mohli posoudit, jaký vliv má „lesní oblast“, respektive „vegetační lesní stupeň“ na proměnlivost výškového růstu potomstev zkoumaných dílčích populací, byl zvolen model hierarchického uspořádání analýzy variance s jednou podskupinou. Základní skupinu představuje lesní oblast, respektive vegetační lesní stupeň, podskupinu pak provenience.

Z výsledků analýz (tab. IV) vyplývá, že vliv lesních oblastí, stejně tak i vliv lesních vegetačních stupňů, v nichž je zastoupena jedna nebo větší počet zkoumaných proveniencí, je, pokud jde o výškový růst, statisticky významný. Na základě podrobnější analýzy zejména konfrontace průměrných veličin vypočtených pro soubory proveniencí zastoupených

v jednotlivých lesních oblastech a vegetačních lesních stupních, vyplývá, že na výzkumné ploše vykazují relativně nejlepší výškový růst soubory z lesní oblasti 27 — Hrubý Jeseník a z vegetačního lesního stupně 6 — smrkobukového. Hypotéza formulovaná již v dřívějších pracích z roku 1932 a 1958/59 (Šindelář, 1964) je uvedenými výsledky z plochy 16 podpořena.

VÝČETNÍ TLOUŠTKY

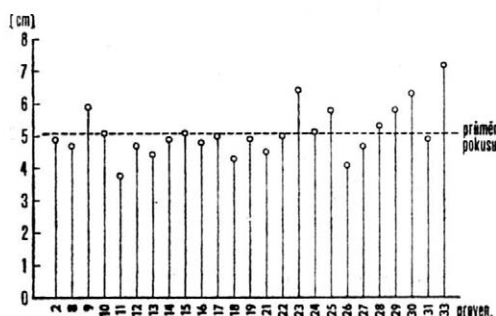
Průměrné výčetní tloušťky zkoumaných dílčích populací jsou patrné z tab. III a z obr. 5. Obdobně, jako růst výškový je i růst tloušťkový velmi pomalý a průměrná tloušťka pro celou plochu (5,10 cm) je značně menší, než tatáž veličina hlavního porostu pro III. bonitu růstových tabulek (Schober, 1975). Variační koeficient výčetních tloušťek dosahuje v průměru celé plochy 51 % a pokud jde o jednotlivé dílčí populace pohybuje se pro modřín opadavý v mezích od 46 do 68 %. Rozdíly mezi průměrnými výčetními tloušťkami proveniencí druhu *Larix decidua* jsou statisticky významné. Vliv opakování není statisticky signifikantní. Na základě Duncanova mnohonásobného pořadového testu bylo možno na úrovni pravděpodobnosti chyby $0,05 < p \leq 0,01$ proveniencí rozdělit do několika skupin. První skupinu s největším přírůstkem tvoří dvě proveniencí, a to 23 — Janovice, Malá Morávka a 30 — Litovel, Mírov. Tyto dílčí populace patří i ve výškovém růstu k nejhodnotnějším. Nejslaběji rostou proveniencí 11 — Vítkov, Budišov a 26 — Litovel, Bouzov. Výčetní tloušťkou vyniká modřín japonský. Značné výčetní tloušťky jsou však patrné i důsledkem téměř soliterního růstu tohoto modřínu na parcelách.

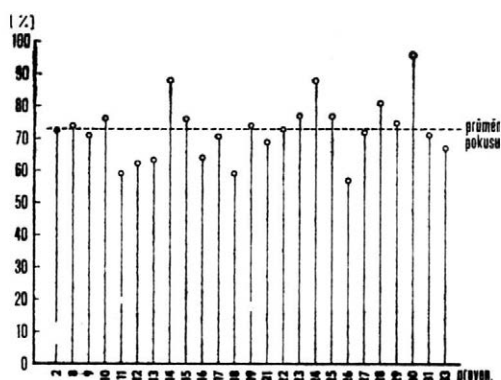
Jako u výškového růstu byl sledován vliv lesní oblasti a vegetačního lesního stupně na tloušťkový růst potomstev (tab. IV). Zatímco u výškového růstu se vliv lesních oblastí a vegetačních lesních stupňů ukazoval, pokud jde o celkovou proměnlivost zkoumaného materiálu, jako statisticky signifikantní, u růstu tloušťkového je vliv těchto faktorů nevýznamný.

TVÁRNOST KMENE

V hřebenových partiích Krušných hor působí některé ekologické faktory, především námraza a ledovka, v lesních porostech deformace korun a kmenů stromů. Modřín, i když v zimním období nemá jehlice, námrazou, případně ledovkou značně trpí. Při výběru proveniencí pro praktické použití v exponovaných oblastech Krušných hor nelze proto opomenout otázku, do jaké míry jednotlivé proveniencí odolávají destrukčním vlivům prostředí, do jaké míry je odolnost podmíněna dědičně

5. Průměrné výšky výčetní tloušťky proveniencí ve věku 18 let — The mean heights of the breast-height diameter of the provenances at the age of 18 years





6. Podíl jedinců s kmenem zcela přímým nebo jen mírně zakřiveným (z celkového počtu rostoucích) — The proportion of trees with straight stems or slightly curved stems (of the total number of the growing trees)

a jak se tyto vlivy projevují v morfologických vlastnostech kmene a koruny.

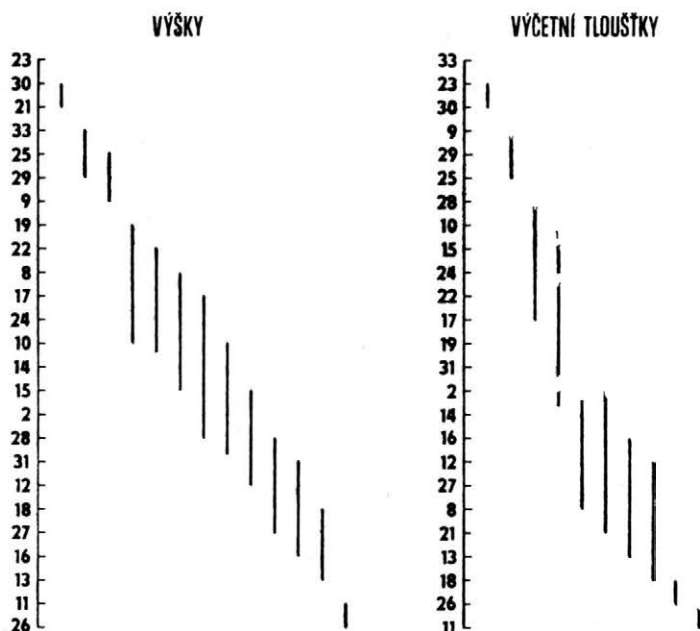
Výsledky klasifikace tvárnosti kmene jsou zřejmé z tab. III a obr. 6. Na celé ploše se modřiny s kmenem zcela přímým vyskytují jen ojediněle, a to pouze u pěti z celkového počtu dvacetipěti zkoumaných proveniencí. Podstatná část stromů na ploše byla bonitována stupněm 2, tj. jedinci s kmenem mírně zakřiveným. Tato vada, u modřinu častá, je z hlediska hospodářské hodnoty únosná. Vzhledem k tomu, že stromy kategorie 2 lze považovat z hospodářského hlediska ještě za vyhovující, byly při statistickém hodnocení kategorie 1, 2 shrnuty do rámce jednoho souboru.

Z analýzy vyplývá, že rozdíly mezi zkoumanými proveniencemi jsou statisticky nevýznamné, a to přesto, že podíl jedinců první a druhé kategorie dohromady podle proveniencí dosti kolísá. Příčinou výsledků statistické analýzy (tab. IV) je zřejmě značná proměnlivost mezi parcelami, což má za následek vysoký podíl reziduální variance. Tuto skutečnost dokumentuje mimo jiné i relativně nízká hodnota opakovatelnosti pokusu (Weber, 1961), a to $h^2 = 0,037$.

SYNTETICKÁ CHARAKTERISTIKA PROVENIENCÍ

Z hlediska praktického využití, případně i pro účely dalšího šlechtění je důležité posouzení určité zkoumané dílčí populace nikoli pouze podle jednoho znaku, nýbrž na základě většího počtu hospodářsky nebo šlechtitelsky významných znaků souborně. V našem případě by bylo možné zhodnocení na základě pěti znaků, které byly předmětem výzkumu (podíl rostoucích sazenic, zdravotní stav, výškový růst, tvárnost kmene). Jde o znaky významné, z nichž první dva postihují především životaschopnost, výškový růst a později růst do tloušťky může být považován v mladém věku za základní indikátor produkční schopnosti. Tvárnost kmene pak představuje znak charakterizující do značné míry jakostní předpoklady produkce. Z analýzy jednotlivých znaků vyplývá, že rozdíly mezi ukazateli podílu rostoucích sazenic, zdravotního stavu a tvárnosti kmene jsou statisticky nevýznamné. S ohledem na tuto skutečnost je třeba všechny provenience považovat ve jmenovaných znacích za stejnocenné. Pro charakteristiku zbývají proto pouze průměrné výšky a průměrné výčetní tloušťky.

Nadprůměrným výškovým a tloušťkovým růstem vynikají z dílčích



populací modřinu opadavého především provenience 23 — Janov, Malá Morávka, dále 30 — Litovel, Mírov, 25 — Litovel, Bouzov a 9 — Vítkov, Nové Lublice. Provenience 23 a 9 lze považovat za autochtonní jesenický modřín, 30 a 25 za modřín alochtonní jesenického původu. Pomalu rostou dílčí populace 11 — Vítkov, Budišov, 18 — Krnov, Ježník a některé další.

Na výzkumné ploše vykazují relativně nejrychlejší výškový růst soubory proveniencí z lesní oblasti 27 — Hrubý Jeseník a z vegetačního lesního stupně 6 — smrkobukového. Z výsledků proto vyplývá, že při dalším využívání modřinu opadavého v Krušných horách by mělo být, pokud jde o jesenický modřín, využíváno přednostně osivo získané z uznaných porostů relativně vyšších vegetačních lesních stupňů (stupeň 5 — jedlové bučiny a 6 — smrkové bučiny).

Ze 24 proveniencí modřinu opadavého lze 14 s jistotou považovat za dílčí populace autochtonní, 19 — Ruda nad Moravou je pravděpodobně autochtonní, ostatní jsou dílčí populace kulturní s vysokou pravděpodobností jesenického původu. Pokud jde o průměrné výšky, vykazují obě skupiny prakticky stejné hodnoty, v tloušťkovém růstu se ukazuje malý rozdíl ve prospěch souboru proveniencí kulturního původu. Difference je malá a představuje pouze asi 4 % z průměrné hodnoty souboru původních dílčích populací. Na základě tohoto srovnání lze formulovat závěr, že pro účely obnovy a rekonstrukce porostů v Krušných horách lze používat se stejnými vyhlídkami na úspěch jak osiva z uznaných jednotek původního jesenického modřinu, tak i z uznaných jednotek kulturních, jesenického původu.

Velmi dobrý vzrůst na výzkumné ploše vykazuje několik zbylých jedinců modřinu japonského. Tento modřín předstihuje průměrnou hodnotu výčetní tloušťky všechny dílčí populace modřinu opadavého a rovněž průměrná výška jej řadí do čelní skupiny relativně rychle rostoucích díl-

cích populací. Praktická použitelnost vhodných proveniencí modřínu japonského v širším měřítku je však limitována značnou mortalitou po výsadbě.

DISKUSE

Možnosti konfrontace výsledků registrovaných na výzkumné ploše 16 s jinými informacemi o modřínu v Krušných horách jsou omezené. Na základě zhodnocení ploch z roku 1932 (Rubner, 1941; Šindelář, 1964, 1978) bylo možno konstatovat, že se nejlépe osvědčily dílčí populace československých modřínů. K obdobným výsledkům vedlo šetření na výzkumné ploše 03-IUFRO 1958/59 (výsadba na jaře 1962) v nadmořské výšce 700 m na lokalitě v rámci stupně ohrožení B (Šindelář, 1964, 1978, 1979, 1983, 1984). Vedle československých modřínů, zvláště proveniencí z Vysokých Tater (52/90 — Štrbské Pleso), vykazuje na této, klimaticky přece jen poněkud méně exponované lokalitě, uspokojivý růst i modřín japonský proveniencí 36 — Ina.

Zkušenosti z těchto starších výzkumných ploch, souhlasně s výsledky šetření na ploše 16, naznačují, že v hřebenových, ekologicky exponovaných lokalitách Krušných hor nebude patrně možno od modřínu očekávat hodnotnou produkci kvalitního dřeva. Starší i mladší výzkumné plochy však dokumentují, že modřín, přestože v mládí vykazuje vysokou mortalitu, trpí trvale znečištěním ovzduší, přežívá ve výsadbách podstatně lépe než smrk ztepilý a rostoucí jedinci vykazují relativně dobrý zdravotní stav.

Jirgler (1981) sledoval poloprovozní výsadby řady dřevin na dalších lokalitách v různých pásmech ohrožení. Pokud jde o lokality na minerálních půdách v pásmu ohrožení A, konstatoval u modřínu vysoké ztráty v prvních dvou letech po výsadbě. Růst sazenic, které přežily, je uspokojivý. Ztráty po výsadbě byly způsobeny útlakem buřene, zatížením sněhu, namrzání nevyzrálých letorostů a tím, že sazenice byly vysazovány již narašené. Pozdější škody byly způsobeny převážně zvěří (vytloukání). Obdobné výsledky byly konstatovány i na minerálních půdách v pásmu ohrožení C. Bradáč (1986) konstatuje, že modřínové výsadby na kalamitních holinách měly v minulosti neúměrné ztráty už v roce výsadby. Kultury po vyrašení namrzají a sazenice, pokud nejsou dostatečně vyspělé a zakořeněné, se schopností regenerace, usychají. Doporučujeme proto používat obalených sazenic a jejich výsadbu až po období pozdních mrazů.

Citované informace a zkušenosti se v celkových výsledcích do značné míry shodné s poznatky získanými na ploše 16. Obdobné jsou zejména údaje o vysoké mortalitě modřínu v prvních letech po výsadbě a o dobrém zdravotním stavu sazenic, které přežily.

ZÁVĚR

Výsledky šetření na srovnávací ploše s potomstvy jesenických modřínů představují informace o životaschopnosti, růstu a jakosti modřínů ve stadiu mlazin. V exponovaných poměrech hřebenových partií Kruš-

ných hor na minerálně chudých půdách, v oblastech se značným imisním zatížením (pásmo ohrožení A) roste modřín na kalamitních holinách velmi pomalu. Po výsadbě vznikají značné ztráty na kulturách jako důsledek toho, že často bývají sazenice modřínu vysazovány narašené, dále vlivem pozdních mrazů, škod zvěří a buřeně. Mortalitu zvyšuje v některých letech i poškození při odtávání sněhu a přimrzání v noci (sčísnutí větví).

Z jesenických modřínů, jejichž potomstva jsou ověřována na výzkumné ploše 16, se zatím ve věku 18 let nejlépe osvědčila potomstva 23, 30, 25, 9 (charakteristika v tab. I).

Přestože modřín na výzkumné ploše, v souladu s výsledky šetření jiných pracovníků výzkumu a se zkušenostmi lesnické praxe, vykazuje v prvních letech po výsadbě na kalamitních holinách značnou mortalitu, výsledky výzkumu opravňují názor, že s touto dřevinou je třeba při obnově lesních porostů v průměrné míře počítat. Současná lesnická praxe tyto tendence realizuje. Závěry vyplývají ze skutečnosti, že modřín, pokud přežije první kritické roky po výsadbě, roste ve srovnání s ostatními vysazenými druhy dřevin uspokojivě a vykazuje dobrý zdravotní stav.

V Krušných horách je vhodné využívat československých proveniencí modřínu. Pokud jde o modřín jesenický (sudetský), jsou vhodná jak potomstva dílčích populací autochtonních, tak i alochtonních jesenického původu. Není možné se omezovat při volbě uznaných jednotek pouze na materiál vyšších poloh, i když výsledky naznačily poněkud rychlejší výškový růst potomstev z porostů vyšších nadmořských výšek (vegetační lesní stupeň jedlobukový a smrkobukový). V těchto lesních vegetačních stupních existuje v současné době jen velmi málo uznaných jednotek jesenického modřínu a možnosti získání osiva z těchto jednotek jsou omezené. Doporučuje se proto uvážit možnosti založení jedné nebo dvou semenných plantáží modřínu s využitím výběrových stromů se zmíněných vyšších vegetačních lesních stupňů.

Výsledky výzkumu získané v Krušných horách bude možné pravděpodobně aplikovat v analogických podmínkách některých dalších horských oblastí v ČSR, zejména v Jizerských horách. Možnosti využití modřínu k zalesňování kalamitních holin v Hrubém Jeseníku dokládá skutečnost, že modřín jesenický je ve východních částech tohoto pohoří dřevinou původní a jeho spontánní výskyt byl registrován do nadmořské výšky přibližně 1000 m (Š i n d e l á ř, 1965). K objasnění specifické problematiky modřínu v Moravskoslezských Beskydech byly v roce 1985 založeny tři výzkumné plochy provenienční na lesních závodech Ostravice, Frenštát pod Radhoštěm a Rožnov pod Radhoštěm. V sortimentu proveniencí jsou zastoupeny přibližně stejným počtem dílčí populace z ČSR a SSR. S prvním hodnocením těchto ploch se počítá v období 1991 až 1995.

Literatura

- BRADÁČ, V.: O zalesňování kalamitních holin na Krušných horách. Les. Práce, 65, 1986, č. 11, s. 508-511.
JIRGLE, J.: Specifické problémy obnovy lesa v imisních oblastech Krušných hor a jejich řešení. [Kandidátská disertační práce.] Jíloviště-Strnady 1981. VÚLHM. 113 s.

PLÍVA, K.: Diferencované způsoby hospodaření v lesích ČSR. SUN Praha, 1980, 214 s.

RUBNER, K.: Die Ergebnisse zehnjähriger Lärchenherkunftsversuche in Erzgebirge. Thar. Forstl. Jahrbuch, 92, 1941, s. 15-48.

SCHOBER, R.: Ertragstabeln wichtiger Baumarten. 1975, J. D. Sauerländers Verlag, Frankfurt am Main, 154 s.

SINDELÁŘ, J.: Československé výzkumné provenienční plochy modřínu v Krušných horách z r. 1932. [Práce výzkumných ústavů lesnických ČSSR.] 29, 1964, s. 51-102.

SINDELÁŘ, J.: Fenotypová charakteristika populace jesenického modřínu. [Závěrečná zpráva.] Jíloviště-Strnady, VULHM 1965. 197 s.

SINDELÁŘ, J.: Využití modřínu pro zalesňování kalamitních holin v Krušných horách. Les. Práce, 57, 1978, č. 6, s. 245-253.

SINDELÁŘ, J.: Využití proveniencí a hybridů modřínu k zalesnění kalamitních holin v Krušných horách. Lesnictví, 25, 1979, č. 2, s. 99-116.

SINDELÁŘ, J.: Evaluation of some Czechoslovak experimental provenance areas of Larch IUFRO 1958/59 Series at age of 20 years. Comm. Inst. forest. Czechoslov. 13, 1983, s. 59-72.

SINDELÁŘ, J.: Einige Erfahrungen mit der Lärche (*Larix decidua* Mill.) in den Immissionsgebieten. In: Sborník S 2.09 Konference IUFRO Most 1984, s. 275-285.

WEBER, E.: Grundriss der biologischen Statistik für Naturwissenschaftler, Landwirte und Mediziner. Jena 1961, 564 s.

Modely hospodaření. Lesprojekt, ústav inženýrské činnosti Brandýs nad Labem, 1985, 144 s.

Došlo dne 17. 2. 1988

ШИНДЕЛАРЖ, Й. (Научно-исследовательский институт лесного и охотничьего хозяйства, Йиловиште-Стрнады): Изменчивость состояния здоровья, роста и качества лиственницы опадающей (*Larix decidua* Mill.) разного происхождения в лесной области I — Крушные горы. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 755-768.

В 1969 г. в лесхозе Янов в Крушных горах был разбит опытный лесоучасток по определению происхождения лиственницы опадающей. Он состоял из 25 вариантов. В ходе оценки в возрасте 18 лет устанавливали смертность, состояние здоровья, высоту и диаметр на высоте груди, классифицировали форму (качество) ствола. Для дальнейшего выращивания как в Крушных горах, так и в остальных областях герцинско-судетских верховин рекомендуется прежде всего высаживать есеницкие (судетские) лиственницы из значительной высоты н. у. м. (лесная ступень 5,6). А для обеспечения семенного материала закладывать семенные плантации.

исследование происхождения; газообразные выбросы; лиственница

SINDELÁŘ, J. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady): Variability of the Health Condition, Growth and Quality of European Larch (*Larix decidua* Mill.) of Different Provenances in Forest Region 1 — the Ore Mountains. Lesnictví, 34, 1988 (8) : 755-768.

An experimental area with European larch of different origins was set up in the territory of the Janov Forest Establishment in the Ore Mountains (Krušné hory Mts.) in 1969. The area comprises 25 experimental variants. The mortality and health condition of the trees were recorded at the age of 18 years, their heights and breast-height diameter were measured, and the plasticity (quality) of wood were classified. For further cultivation in the Ore Mountains and other Hercynian-Sudeten mountain areas it is recommended to give preference to the Jesenice (Sudetic) larches from sites situated higher above sea level (vegetation altitudinal zone 5.6). Seed plantations are recommended to be established to provide seeds.

provenance research; air pollution; European larch

Adresa autora:

Ing. Jiří Sindelář, CSc., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady, 156 04 Praha 5 - Zbraslav

CONTENTS

Šindelář J., Paule L.: Genetics and Breeding of Forest Species . . .	673
Vyskot B.: Genetic Manipulations with the Plant Cell and their Prospects in Forest Tree Breeding . . .	694
Paule L.: Breeding Programmes and Breeding Strategies in Forest Tree Species . . .	704
Chalupa V.: <i>In vitro</i> Propagation of Small-leaved Linden (<i>Tilia cordata</i> Mill.), Locust Tree (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) and European Mountain Ash (<i>Sorbus aucuparia</i> L.) and the Growth of Trees Cultivated <i>in vitro</i> . . .	719
Kormuták A.: Isoenzyme and Serological Variability of Selected Fir (<i>Abies</i> sp.) Species . . .	729
Pospíšil J., Alferi L.: The Importance of Forest Tree Breeding: An Example of the Aspen . . .	754
Šindelář J.: Variability of the Health Condition, Growth and Quality of European Larch (<i>Larix decidua</i> Mill.) of Different Provenances in Forest Region 1 — the Ore Mountains . . .	768

INHALT

Šindelář J., Paule L.: Genetik und Züchtung von Waldbaumarten . . .	673
Vyskot B.: Genetische Manipulationen mit der pflanzlichen Zelle und ihre Perspektiven bei der Züchtung von Waldbaumarten . . .	694
Paule L.: Züchtungsprogramme und züchterische Strategien bei Waldbaumarten . . .	704
Chalupa V.: Vermehrung der Linde (<i>Tilia cordata</i> Mill.), der Robinie (<i>Robinia pseudoacacia</i> L.) und der Eberesche (<i>Sorbus aucuparia</i> L.) <i>in vitro</i> und das Wachstum der <i>in vitro</i> gezogenen Bäume . . .	719
Kormuták A.: Isoenzymatische und serologische Variabilität ausgewählter Tannenarten . . .	730
Pospíšil J., Alferi L.: Bedeutung der Züchtung von Waldbaumarten am Beispiel der Aspe . . .	(E) 754
Šindelář J.: Veränderlichkeit des Gesundheitszustandes, des Wachstums und der Qualität verschiedener Provenienzen der europäischen Lärchen (<i>Larix decidua</i> Mill.) im Forstgebiet 1 — Erzgebirge . . .	(E) 768

LESNICTVÍ č. 9/1988

má uveřejnit tyto práce:

Kobliha J.: Proměnlivost hybridních potomstev v rámci rodu *Abies*

Laffers A.: Premenlivost borovice sosny spišskej oblasti

Greguss L.: Medzidruhovú hybridizácia — náhrada za ustupujúcu jedľu bielu

Bies R., Križo M., Koríneková M.: Niektoré abnormality v morfogénéze generatívnych orgánov jedle bielej (*Abies alba* Mill.)

Mráček Z.: Migrace klikoroha borového (*Hyllobius abietis* L.)

Križo M.: Obsah popola a minerálních prvků v pelli niektorých druhov lesných drevín

Mráz A.: Matematické modelování hydraulického řešení stupňů

Lesnictví č. 9/1988 stojí 12,— Kčs. Objednávky přijímá

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Slezská 7, 120 56 Praha 2

Poštovní novinová služba, Jindřišská 14, 110 00 Praha 1

Vědecký časopis LESNICTVÍ • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka RNDr. Marie Forejtová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MİR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.