

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA LESNICKÁ A DŘEVAŘSKÁ

Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin



**Studium genetické diverzity jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.)
na vybraných lokalitách v NP Šumava s využitím analýz
isoenzymů**

Disertační práce

2010

Autor: Ing. Jana EŠNEROVÁ

Školitel: prof. Ing. Jaroslav KOBLIHA, CSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci na téma „Studium genetické diverzity jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) na vybraných lokalitách v NP Šumava s využitím analýz isoenzymů“ vypracovala samostatně s využitím citované literatury.

V Kladně dne 8.8.2010

Ing. Jana Ešnerová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat všem, kteří mi přímo či nepřímo pomáhali při zpracování disertační práce. Poděkování za pomoc a cenné rady poskytnuté při sběru a zpracování vzorků a při vyhodnocování dat patří pracovníkům genetické laboratoře GenLab, Mgr. Jiřímu Mánkovi a Bc. Richardu Kolářovi. Poděkování patří také mému školiteli, prof. Ing. Jaroslavu Koblihovi, CSc. Doc. Ing. Dušanu Gömörymu, CSc. bych ráda poděkovala za připomínky k závěrečnému zpracování práce. Za podporu i rady, které mi byly poskytovány nejen při psaní disertační práce, ale po dobu celého studia, bych chtěla poděkovat rodině a kolegům na FLD.

Poděkování patří i řešitelům grantu NPV II MŠMT 2B06012 – Management biodiverzity v Krkonoších a na Šumavě, prof. RNDr. Stanislavu Vackovi, Dr.Sc. a Ing. Karlu Matějkovi, CSc., bez jejichž finanční podpory ze zmíněného grantu by práce nemohla vzniknout.

Anotace

Jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.) patří k významným evropským hospodářským dřevinám. V minulých dvou stoletích však u ní byly pravidelně v mnoha zemích pozorovány příznaky odumírání. Výzkumu jedle bělokoré byla proto věnována zvýšená pozornost. Do popředí se v zahraničí dostávají studie, které se zabývají sledováním jedle bělokoré pomocí genetických markerů. Cílem těchto studií je zjistit, jak variabilním druhem jedle bělokorá je a jak je její variabilita v populacích rozložena. Předložená práce se zabývá sledováním jedle bělokoré v České republice na území NP Šumava. Pomocí horizontální elektroforézy isoenzymů bylo sledováno pět populací. Genetická diverzita byla sledována s využitím devíti enzymových systémů (IDH, GDH, GOT, LAP, PGM, PGI, PEROX, PEPCA, 6PGDH). Výsledky ukázaly, že úroveň genetické variability mezi populacemi byla přibližně 6 % a současně byly pozorovány malé genetické vzdálenosti. Oba tyto výsledky jsou v souladu s publikovanými výsledky zahraničních výzkumů. V šumavských populacích byly pozorovány alely, které jsou typické pro populace jedlí rostoucích v západní a centrální části Evropy. Podobnost sledovaných populací s populacemi západoevropskými byla podpořena také hodnotami pozorované heterozygotnosti.

Klíčová slova: NP Šumava, jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.), genetická diverzita, isoenzymy

Anotation

European silver fir (*Abies alba* Mill.) is one of the important commercial forest-tree species. Nevertheless, symptoms of its dieback were regularly observed in a number of countries over the last two centuries. It has therefore been the reason for increasing research activities. Particularly highlighted have been the foreign studies analysing European silver fir through the method of genetic markers. These scientific papers aim mainly at the identification of the variability of European silver fir and how is its variability distributed in its populations. This submitted study is considering the European silver fir in the Czech Republic in the area of the Šumava National Park. Genetic study of five populations was made using isozyme electrophoretic approach. Nine enzyme systems (IDH, GDH, GOT, LAP, PGM, PGI, PEROX, PEPCA, 6PGDH) were used in total. The results showed that the level of genetic diversity was among the observed populations approximately 6 % and the genetic distance was small. These conclusions are consistent with the results published

in foreign research papers. Alleles that typically occur in European silver fir populations of western and central Europe were observed in the Šumava populations as well. Similarity of the observed populations to the populations of western Europe was also supported by the observed values of heterozygosity.

Key words: Šumava national park, European silver fir (*Abies alba* Mill.), genetic diversity, isozymes

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce.....	2
3	Literární rešerše.....	3
3.1	Jedle bělokorá (<i>Abies alba</i> Mill.).....	3
3.1.1	Popis druhu	3
3.1.2	Paleobotanické nálezy a postglaciální šíření jedle bělokoré.....	5
3.1.3	Současné rozšíření jedle bělokoré.....	11
3.2	Genetické studie jedle bělokoré	13
3.2.1	Polymorfismus a dědičnost isoenzymových systémů.....	13
3.2.2	Genetická struktura populací jedle bělokoré v jednotlivých státech	14
3.2.3	Genetická struktura populací jedle bělokoré v rámci jejího areálu	19
3.2.4	Sledování vlivu abiotických faktorů pomocí isoenzymů.....	21
3.2.5	Genetické studie vybraných druhů rodu <i>Abies</i>	23
3.2.6	Využití isoenzymů při sledování jedle bělokoré v dalších studiích.....	24
3.3	Metoda elektroforézy isoenzymů.....	25
3.3.1	Genetické markery	25
3.3.2	Isoenzymy jako genetické markery a jejich využití v lesnické genetice	25
3.3.3	Elektroforéza.....	27
4	Materiál a metodika.....	30
4.1	Výběr lokalit.....	30
4.2	Sběr vzorků	30
4.3	Laboratorní zpracování	31
4.4	Statistické hodnocení	32
5	Výsledky.....	36
5.1	Charakteristika sledovaných enzymových systémů a hodnocení genotypů	36
5.1.1	Sledované enzymové systémy	36
5.1.2	Hodnocení genotypů	39
5.2	Hodnocení jednotlivých populací	43
5.2.1	Alelické frekvence	43
5.2.2	Hodnocení alelových frekvencí na jednotlivých lokalitách.....	44
5.2.3	Hodnocení alelových frekvencí v závislosti na geografické poloze a nadmořské výšce.....	46

5.2.4	Hodnocení podílu polymorfních lokusů	46
5.2.5	Podíl heterozygotních jedinců v populacích.....	46
5.2.6	Fixační index pro jednotlivé lokusy.....	49
5.2.7	Testování platnosti Hardy-Weinbergovy rovnováhy v populacích	50
5.3	Souhrnné zhodnocení populací	51
5.3.1	Základní genetické charakteristiky	51
5.3.2	Analýza genetické struktury populací.....	53
5.3.3	Genetické vzdálenosti mezi populacemi.....	54
6	Diskuse	55
6.1	Frekvence alel	55
6.2	Podíl polymorfních lokusů a průměrný počet alel na lokus.....	59
6.3	Pozorovaná a očekávaná heterozygotnost.....	61
6.4	Genetická struktura populací.....	62
6.5	Genetická vzdálenost populací.....	63
7	Závěr	64
8	Literatura	66
9	Přílohy	78

1 Úvod

Jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.) patří k významným evropským hospodářským dřevinám. V minulých dvou stoletích však u ní byly pravidelně pozorovány příznaky odumírání. V počátcích se odumírání projevovalo v geograficky ohraničených oblastech zejména v severní části jejího přirozeného rozšíření, později bylo odumírání pozorováno již v rámci celého jejího areálu (BERGMANN a kol. 1990). Výzkumu jedle bělokoré byla proto věnována zvýšená pozornost. Zpočátku studie ke sledování využívaly zejména znaků morfologických. Velmi významné bylo také využití provenienčních výzkumů. Právě na základě srovnávání jednotlivých proveniencí byl stanoven závěr, že odumírání jedle je způsobeno především nedostatečnou genetickou variabilitou populací v centrální a severovýchodní části Evropy, což obecně vede k nízké schopnosti adaptace (LARSEN 1986). Do popředí se tedy dostávají studie, které se zabývají sledováním jedle bělokoré pomocí genetických markerů. Cílem těchto studií je zjistit, jak variabilním druhem jedle bělokorá je a jak je variabilita rozložena. Geografické rozložení genetické variability je u většiny evropských dřevin dáno jejich rozmístěním během posledního zalednění a jejich postglaciálním šířením do podoby současných přirozených areálů rozšíření. Přežívání druhů v několika geograficky izolovaných refugiích v době ledové mohlo vést k více či méně zřetelné genetické diferenciaci populací, která byla způsobena vlivem mutací, selekce a genetického driftu (BERGMANN 1991). Výzkumy proto probíhají jak v jednotlivých geografických oblastech či v jednotlivých státech, tak vznikají studie, které sledují jedli napříč celým jejím areálem rozšíření. Velmi často se ke sledování používá metoda elektroforézy isoenzymů.

V předložené studii bylo s ohledem na splnění stanovených cílů grantu, ze kterých byl výzkum jedle bělokoré finančně podporován, sledováno pět populací rostoucích na území NP Šumava. Dodatečné finanční prostředky na provedení rozsáhlejší studie uvolněny nebyly.

2 Cíl práce

Hlavním cílem disertační práce je posouzení genetické variability vybraných populací jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) rostoucích na území NP Šumava s využitím analýz isoenzymů. Výsledky provedených genetických analýz budou porovnány s publikovanými výsledky zahraničních studií zabývajících se jedlí bělokorou v rámci celého jejího areálu rozšíření.

3 Literární rešerše

3.1 Jedle bělokora (*Abies alba* Mill.)

3.1.1 Popis druhu

Jedle bělokora (*Abies alba* Mill.) je v České republice jediným autochtonním zástupcem rodu *Abies*. Rod *Abies* zahrnuje jednodomé, vždyzelené stromy, dorůstající výšky (10-) 30 – 60 (-90) m. Do vysokého stáří mají výrazně monopodiální, vzpřímenou stavbu výhonu, s přeslenitým větvením. Jsou to dlouhověké dřeviny dožívající se až 800 let (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Celkem je popsáno asi 40 - 50 druhů rozšířených v mírném pásmu severní polokoule nebo v horách pásů teplejších (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). LIU (1971) uvádí celkem 39 druhů. V Evropě jsou původní 4 základní druhy. Jihošpanělská *Abies pinsapo*, sibiřská *Abies sibirica* a středo- až jihoevropské *Abies alba* a *Abies cephalonica*. Další dva druhy jsou přechodné či hybridogenní typy *Abies alba* a *Abies cephalonica* a jsou to sicilský endemit *Abies nebrodensis* a *Abies borisii-regis* rostoucí v oblasti Řecka, jižního Bulharska a Makedonie. Ze severozápadní části Afriky jsou popsány dva druhy blízké jedli španělské (*Abies pinsapo*) a to *Abies numidica* z Alžíru a *Abies marocana* rostoucí v Maroku. Z oblasti Malé Asie a Kavkazu byly popsány *Abies cilicica* a blízké příbuzné druhy *Abies nordmanniana*, *Abies bornmuelleriana* a *Abies equitrojani* (mapka rozšíření středoziemních jedlí viz Příloha 1 – mapka A). Ve zbylé části Asie roste největší počet druhů jedlí vůbec. Například sibiřská *Abies sibirica*, která svým areálem zasahuje i do Evropy, nebo východoasijské druhy jako je *Abies veitchii*, *Abies firma*, *Abies homolepis*, *Abies squamata* nebo *Abies koreana*. V Severní Americe roste celkem 11 druhů, z nichž lesnický nejvýznamější jsou *Abies grandis*, *Abies concolor* a *Abies procera* (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Jedle bělokora je strom dorůstající výšky 30 až 65 m (HEJNÝ & SLAVÍK 1997) a průměru kmene přes 2 m (ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Dožívá se věku 300 až 600 let (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Nejstarší stromy mohou mít objem až 45 m³ (ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Jedle s největším objemem rostla v Černém lese v Německu. Při výšce 68 m a průměru v 1,3 m měla údajně objem 140 m³ (SCHÜTT 1994 in MUSIL & HAMERNÍK 2007). Na Šumavě na Vyšebrodsku rostla „jedle knížete Josefa“ s objemem 65,28 m³ (MIKULA 1997 in ÚRADNÍČEK & MADĚRA 2005). V šumavské rezervaci Boubín roste v současnosti pravděpodobně nejmohutnější jedle v ČR, která je vysoká 55 m a má výčetní tloušťku 137 cm (ÚRADNÍČEK & MADĚRA 2005).

Jedle bělokorá je dřevina s výrazným kůlovým kořenem (nebo až srdcovitým kořenovým systémem) a z postranních kořenů vyrůstají hluboko sahající upevňovací kořeny („panohy“) (ÚRADNÍČEK a kol. 2001, MUSIL & HAMERNÍK 2007). Borka jedle je hladká, bělošedá, až v pozdním stáří podélně rozpukaná (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). Koruna je zpočátku kuželovitá, později válcovitá, ve stáří s vrcholem nezřetelným, jakoby utřatým (vytváří tzv. „čapí hnízdo“) (ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Je velmi pravidelně rozvětvená (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Větve od kmene odstávají téměř v pravém úhlu. Větvení druhého řádu je ploché. Mladé větvičky jsou tmavošedě plstnaté (HEJNÝ & SLAVÍK 1997, ÚRADNÍČEK a kol. 2001, MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Pupeny jedle bělokoré jsou vejcovité, světle hnědé, bez pryskyřice, jen vzácně na bázi mohou být slabě pryskyřičnaté. Jehlice jsou dvouřadě uspořádané, 2 – 3 cm dlouhé, na líci tmavě zelené, lesklé, s podélnou rýhou, na rubu se dvěma bílými proužky, na vrcholu většinou slabě vykrojené, na bázi rozšířené. Jehličí vytrvává 8 – 11 let (HEJNÝ & SLAVÍK 1997, ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Samčí šištice jsou žlutavé, samičí zelené a později nafialovělé, při dozrávání dřevnatí (ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Šišky jsou vzpřímené, válcovité, 10 – 30 cm dlouhé s vyčnívajícími podpůrnými šupinami, rozpadavé (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). Plodit začíná v porostech mezi 60. – 70. rokem, jako solitéra plodí již kolem 30-ti let. Plodné roky jsou nepravidelné v rozmezí 2 – 6 let (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Semena jsou zpravidla 7 – 10 mm dlouhá, tříhranná, leskle hnědá, pryskyřičnatá s křídlem 2x delším (HEJNÝ & SLAVÍK 1997, MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Vývoj jedle bělokoré je v mládí pomalý. Výškový přírůst se zrychluje až kolem 15-ti let a kulminuje ve věku 30 – 40 let (v nepříznivých podmínkách i později). Objemový přírůst dosahuje maxima mezi 55 – 65 lety (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Jedle bělokorá roste na hlubokých půdách, které jsou středně vlhké až vlhké. Výjimečně se může objevit na půdách rašelinných nebo kamenitých. Z hlediska obsahu živin jí vyhovují půdy jak minerálně bohatší, tak chudší. Vyhýbá se mělkým půdám na vápenci, ale na odvápněných hlubších půdách růst může (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). Nejlépe se jí daří na hlubokých čerstvých půdách. V oblastech s teplejším klimatem je vázána na vyšší polohy. Je dřevinou oceánického klimatu s mírnými zimami. Má velké nároky na vláhu a její rozložení během roku. Špatně snáší silné zimní mrazy. Při dlouhotrvajících nízkých teplotách dochází k tvorbě nepravého jádra a vznikají praskliny v dřevním válci (ÚRADNÍČEK a kol. 2001). Nízké teploty mohou být případně pro jedli až letální (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Jedle je stinná dřevina, které vyhovují víceetážové, nestejnověké, smíšené lesní porosty (JANKOVSKÝ 2005). Snese dlouhotrvající

hluboký zástin, aniž by ztratila na vitalitě. ÚRADNÍČEK a kol. (2001) uvádí, že jedle rostoucí v zástinu mohou při výšce 1,5 – 2 m a průměru kmene 5 – 8 cm dosahovat věku až 100 let. Jedle má slabou kmenovou výmladnost. Ulomený vrchol kmene regeneruje buď z pupenů umístěných v paždí nejhořejších větví, nebo „vzpřímením“ některé z horních větví (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Jedle bělokorá je druhem nepříliš proměnlivým. Odchytky se projevují v habitu koruny, která může být zašpičatělá (především v karpatské oblasti) nebo hnízdovitého tvaru, tj. se zpomaleným růstem vrcholu, takže postranní nejvyšší větve jej přerůstají (především v Českém masívu) (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). Obecně se u jedle rozlišují 4 variety: *Abies alba* var. *podolica*, která je odolnější k mrazu, *Abies alba* var. *apenninica*, která se odlišuje stavbou jehlic, *Abies alba* var. *chlorocarpa* se zelenými samičími šišticemi a *Abies alba* var. *erythrocarpa* se samičími šišticemi červenými (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

3.1.2 Paleobotanické nálezy a postglaciální šíření jedle bělokoré

Paleobotanické nálezy jedle bělokoré

Nejstarší rostlinné zbytky pocházející z rostlin rodu *Abies* jsou datovány na stáří 38 000 let BP (before present). Byly nalezeny v sedimentech krasové jeskyně Divje babe I u města Idria (ŠERCELJ & CULIBERG 1991 in TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Rostlinné zbytky rodu *Abies* staré $25\,600 \pm 170$ let BP byly nalezeny v Dolních Věstonicích v tábořišti lovců mamutů (KNEBLOVÁ 1954, KLÍMA 1963). V okolí Dolních Věstonic a Pavlova byly nalezeny ještě další zbytky, jejichž stáří bylo pomocí radiokarbonové metody určeno na $28\,100 \pm 380$ let BP, $28\,900 \pm 300$ let BP, $26\,400 \pm 230$ let BP a $24\,800 \pm 150$ let BP. Makrozbytky jedle spadající do časového období pleniglaciálu a pozdního glaciálu (35 000 let až 11 500 let BP) byly nalezeny také v Chorvatsku, Španělsku a Francii (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Pylových zbytků z tohoto období se mnoho nezachovalo. Nejstarší pylové zbytky uvedeny v databázi EPD (European Pollen Database) pochází z Francie a jsou staré 26 750 let (EPD 2009). Dále se velmi staré pylové zbytky jedle zachovaly na Balkáně, v Řecku, Pyrenejích a Itálii (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). V období konce pozdního glaciálu a časného holocénu (11 500 let až 8 500 let BP) se podíl zastoupení jedle zvyšuje v oblasti Itálie a Řecka až na 10 %. V časném holocénu stoupá podíl jedle v oblasti Čech, Běloruska, Skandinávie a Velké Británie. Makroskopické zbytky z této doby byly nalezeny také ve Švýcarsku, jihovýchodní Francii, jižní Itálii a severovýchodním Španělsku. Jedle je rozšířená téměř po celé severní Evropě. Poměrně

velké množství pylu bylo nalezeno v Pyrenejích, jižní Francii, Švýcarsku, Itálii, Maďarsku a Řecku. Větší množství údajů o výskytu chybí z oblasti Balkánu, ale dá se předpokládat, že i v této oblasti je jedle běžná (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004), protože „nedostatek důkazů není totéž co důkaz o absenci“ (HICKS 2006). Ve středním holocénu (8 500 – 5 500 let BP) se stále objevují nová naleziště. Jedle byla nalezena v oblasti Alp, Řecka, Maďarska, Francie, Švýcarska a Bulharska (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Ve Švýcarsku se v období 6 000 – 4 800 let BP formovaly první lesy s jedlí a bukem (BURGA 1988). V této době zaujímal jedle téměř stejný areál jako zaujímá dnes. Pozdější rozšíření je již velmi ovlivněno činností člověka (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Činnost člověka byla také spolu s požáry důvodem pro velký ústup jedle v oblasti jižních Alp, a to ve dvou obdobích - v době cca 7 300 – 7 000 let BP a cca 6 000 let BP. Snížení zastoupení z uvedených důvodů bylo následně provázeno lokálním vymřením jedle v nadmořských výškách pod 1 000 m n.m. (WICK & MÖHL 2006).

Refugia jedle bělokoré

Obecně se předpokládá, že jedle bělokorá přežívala v poslední době ledové ve třech refugiiích v jižní části Evropy: v Pyrenejích, v Apeninách a na Balkánském poloostrově. SCHEINFELE (1970) ještě zmiňuje možné refugium v oblasti jižní Francie. Někteří autoři (např. KRAMER 1984) uvažují také o oblasti jižní Itálie (Kalábrie) jako o možném refugiu. LARSEN (1986) však uvádí, že to kvůli geo-klimatologickým faktorům nebylo možné. Šíření po době ledové bylo možné pouze ze severněji umístěného refugia v oblasti centrální části Apenin. BERGMANN a kol. (1990) však na základě výsledků isoenzymových analýz opět možnost refugia v oblasti Kalábrie předpokládá. Výsledky pozdějších výzkumů vycházejících jak z paleobotanických, tak genetických dat jasně prokazují, že toto refugium existovalo, avšak bylo izolované a jedle se z něj po poslední době ledové nešířila (např. KONNERT & BERGMANN 1995, LIEPELT a kol. 2009). TERHÜRNE-BERSON a kol. (2004) předpokládá na základě analýz nejstarších makrozbytků (38 000 a 20 000 let BP) existenci refugií ve dvou oblastech, a to v České republice (Dolní Věstonice) a jihovýchodní části Alp nebo v severozápadní části Balkánu. CULIBERG & ŠERCELJ (1995 in TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004) uvádí, že jedle ve Slovinsku byla nepochybně v období viselského zalednění. Předpokládají, že se vyskytovala v roztroušených mikrorefugiích, ze kterých se rychle šířila na konci pleistocénu. Na základě analýz paleobotanických dat se tedy refugia ve Slovinsku a v České republice zdají být dřívějšími dočasnými refugii, které existovaly ještě v době, kdy zalednění nedosáhlo svého maxima mezi 20 000

a 17 000 lety BP. Je tedy velmi nepravděpodobné, že by se tato dvě refugia podílela na postglaciálním šíření jedle v Evropě (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Existence efektivního refugia v oblasti Pyrenejí je na základě novějších studií nepravděpodobná. Analýzy paleobotanických dat jasně prokázaly, že v oblasti Pyrenejí existovalo pouze izolované refugium (LIEPELT a kol. 2009). Tato teorie byla podpořena také výsledky genetických studií, a to jak analýzami isoenzymů (KONNERT & BERGMANN 1995), tak mikrosatelity (VENDRAMIN a kol. 1999). Také LANG (1992) uvažuje pouze o dvou možných refugiích a to v oblasti Itálie a Řecka. Předpokládá, že do oblasti Pyrenejí a jižní Francie se jedle dostala z italského refugia migrační cestou podél jihozápadních Alp. LIEPELT a kol. (2009) však existenci refugia jedle bělokoré v oblasti Řecka nepředpokládá. Na základě syntézy paleobotanických a genetických údajů stanovuje existenci efektivních refugií, ze kterých se jedle bělokorá šířila po posledním zalednění v oblasti severní části Apenin a jižní části Balkánského poloostrova. Na základě analýzy genetických dat se zdá, že v oblasti Balkánského poloostrova bylo ještě alespoň jedno další refugium a to v oblasti Slovinských Alp a/nebo západní části Dinárských Alp.

Postglaciální šíření jedle bělokoré

Šíření jedle z oblasti centrální Itálie do střední Evropy probíhalo pravděpodobně 3 cestami (KRAL 1980):

1. „Jurská cesta“ – přes údolí řeky Rhony a pohoří Švýcarská/Francouzská Jura do Vogéz a Černého lesa;
2. „Allgävska cesta“ – přes Alpy, kde se rozděluje, přičemž jedna cesta vede horním údolím řeky Rhony a oblastí kolem Bodamského jezera a druhá přes Algäu Alpy v jižní části Německa;
3. „Východoalpská cesta“ – obchází Alpy na východě a pokračuje do Bavorska, Čech a Thuringian Forests do Krušných hor.

Z refugia na Balkánském poloostrově (oblast jižní Bosny a Makedonie) se jedle šířila přes Karpaty do oblastí Tater na severním Slovensku (HORVAT-MARLOT & KRAMER 1982). S využitím genetických analýz LIEPELT a kol. (2009) šíření jedle z Balkánu upřesňuje. Jedle se šířila dvěma směry a to podél Dinárských Alp a podél Karpat.

Na základě dostupných paleobotanických dat je teoreticky možné, že se jedle z oblasti Pyrenejí mohla šířit přes centrální a východní Francii dále na sever (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). Avšak výsledky analýz isoenzymů ukazují, že toto refugium bylo izolované a nepodílelo se na šíření jedle v Evropě (KONNERT & BERGMANN 1995). Další

možný zdroj populací jedle šířící se na sever mohl být v oblasti jižní Itálie (TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004), avšak i toto refugium se ukázalo být jako izolované (KONNERT & BERGMANN 1995, LIEPELT a kol. 2009). Isoenzymové i paleobotanické studie ukazují na původ severních populací v oblasti jihovýchodní Francie a severozápadní Itálie, odkud se šířily podél západní části Alp (KONNERT & BERGMANN 1995, TERHÜRNE-BERSON a kol. 2004). BURGA & HUSSENDÖRFER (2001) na základě isoenzymových analýz předpokládají společný italský původ dnešních populací jedle v západní a východní části areálu rozšíření.

Syntézou výzkumů paleobotanických a genetických dat byly navrženy nejpravděpodobnější cesty šíření jedle z refugií do oblasti střední Evropy (LIEPELT a kol. 2009). Z refugia v oblasti severních Apenin (nebo z malých refugií v jižních Alpách) se jedle šířila na sever podél Francouzské Jury a dále přes západní a centrální Švýcarské Alpy (BURGA & HUSSENDÖRFER 2001, MULLER a kol. 2007, VAN DER KNAAP a kol. 2005 in LIEPELT a kol. 2009, HOFSTETTER a kol. 2006 in LIEPELT a kol. 2009). Západním směrem docházelo k šíření jedle přes oblast francouzských Přímořských Alp, jižní Francie do Francouzského středohoří (MULLER a kol. 2007). Dále se jedle šířila do Vogéz, Černého lesa, a východně podél severních Alp do východních Alp, kde se setkala s populacemi jedle šířícími se z refugia v západní a/nebo severní části Balkánu (viz Příloha 1 – mapka B) (LIEPELT a kol. 2009).

Na základě genetických analýz (KONNERT & BERGMANN 1995, LIEPELT a kol. 2002) byla určena přechodová zóna mezi populacemi pocházejícími z refugia z oblasti Balkánu a refugia z oblasti Itálie. Tato zóna zahrnuje Beskydy, Vysoké Tatry, Slovenskou část Karpat a Slovenské Rudohoří. Druhá přechodová zóna existuje v oblasti předhůří Slovinských Alp, kde se jedle z Balkánu setkala s jedlí z oblasti střední Itálie migrující „Východoaplskou cestou“. V pozdějších studiích (GÖMÖRY a kol. 2004, LIEPELT a kol. 2009) pak bylo určení přechodových zón ještě upřesněno. První přechodová zóna byla lokalizována ještě více na východ – v oblasti Ukrajiny až u rumunských hranic; druhá zóna pak dále na jih – oblast Bosny a Dalmácie.

Historické nálezy a šíření jedle bělokoré na území ČR

Jak již bylo řečeno, nejstarší rostlinné zbytky rodu *Abies* v ČR byly nalezeny v Dolních Věstonicích v tábořišti lovců mamutů (KNEBLOVÁ 1954, KLÍMA 1963). Nejstarší pylové nálezy pochází z oblasti Flájí a jsou datovány na 7 122 let BP (EPD 2009). Pyl z období allerödu byl zaznamenán v jižní části Českomoravské vrchoviny (RYBNÍČKOVÁ 1974 in OPRAVIL 1976).

Šíření jedle po poslední době ledové na naše území probíhalo dvěma proudy - „šumavskou“ cestou, která je derivátem alpského proudu (hercynsko-sudetská oblast) a karpatským proudem. Od šumavské cesty se pravděpodobně odštěpila větev, která směřovala do středních Čech a na přelomu atlantika a subboreálu sahala do oblasti Třeboňsko-Budějovické pánve (SAMEK 1967). Ve starším atlantiku se jedle vyskytovala téměř ve všech pohraničních horách v Čechách i na Moravě. Její zastoupení se pohybovalo okolo 1 % (OPRAVIL 1976). V mladším atlantiku se jedle rozšířila již prakticky na celé území ČR. V horských polohách v jižních a západních Čechách bylo její zastoupení přes 20 %, v severních Čechách ojediněle přesahuje 10 %, v západních Karpatech okolo 20 %. Ve vnitrozemských oblastech a na Českomoravské vrchovině se zastoupení udržuje od cca 1 % do 4 % (OPRAVIL 1976). Její šíření je však vázáno zejména na pohoří a jen výjimečně dosahovala vyššího zastoupení v nižších polohách (SAMEK 1967). V subboreálu rozvoj jedle pokračuje. Ve většině pohraničních pohoří dosáhlo její zastoupení 20 % - 30 %. V této době došlo ke zformování lesních společenstev s jedlí (OPRAVIL 1976) a v oblasti Nízkého Jeseníku došlo pravděpodobně ke smísení jedle z alpského a karpatského proudu (SAMEK 1967). Ve starším subatlantiku dosáhla jedle svého největšího původního rozšíření v holocénu ve střední Evropě. Ve všech našich horských polohách se pohybovalo její zastoupení okolo 30 %, místy i více než 30 %. Je to období maximálního rozvoje smíšených horských porostů s jedlí (OPRAVIL 1976), kdy formovala spolu se smrkem v nadmořských výškách (300-) 400 - 500 m výrazný vegetační typ „černé lesy“ (MUSIL & HAMERNÍK 2007). Roztroušené nálezy v nižších polohách naznačují, že v příznivých podmínkách pronikala v příměsí i do nižších nadmořských výšek (OPRAVIL 1976). Jedle se do nížin dostává z pohoří – předhůří Šumavy až po Brdy je osídlováno větví šumavského proudu, předhůří Krkonoš větví jizersko-krkonošského proudu a oblast severně od Tater je osídlována karpatským proudem (SAMEK 1967). Mladší subatlantikum se ve střední Evropě kryje zhruba s počátkem středověku, kdy se na našem území začalo šířit slovanské osídlení. Jedle si udržuje stálé, dosti vysoké zastoupení. V období vrcholného středověku začala ve všech našich nízkých pahorkatinách velmi přibývat. I když v těchto polohách docházelo ke značnému odlesňování, jedle nejlépe odolávala středověkému způsobu obhospodařování lesů. Toulavá těžba vyhovovala její obnově, protože její nálet rychle zarůstal volné plochy (OPRAVIL 1976). V období od 15. do 19. stol. byl ve smíšených porostech buk nahrazován právě jedlí, které vyhovovalo hrabání opadu a pastva a tato masivní invaze vyústila až k tzv. „pastevní generaci“ jedle (ŠAMONIL

& VRŠKA 2007). Na normálních půdách jsou čisté jedliny prokazatelně druhotným antropogenním útvarem (MÍCHAL 1983). Zvyšování podílu zemědělské činnosti se stává stále důležitějším florogenetickým faktorem, který působí změny jak v kvantitativním zastoupení vegetace, tak v jejím rozmístění (RYBNÍČEK & RYBNÍČKOVÁ 1992). Zavádění novověkého lesního hospodářství, kdy se využívá holosečného způsobu hospodaření a zavádí se smrkové monokultury, rozvoj jedle zastavil (OPRAVIL 1976).

Historické nálezy jedle bělokoré na Šumavě

Šumavská parovina byla vyzdvižena třetihorním alpickým vrásněním (JELÍNEK 2005). Od konce pleistocénu se pak na území Šumavy postupně vytvářely lesní formace přes formace keřové. Jako první se do porostů v období preboreálu dostává borovice (*Pinus*) a bříza (*Betula*). V boreálu k nim pak přistupuje líska (*Corylus*), která však v atlantiku v nižších polohách ustupuje v důsledku konkurenčního tlaku dřevin smíšeného dubového lesa. Ve vyšších polohách se šířily porosty se smrkem (*Picea*) a v lesních mokřadech se objevuje olše (*Alnus*). V mladším atlantiku je již v porostech zastoupen i buk (*Fagus*), začíná se objevovat jedle (*Abies*) a později i habr (*Carpinus*) (JANKOVSKÁ 2004).

Pylové zbytky jedle se v sedimentech Plešného jezera objevují v hloubce 273 - 240 cm, což odpovídá období boreálu. Poměrně vysoké procento zastoupení v této vrstvě je však nejspíše způsobeno kontaminací z vyšších vrstev (JANKOVSKÁ 2006). SVOBODOVÁ a kol. (2001) uvádí prvotní nálezy jedle v oblasti Stráženské slati a to z období pozdního boreálu ($8\,260 \pm 70$ BP). V okolí Plešného jezera se jedle v porostech začíná sporadicky objevovat koncem atlantiku (JANKOVSKÁ 2006), stejně jako v okolí Velké nivy u Volar a Mrtvého luhu (SVOBODOVÁ a kol. 2001). V období subboreálu se pak jedle stává důležitou složkou lesů, kdy dochází k šíření jedlin a bukojedlin (SOUKUPOVÁ a kol. 2001). Na vlhčích stanovištích se jedle úspěšně zapojila do smíšených porostů s bukem a smrkem (SKALICKÝ & KIRSCHNEROVÁ 1993). K expanzi jedle na Šumavě dochází v období 5 523 – 3 180 let BP (SVOBODOVÁ a kol. 2001). První maximum zastoupení jedle v okolí Volar (Velká niva) je datováno do období kolem 4 700 let BP. Ve vrstvách sedimentu odpovídajících tomuto období bylo zastoupení pylových zrn jedle více než 30 %. V pozdním subboreálu nastalo druhé maximum rozšíření, kdy se zastoupení pylu v odpovídajících vrstvách pohybovalo mezi 40 – 50 % (Strážnická slat', Malá niva a Velká niva u Lenory). Třetí maximum odpovídá období staršího subatlantika, kdy v okolí Knížecích plání bylo zastoupení jedle 20 % (SVOBODOVÁ a kol. 2001). V okolí Plešného jezera se v období staršího subatlantika zastoupení jedle pohybuje

v rozmezí 15 % až 20 %. Obecně lze říci, že ve východní části Šumavy bylo zastoupení jedle vyšší než v západní části (SVOBODOVÁ a kol. 2002). V mladším subatlantiku se již velmi výrazně projevuje činnost člověka a zejména v době, kdy člověk ovlivňuje i podhorské oblasti, dochází k výraznému poklesu zastoupení jedle (JANKOVSKÁ 2006). Stálý pokles zastoupení jedle, buku a habru byl pomocí pylových analýz v oblasti Jezerní slatě prokázán až od roku 1823 (BŘÍZOVÁ 2004).

3.1.3 Současné rozšíření jedle bělokoré

Areál přirozeného rozšíření jedle bělokoré

Jedle je dřevinou rostoucí v současné době ve střední a jižní Evropě. Její areál je poměrně malý, ostrůvkovitý, který se víceméně kryje s rozmístěním horských masívů a pásem. Na jihu roste od Pyrenejí přes Korsiku, jižní Itálii a Makedonii až po Bulharsko a Řecko. Nejjižněji roste na jihu Apeninského poloostrova (oblast Kalábrie), kde dosahuje 38° 10' s. z. š. Nejzápadněji je v Pyrenejích (1° 30' z. z. d.), kde také tvoří horní hranici lesa. Severní hranice souvislejšího rozšíření jedle jde pahorkatinami od Vezerské hornatiny (SZ Německo) a Durynského lesa přes úpatí Krušných hor a Krkonoš a dále přes Malopolskou vrchovinu do Lublinské vrchoviny. Hranice severního rozšíření dosahuje u Varšavy (52° s. z. š.). Na východ pak pokračuje směrem do Východních a Jižních Karpat (27° v. z. d.). Předpokládá se, že jedle ztratila ve 20. století nejméně polovinu svého přirozeného rozšíření (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Jedle je horským druhem, který v severní části areálu sestupuje až do pahorkatin nebo okrajově do nížin. Vyskytuje se v nadmořských výškách 140 m až 2 100 m. Nejvýše vystupuje v Apeninách a Pyrenejích, kde spoluvytváří s borovicí pyrenejskou horní hranici lesa i horní hranici stromovou. Nejnižše jedle sestupuje v Německu na 150 m n. m. a v roklích Labských pískovců u Hřenska (140 m n. m.) v ČR. Jedle má různé optimum výskytu v jednotlivých pohořích. Ve švýcarských Alpách roste v rozmezí 700 až 1 400 m n. m., na Korsice mezi 1 500 až 1 800 m n. m., v rumunských Jižních Karpatech v rozmezí 1 200 až 1 400 m n. m. a v Nízkých Tatrách 410 až 1 260 m n. m. (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Současné rozšíření jedle bělokoré v ČR

V České republice má jedle bělokorá těžiště výskytu v nižších horských oblastech, především ve vyšší části mezofytika. Vzácně roste v termofytiku a oreofytiku. Její optimum se u nás udává rozmezím 500 – 900 m n. m. Roste ve všech okrajových i vnitrozemských pohorích. Chybí jen ve Ždánickém lese. Jedle neroste v teplých pahorkatinách a v úvalech velkých řek (MUSIL & HAMERNÍK 2007). V oblasti Labských pískovců sestupuje na 140 m n. m. a v oblasti Boubína na Šumavě vystupuje na maximum 1 300 m n. m. (HEJNÝ & SLAVÍK 1997). Většinou ale nepřekračuje nadmořskou výšku 1 100 m n. m., v Krkonoších roste dokonce pouze do 1 000 m n. m. (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

Jedle je hlavní dřevinou společenstev podsvazu *Galio-Abietenion*. Dále tvoří často příměs v květnatých bučinách podsvazu *Eu-Fagenion* a někdy v dubohabrových porostech (svaz *Carpinion*). Vyskytuje se také v montánních cenózách svazu *Luzulo-Fagion* a v podmáčených až rašelinných smrčínách submontánních až montánních poloh svazu *Piceion excelsae* (HEJNÝ & SLAVÍK 1997).

Zastoupení jedle bělokoré v porostech

V současné době nezaujímá jedle v evropských lesích významnou pozici. Výjimkou jsou lesy ve Švýcarsku, kde tvoří 20 % celkové plochy lesů a také Rakousko, kde je její zastoupení 7 % z celkové plochy lesů. V polské části Karpat tvořily porosty s převahou jedle ještě v polovině 20. století 30 – 36 % plochy lesů. V oblasti Pienin dokonce kolem 60 % (MUSIL & HAMERNÍK 2007).

V České republice je v současné době jedle zastoupena 0,94 %. Její přirozené zastoupení bylo 19,8 %. Doporučené je 4,4 % (ANONYMUS 2008).

Zastoupení jedle bělokoré v porostech na území NP Šumava

Průměrné zastoupení jedle bělokoré v Národním parku Šumava je podle inventarizace lesů provedené v letech 1999 – 2002 pouhých 0,7 % (ZATLOUKAL a kol. 2005).

Původní zastoupení jedle bělokoré podle rekonstruované potenciální přirozené druhové skladby bylo v Národním parku Šumava kolem 13 %, to znamená, že stávající zastoupení jedle je oproti přirozenému téměř dvacetkrát nižší. Relativně nejvyšší zastoupení má jedle v NP Šumava ve středním výškovém pásmu (tzn. nadmořská výška mezi 950 a 1 150 m), kde dosahuje 1,1 %, zatímco v lesích pod 950 m n. m., kde bylo

v původních lesích jedle nejvíce, zaujímá jedle v současnosti pouze 0,3 %. V polohách nad 1 150 m připadá na jedli jen 0,2 % plochy (ZATLOUKAL a kol. 2005).

Činnost člověka měla na zastoupení jedle v lesích velký vliv. Díky intenzivní pastvě dobytka se během 300 let (od 13. do 16. století) zvýšilo zastoupení jedle asi o 10 %, takže se stala nejvíce rozšířenou dřevinou (MÁLEK 1983 in ČERNÝ 2005). Pozdější způsoby hospodářského využívání lesů, které jsou pro jedli nepříznivé, jsou jednou ze základních příčin jejího nízkého zastoupení zejména v nižších, dříve kolonizovaných, polohách Šumavy. Velmi nízké zastoupení jedle v polohách nad 1 150 m n. m. souvisí, vedle vlivů předchozího hospodaření, také s hranicí jejího přirozeného rozšíření, které končí na rozhraní 7. a 8. lesního vegetačního stupně (ZATLOUKAL a kol. 2005). Historické využívání lesů je také zřejmě hlavním důvodem zřetelného rozdílu v zastoupení jedle na české a bavorské straně pohoří (PROCHÁZKA & ŠTECH 2002).

Celkové zastoupení jedle v I. zóně se od ostatního území národního parku téměř neliší. Rozdíly v zastoupení jsou ve výškovém rozložení. Ve výškách do 950 m n. m. má jedle v I. zóně 5 x vyšší zastoupení než v celém národním parku. Ve středních polohách (950 – 1 150 m n. m.) má jedle v I. zóně, v porovnání s celým národním parkem, zastoupení méně než poloviční. V nejvyšších polohách, kde přirozený výskyt jedle postupně odeznívá, nebyla při inventarizaci lesů jedle v I. zóně zaznamenána vůbec (ZATLOUKAL a kol. 2005).

Dlouhodobý pokles zastoupení jedle byl pozorován také v pralesovitých rezervacích na Boubíně a v Milešickém pralese (HORT & VRŠKA 2005).

3.2 Genetické studie jedle bělokoré

3.2.1 Polymorfismus a dědičnost isoenzymových systémů

Studiem genetické variability v rámci druhu *Abies alba* Mill. se již mnoho let zabývá několik autorů. Mezi první práce využívající isoenzymové analýzy patří MEJNARTOWICZ (1979) a KORMUŤÁK (1982). Enzymový systém peroxidáza (*Px*)¹ pro smrk ztepilý, jedli bělokorou a modřín opadavý byl popsán v roce 1982 (GRILL a kol. 1982). Později se jedlí bělokorou zabývala Schroederová (SCHROEDER 1989 a,b,c), která analyzovala a popsala genetickou strukturu s využitím následujících enzymových systémů a jejich lokusů: *Idh-A*, *Idh-B*, *Gdh*, *Skdh*, *6Pgd-A* a *6Pgd-B*. Analýzy prováděla v oblastech přirozeného rozšíření

¹ Seznam použitých zkratk enzymových systémů je uveden v Příloze 2

jedle v Německu s využitím pletiva semen a pletiva dormantních pupenů. Enzymový systém *Skdh* se u sledovaných jedinců projevil monomorfně v obou typech pletiv. U enzymového systému *Gdh* byly u diploidního pletiva pozorovány 2 alely. U systému *Idh* byly 3 alely pozorovány v obou zónách aktivity. Pro *6Pgd* byly pozorovány také 2 zóny aktivity s alelami A_1 a A_2 a B_1 , B_2 a B_3 (SCHROEDER 1989b). Velmi rozsáhlou studii pak provedla KONNERT (1992), která se zabývala sledováním populací jedle bělokore pomocí lokusů enzymů *Aap-A*, *Dia-A*, *Got-A*, *Got-B*, *Got-C*, *Idh-A*, *Idh-B*, *Lap-A*, *Mdh-B*, *6Pgd-A* a *6Pgd-B*. Genetické analýzy pro více než 20 lokusů byly provedeny HUSSENDÖRFEREM a kol. (1995). Kromě již výše uvedených byly popsány a sledovány lokusy *Ap-C*, *Ap-D*, *Mdh-A*, *Mdh-C*, *Ndh-A*, *Pgi-A*, *Pgi-B*, *Pgm-A*, *Pgm-B* a *Skdh-A* jak v haploidním tak diploidním pletivu (endosperm, embrya, pupeny a jehlice). V roce 2003 byly publikovány výsledky studie provedené v Polsku na jedli bělokore (MEJNARTOWICZ & BERGMANN 2003), kde u pletiva megagametofytu semen byly pozorovány 4 zóny aktivity u enzymu *Aat* (*Got*) místo běžně pozorovaných a dříve popsaných 3 zón. KONNERT a kol. (2004) publikovala výsledky studie, ve které byly popsány další enzymové lokusy, a to: *Ap-A*, *Ap-B* a *Mnr-B*.

Výsledky uvedených studií byly využity při sledování genetické struktury populací jak na lokální úrovni, tak v rámci celého jejího areálu.

3.2.2 Genetická struktura populací jedle bělokore v jednotlivých státech

Německo

Pomocí enzymových systémů *Idh* a *6Pgd* (SCHROEDER 1989c) bylo sledováno 9 populací pocházejících z přirozených stanovišť jedle v jihozápadní části Německa. Pro analýzy bylo použito pletivo endospermu, embryonální a dormantních pupenů. Studie se zabývala zjišťováním podílu cizosprášení a vlivem genetické struktury na rozsah defoliace, hmotnost semen a podíl hluchých semen. Pro žádnou ze sledovaných charakteristik nebyla zjištěna významná korelace. Frekvence výskytu sledovaných alel lokusu *Idh-B* se však s ohledem na geografické rozmístění kontinuálně měnily směrem od jihozápadu k severovýchodu (SCHROEDER 1989a). V oblasti východního Německa byla provedena studie srovnávající genetickou variabilitu přirozeného zmlazení s porosty dospělých jedinců (BERGMANN 1996). Pomocí 10 enzymových lokusů byl sledován příspěvek starých stromů jako rodičů nové generace (přirozeného zmlazení). Příspěvek starých stromů jako rodičů závisí na místních podmínkách (velikosti stanoviště, věku, struktury, podílu přidružených dřevin) a také na fitness jedinců. Jasně rozdíl v genetické

strukturu mezi dospělými porosty a zmlazením se objevovaly pouze na stanovištích, kde do reprodukce bylo zahrnuto jen malé procento dospělých stromů. Avšak vzhledem k dostatečnému počtu přirozeného zmlazení různého věku se není nutné obávat snížení genetické variability v porostech. Pomocí isoenzymů byly sledovány také populace středního a jižního Německa (KONNERT 1994). Výsledky byly porovnány s populacemi pocházejícími z Francie, České republiky, Slovenské republiky, Rumunska, Bulharska, Makedonie, Bosny, Srbska a Chorvatska. Sledování proběhlo pomocí enzymových systémů *Idh*, *6Pgdh*, *Ap*, *Got*, *Mdh*, *Pgi*, *Mnr* a *Pgm*.

Genetická diverzita jedle bělokoré byla sledována také v Sasku (BRAUN & GÓMEZ 1994). Sledování probíhalo pomocí 9 polymorfních lokusů (*Idh-A*, *Idh-B*, *6Pgdh-A*, *Dia-A*, *Got-A*, *Got-B*, *Got-C*, *Lap-A*, *Aap-A*). Výsledky ukázaly pouze malou genetickou diverzitu ve sledovaných populacích.

Rakousko

V Rakousku se studiem populací jedle bělokoré pomocí isoenzymů zabývala BREITENBACH-DORFER a kol. (1992). Pomocí enzymových systémů *Mdh*, *Idh*, *Lap* a *6Pgd* byly sledovány populace z pěti geograficky odlišných oblastí Rakouska. Výsledky studie ukázaly pro lokusy *Idh-A* a *Idh-B* postupnou změnu frekvencí v populacích směrem západovýchodním. Pro lokus *6Pgd-A* byl pozorován stejný trend jako v oblasti Německa (SCHROEDER 1989a), tedy postupná změna frekvence výskytu směrem od jihozápadu k severovýchodu. Lokus *6Pgd-A* byl vyhodnocován také s ohledem na vitalitu jedinců jedle v oblasti východního Rakouska (BREITENBACH 1988).

Francie

Také ve Francii byla jedle bělokorá sledována pomocí isoenzymů. Genetickou diverzitu v oblasti jihovýchodní Francie a jihozápadní Itálie sledoval FADY a kol. (1999). Pomocí 10 lokusů (*Pgi-B*, *Pgm-A*, *Skdh*, *Got-B*, *Got-C*, *Idh-B*, *Lap-A*, *Mnr-B*, *6Pgd-A* a *6Pgd-B*) sledoval 23 populací z oblasti nejzazší jihozápadní části areálu jejího přirozeného rozšíření. Tyto populace pak porovnal s výsledky analýz pěti kontrolních populací. To, že nebyly pomocí klastrové analýzy sestavené na základě genetických vzdáleností sledovaných populací výrazně odlišeny jednotlivé oblasti výskytu („Středozevní“ a „ne-Středozevní“ populace), poukazuje na společný původ jedle v této oblasti. Populace z oblasti Francouzského středohoří však vykazovala odlišnou genetickou strukturu, která naznačuje možnost osídlení z oblasti Alp nebo existenci lokálního refugia.

Navazující studii provedl SAGNARD a kol. (2002) v oblasti jihozápadních Alp (jihovýchodní Francie). Pomocí šesti polymorfních lokusů (*Got-A*, *Got-B*, *Idh-B*, *6Pgd-A*, *6Pgd-B* a *Lap-A*) a terpenových analýz sledoval celkem 16 populací. Mezi populacemi byly pozorovány malé genetické vzdálenosti, které poukazují na společný původ jedle v této oblasti. Výsledky potvrdily závěry předchozích studií (KONNERT & BERGMANN 1995, FADY a kol. 1999) zabývajících se šířením jedle bělokoré po posledním zalednění. Populace jedle z oblasti jihozápadních Alp pocházejí z refugia, které bylo pravděpodobně v oblasti severních Apenin nebo Ligurských Alp.

Itálie

V Itálii bylo pomocí isoenzymových analýz pletiva dormantních pupenů sledováno 10 přirozených populací jedle bělokoré (PARDUCCI a kol. 1996). Populace byly sledovány pomocí deseti enzymových systémů, a to: *Lap*, *Px*, *Gdh*, *Idh*, *Got*, *6Pgd*, *Pgi*, *Pgm*, *Skdh* a *Dia*. V populacích pocházejících z oblasti Apenin byla fixována 1 alela u lokusu *Got-A*, zatímco v populacích pocházejících ze severní části Itálie byl lokus *Got-A* polymorfní. Pouze v populacích z jižní části Itálie byl lokus *Pgi-A* polymorfní, v ostatních populacích byla fixována pouze 1 alela. Genetické vzdálenosti mezi populacemi ve střední a severní části byly menší než v populacích jižních.

Švýcarsko

Jedny z prvních výsledků studií zabývajících se genetickou diverzitou jedle bělokoré ve Švýcarsku byly publikovány v roce 1994 (HUSSENDÖRFER 1994). Studie byla provedena jak na lokalitách původního rozšíření jedle, tak na plochách provenienčního výzkumu. Pomocí 8 enzymových systémů (*Ap*, *Got*, *Idh*, *Mdh*, *Mnr*, *Ndh*, *6Pgdh* a *Pgm*) byla určena genetická struktura populací, která se měnila ve vztahu s geografickou vzdáleností. Sledována byla také genetická variabilita jedle bělokoré s ohledem na postglaciální šíření (HUSSENDÖRFER 1999). Pomocí 14 enzymových lokusů (*Ap-D*, *Aat-A*, *Aat-B*, *Aat-C*, *Idh-A*, *Idh-B*, *Ap-A* (*Lap-A*), *Ap-C* (*Lap-C*), *Mdh-A*, *Mnr-B*, *Ndh-A*, *6Pgdh-A*, *6Pgdh-B* a *Pgm-A*) byla sledována genetická diverzita 18 původních populací. Pozorované snižování frekvence výskytu alely *Mnr-B₁* v populacích směrem od západu k východu podpořily již publikovanou teorii o existenci západního refugia umístěného pravděpodobně ve Francii v oblasti Francouzského středohoří (KONNERT & BERGMANN 1995). Zároveň však výskyt alely *Mnr-B₁* i v populacích v oblastech jižních Alp, kantonu Valais a východní části Švýcarských Alp (HUSSENDÖRFER 1999) podpořil výsledky pyloanalytické

studie (LANG 1992) o re-imigraci jedle do oblastí centrální Evropy (Francouzská a Švýcarská Jura, Vogézy, Černý les) a dále do oblastí Francouzského středohoří západní alpskou cestou z oblastí severní a střední Itálie. U některých populací byl pak pozorován výskyt alel *Ap-A₂* a *6Pgdh-B₃*, které poukazují na ovlivnění z balkánského refugia (HUSSENDÖRFER 1999). Na území Švýcarska byla také identifikována kontaktní zóna mezi různými refugii, která zaujímá oblast od jižních Alp k oblasti Švýcarské Jury na západě ke Švýcarským Alpám na východě (BURGA & HUSSENDÖRFER 2001).

Polsko

Výsledky genetických analýz provedených v Polsku v oblasti silně ovlivněné průmyslovými emisemi s využitím 16 enzymových lokusů (*Est-C*, *Fle (Fest)*, *Gdh*, *Got-A*, *Got-B*, *Idh-A*, *Idh-B*, *Lap-A*, *6Pgdh-A*, *6Pgdh-B*, *Pgi-A*, *Pgi-B*, *Pgm-A*, *Pgm-B*, *Sod-A* a *Sod-B*) publikoval MEJNARTOWICZ a kol. (1994). V obou sledovaných populacích se 9 lokusů projevilo monomorfně a 6 polymorfně, 1 lokus byl polymorfní pouze v jedné populaci. V této studii byl také sledován podíl cizosprášení. Pomocí isoenzymů byla sledována také genetická struktura 4 populací z oblasti Beskyd – oblast Beskid Sądecki (Západní Beskydy) a Beskid Makowski (Východní Beskydy) (MEJNARTOWICZ 2002, 2003). Genetické analýzy byly provedeny na pletivu megagametofytu s pomocí 14 enzymů, a to: *Adh*, *Est*, *Fle (Fest)*, *Gdh*, *Got (Aat)*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *Men (Dia)*, *Pgm*, *Pgi*, *6Pgdh*, *Shdh (Skdh)* a *Sod*. Genetická vzdálenost mezi populacemi byla v souladu s geografickou vzdáleností a došlo k jasnému odlišení obou oblastí. V oblasti Západních Beskyd byla pozorována menší genetická variabilita a diverzita. Pokles genetické variability a diverzity mohl nastat v průběhu postglaciálního šíření z balkánského refugia. Pomocí analýz isoenzymů byly sledovány také populace z oblastí Jeseníků a Karpat (MEJNARTOWICZ 2000, 2004). Výsledky podpořily hypotézu o rozšíření jedle do polské části Karpat jižní cestou z balkánského refugia.

Také v oblasti Sudetských hor v polské části byla sledována genetická struktura osmi populací jedle bělokoré (LEWANDOWSKI a kol. 2001). Genetická diverzita populací byla sledována pomocí 9 enzymových systémů (*Fle*, *Got*, *Idh*, *Lap*, *Men*, *6Pgdh*, *Pgi*, *Pgm* a *Sod*) a porovnána s genetickou strukturou populace z jižní části centrálního Polska (Sucha Beskidska) a jihovýchodní části Polska (Lesko). Porovnání genetických vzdáleností mezi populacemi ukázalo výrazné odlišení sudetohorských populací od ostatních dvou. Vysvětlením může být re-imigrace po poslední době ledové. Na základě historických údajů

bylo zjištěno, že jedle se do oblasti Polska dostala před 5 000 lety a to nejspíše ze dvou center ležících jižně od Karpat a Sudetských hor.

Chorvatsko

Také v Chorvatsku byly sledovány populace jedle bělokoré s využitím isoenzymových analýz (BALLIAN & KAJBA 2005). Pomocí 9 enzymových systémů (*Pgi*, *Pgm*, *Idh*, *Mnr*, *Sdh*, *Lap*, *Fest*, *Got* a *6Pgdh*) byla sledována genetická variabilita čtyř populací v oblasti Gorski Kotar. Výsledky studie, zejména vyšší pozorovaná heterozygotnost v hodnocených populacích ve srovnání s populacemi pocházejícími z oblasti západní Evropy, poukazují na možnou hybridizační zónu v této oblasti. Pravděpodobně se zde setkala jedle šířící se z refugia z oblasti Apenin s jedlí pocházející z refugia z oblasti Balkánu.

Bosna a Hercegovina

Na území Bosny a Hercegoviny byly prováděny studie populací jedle bělokoré v západní a východní části (BALLIAN 2009). Pomocí 9 enzymových systémů bylo sledováno 10 přirozených populací (5 populací ze západní části a 5 populací z východní části). U některých lokusů byla pozorována klinální závislost, jiné však dávaly jasný důkaz o tom, že v západní Bosně se setkávají hranice postglaciálních migračních cest jedle ze dvou refugií. Stejně enzymové systémy byly využity i při sledování populací jedle z centrální části (BILELA & BALLIAN 2008). U všech čtyř sledovaných populací se projevila pro některé lokusy a alely klinální závislost ve směru jihovýchod-severozápad.

Rumunsko

Pomocí analýz enzymových systémů (peroxidáza a esteráza) bylo v Rumunsku sledováno pět populací jedle bělokoré v Maramurešských horách (CURTU a kol. 2009). Tyto prvotní výsledky ukázaly relativně velkou genetickou diverzitu mezi populacemi, která koresponduje s geografickou vzdáleností sledovaných populací.

Slovensko

Na Slovensku byla sledována genetická diverzita 5 populací pomocí 15 lokusů 9 enzymových systémů (*Fest-A*, *Fest-B*, *Fest-C*, *Dia-A*, *Gdh-A*, *Got-A*, *Got-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Skdh-A*, *Skdh-B*, *Idh-B*, *6Pgd-A*, *6Pgd-B* a *G6pd-A*) (MATÚŠOVÁ 1995). Pouze 1,5 % celkové diverzity připadlo na diverzitu mezi populacemi. Ve srovnání s jinými

druhy dřevin je jedle považována za dřevinu s velmi malou variabilitou. Pozorovaná a očekávaná heterozygotnost byla ve sledované oblasti menší než v jiných částech areálu rozšíření. Odhad Neiovy genetické vzdálenosti mezi sledovanými populacemi ukázal velmi malou genetickou diferenciaci. Podobné výsledky byly publikovány již dříve (KORMUŤÁK a kol. 1982) na základě studia 4 populací ze Slovenska.

3.2.3 Genetická struktura populací jedle bělokoré v rámci jejího areálu

Zjišťováním úrovně genetické variability jedle bělokoré v rámci jejího evropského areálu se zabýval BERGMANN a kol. (1990). Studie byla provedena pro 45 populací jedle pocházející z Rakouska, Korsiky, Německa, Itálie, Rumunska, Švýcarska a oblasti bývalé Jugoslávie. Populace byly sledovány pomocí 6 enzymových systémů (*Got*, *Gdh*, *Idh*, *6Pgdh*, *Skdh*, *Dia*). Vyšší podíl polymorfních lokusů a větší počet alelových variant ve všech polymorfních lokusech byl ve srovnání s ostatními populacemi pozorován v populacích pocházejících z oblasti jižní Itálie (zejména Kalábrie). Obě zmíněné charakteristiky jsou typické pro populace refugií, které existují po dlouhou dobu v relativně stabilních podmínkách a nemají zkušenost s efektem hrdla lahve (bottleneck). Pro populace pocházející z oblasti centrální a jihovýchodní Evropy byla pozorována nižší schopnost adaptace (BERGMANN a kol. 1990), což bylo potvrzeno také v provenienčních výzkumech. Populace pocházející z oblasti Kalábrie se v provenienčních pokusech prokazatelně odlišovaly v růstových parametrech od ostatních populací jedle (LARSEN & MEKIĆ 1991, HANSEN & LARSEN 2004).

Genetickou variabilitu jedle bělokoré ve východní části jejího rozšíření sledoval LONGAUER (1994). Pomocí 15 lokusů analyzoval celkem 76 populací pocházejících ze Slovinska, České republiky, Slovenska, Polska, Rumunska, Bulharska a ukrajinské části Karpat. Alelové frekvence 5 analyzovaných lokusů (*Idh-B*, *6Pgd-A*, *Px-B*, *Aco-A* a *Lap-A*) ukázaly jasný klinální gradient genetické proměnlivosti. Tento fakt se zdá být výsledkem přírodní selekce v různých environmentálních podmínkách. U geograficky odlišných populací byly pozorovány jiné dominantní alely pro lokusy *Idh-B*, *6Pgd-A* a *Px-B*. Postupný gradient změny frekvence alespoň jedné z pozorovaných alel v souvislosti s geografickým rozšířením byl pak sledován u lokusů *Lap-A* a *Aco-A*. Jako místně specifické se jeví alely *Mdh-A₁*, *Got-A₃*, *Got-B₁* a *Mnr-B₂*. Na základě vyhodnocení genetické proměnlivosti byla jedle ve sledované oblasti rozdělena do třech oblastí, a to:

1. oblast alpsko-hercynská, která zahrnuje Slovinsko, Čechy a Moravu;

2. oblast západních Karpat zahrnující populace ze Slovenska, Polska a ukrajinské části Karpat;
3. oblast rumunských Karpat a Bulharsko.

Největší stupeň genetické diference byl pozorován v oblasti rumunských Karpat.

V roce 2001 byly publikovány výsledky studie sledující genetickou diverzitu v oblasti Západních Karpat pomocí 26 populací ze Slovenska a Ukrajiny (LONGAUER 2001). Sledování probíhalo na pletivu dormantních pupenů pomocí 18 enzymových lokusů na enzymových systémech *Aco*, *Dia*, *Got*, *Idh*, *Mdh*, *6Pgd*, *Ndh*, *Pgi*, *Pgm*, *Skdh*, *Per* a *Gdh*. Jako referenční oblast byla zvolena severní Morava v oblasti Československého kvartéru. Při hodnocení genových parametrů se projevil výrazný geografický trend směrem západ-východ a to při hodnocení průměrných pozorovaných a očekávaných heterozygotností a frekvencí výskytu 5 sledovaných polymorfních lokusů.

Stanovením kontaktní zóny mezi migračními cestami jedle bělokore v oblasti Německa (Bavorsko) a Rakouska se zabývala BREITTENBACH-DORFER a kol. (1997). Sledování probíhalo na enzymových systémech *Got*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *Mnr*, *6Pgd*, *Pgi*, *Pgm* a *Skdh*. Čtyři nejvíce variabilní lokusy (*Idh-A*, *Idh-B*, *Lap-A*, *6Pgd-A*), ukázaly jasné rozdělení západních a východních populací. Populace pocházející ze severní části sledované oblasti se více podobaly populacím z oblasti východní. Zdá se, že v populacích dochází k fixaci nejběžnější alely *Lap-A₂*. Pozorovaná a očekávaná heterozygotnost byla nejvyšší v západních populacích a klesala směrem k východu a severu. Všechny západní populace byly při využití klastrové analýzy sjednoceny do 1 skupiny. Ve druhé skupině byly populace východní a severní. Populace tranzitní zóny se nacházely v obou skupinách. Byla tedy potvrzena hypotéza o rekolonizaci jedle v oblasti severních Alp z refugia v oblasti centrální Itálie, která probíhala dvěma cestami. Isoenzymové analýzy také upřesnily oblast setkání těchto dvou proudů a to v oblasti mezi řekami Salzach a Traun (hranice mezi Rakouskem a Bavorskem). U dvou sledovaných populací byly pozorovány alely charakteristické pro populace pocházející z oblasti Balkánu (SCHROEDER 1989a, KONNERT & BERGMANN 1995), proto lze i v této oblasti předpokládat minimální ovlivnění balkánským refugiem (BREITTENBACH-DORFER a kol. 1997). Nebyla však potvrzena hypotéza stanovená na základě pylových analýz (LANG 1992), že by populace v oblasti Hercynské soustavy pohoří pocházely z balkánského refugia.

Výsledky rozsáhlé ucelené studie sledující genetickou variabilitu jedle v souvislosti s geografickým rozšířením byly publikovány v roce 1995 (KONNERT & BERGMANN 1995). Pomocí isoenzymů bylo sledováno celkem 98 populací jedle bělokore (50 populací

z Německa, 3 populace z Polska, 9 populací z České republiky, 4 populace ze Slovenské republiky, 1 populace z Ukrajiny, 5 populací z Rumunska, 1 populace z Makedonie, 1 populace ze Srbska, 1 populace z Bosny, 1 populace z Chorvatska, 2 populace ze Slovinska, 3 populace z Rakouska, 7 populací z Itálie a 5 populací z Francie). Sledování probíhalo na 8 enzymových systémech – *Ap*, *Got*, *Idh*, *Mdh*, *6Pgdh*, *Pgi*, *Pgm* a *Mnr*. Pro oblast západocentrální Evropy byly nalezeny specifické alely *Ap-A₃*, *Got-B₃* a *Mdh-A₃*. V jihozápadních populacích se kromě zmíněných alel objevila také alela *Mnr-B₁*. V populacích východní Evropy byly pozorovány alely *Ap-A₁*, *6Pgdh-B₃*, *Mdh-A₄* a *Pgm-B₁*. Tyto alely chyběly v populacích západocentrálních. V populacích východocentrální Evropy nebyly nalezeny alely *Ap-A₁* a *Mdh-A₄*. Přítomnost unikátní alely na lokusu *Pgi-B* pozorovaná pouze v jižních populacích na Balkánském poloostrově a u populací jedle *Abies borisii-regis* (FADY & CONKLE 1992, 1993) naznačují vysokou pravděpodobnost genového toku mezi populacemi obou druhů v oblasti Makedonie a Bulharska, kde se areál obou druhů překrývá (KONNERT & BERGMANN 1995).

3.2.4 Sledování vlivu abiotických faktorů pomocí isoenzymů

Jedle bělokorá byla využita také při sledování teplotní stability enzymu *Idh*. V případě jedle bělokoré jsou u enzymového systému *Idh* pozorovány dvě zóny aktivity označované jako *Idh-A* a *Idh-B*. Locus *Idh-B* byl v populacích jedle pozorován jako lokus, jehož alelické frekvence se mění v souvislosti se změnou zeměpisné šířky (BERGMANN & KOWNATZKI 1988). Výsledky dalších studií pak jasně ukázaly (BERGMANN & GREGORIUS 1993, LONGAUER 1996), že v severní části areálu rozšíření jedle je vyšší zastoupení alely *Idh-B₁* a směrem k jihu toto zastoupení klesá. Alela *Idh-B₂* má pak opačný trend. Jako jeden z hlavních faktorů, který postupnou změnu frekvence alel vysvětluje, je výše maximální letní teploty (BERGMANN & GREGORIUS 1993). Právě pomocí sledování vlivu teploty na aktivitu enzymu byla alela *A₁* označena jako citlivá a *B₂* jako stabilní. Proto jedinci s vyšší frekvencí výskytu alely *B₂* mohou přežívat i v oblastech s velmi vysokou teplotou.

Vlivem znečištění ovzduší na genetickou strukturu smrku ztepilého, jedle bělokoré a buku lesního se zabýval LONGAUER a kol. (2001, 2004). Emise jsou, nebo byly, zejména v oblasti střední Evropy významným stresovým faktorem pro lesní dřeviny (FÜHRER 1990). Analýzy jedle bělokoré probíhaly na enzymech *Aco*, *Dia*, *Gdh*, *Got*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *Ndh*, *Per*, *6Pgd*, *Pgi* (LONGAUER a kol. 2001) a *Skdh* (LONGAUER a kol. 2004). Na stanovištích velmi poškozených znečištěním ovzduší byl pozorován nedostatek

heterozygotů u odumírajících jedinců pouze pro lokus *Mdh-B*. Nepatrný přebytek heterozygotů byl u tohoto lokusu pozorován u zdravých stromů na stanovištích velmi a středně poškozených znečištěním. Protože rozdíly v úrovni genetické multiplicity a diversity jsou u jedle i buku velmi malé (ve srovnání se smrkem ztepilým), je možné, že hlubokokořenící dřeviny nejsou tak výrazně ovlivněny působením těžkých kovů, které se soustřeďují ve svrchnějších vrstvách půdy. Proto příčiny odumírání těchto dřevin mohou být jiné a více komplexní a vztah mezi poměrem genotyp-přežívání může být volnější (LONGAUER a kol. 2001). Překvapivě vyšší podíl heterozygotních lokusů byl pozorován u poškozených stromů ve srovnání se stromy zdravými. Na základě výsledků provedené studie se proto autoři domnívají, že přítomnost vzácných alel v odumírajících stromech naznačuje, že tyto alely jsou výsledkem škodlivých mutací. Ty mohou také vysvětlit jejich nízké frekvence. Na druhé straně, škodlivé alely jsou většinou recesivní, takže nemohou ovlivnit přežívání jejich nositelů, pokud jsou v heterozygotním stavu. Ať je důvod pro soustředování vzácných alel v odumírajících stromech jakýkoliv, faktem je, že všechny tyto alely mohou vymizet ze sledovaných populací v krátkém čase díky přímé nebo přidružené selekci. Trendy v úrovni genetické diverzity byly stejné ve všech sledovaných stromech. Vyšší úroveň diverzity byla pozorována u poškozených stromů. Rozdíly v alelové diverzitě se odrážely také v pozorované heterozygotnosti, např. v celkové genotypové struktuře (LONGAUER a kol. 2001). U jedle bělokoré byly detekovány různé vlivy na fitness jedinců pro jednotlivé lokusy (LONGAUER a kol. 2004).

Genetický vliv na projevy poškození jedle byl sledován také v Německu (KONNERT 1993). Na základě výsledků se zdá, že zejména lokus *Got-C* má vliv na odolnost jedlí vůči environmentálním stresům. V Sasku (GÓMEZ 1994) byla sledována souvislost mezi genetickou strukturou a stupněm poškození ovzduší v populacích jedle. Na základě stanovené ztráty jehlic byly sledované populace rozděleny do dvou skupin – „citlivé“ populace, kde ztráta jehlic jedinců byla vyšší než 30 % a „tolerantní“, kde ztráta jehlic byla do 30 %. V „tolerantních“ populacích byl pozorován vyšší počet heterozygotů na lokusu *6Pgdh-A*.

Vliv různých přírodních podmínek na genetickou strukturu jedle bělokoré byl sledován na dvouletých sazenicích pocházejících ze Slovinska z oblasti Dinárského pohoří (BERGMANN & HORVAT-MAROLT 1994). Byl sledován vliv světla (zastínění vs. plné osvětlení) na změnu genetické struktury. Prokazatelné rozdíly mezi sazenicemi rostoucími na volné ploše a sazenicemi rostoucími v zástínu vzrostlých stromů byly pozorovány pro lokusy *Got-B*, *Got-C* a *Idh-B*.

3.2.5 Genetické studie vybraných druhů rodu *Abies*

Pomocí isoenzymových analýz byly sledovány populace i dalších druhů z rodu *Abies*. Genetické vztahy mezi populacemi *Abies alba* a *Abies nebrodensis* sledoval VICARIO a kol. (1995). Ve studii byly využity jak isoenzymy, tak chloroplastová DNA a RAPD markery. Překvapivě vyšší heterozygotnost byla pozorována u reliktní populace *Abies nebrodensis*. U této populace byla také pozorována s vyšší frekvencí alela *Pgi-A₁* a u lokusu *Skd-A* byla nejfrekventovanější alelou alela 1 (ve srovnání s populacemi jedle bělokoré, kde nejčastější alelou byla 2). *Abies nebrodensis* byla sledována i v další studii (DUCCI a kol. 1999) pomocí 8 enzymových systémů (*Gdh*, *Got*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *6Pgdh*, *Pgi* a *Skdh*) Výsledky studie byly porovnány s výsledky dalších výzkumů pracujících se 16 populacemi *Abies alba* z oblasti Itálie, 1 populací *Abies cephalonica*, 1 populací *Abies equi-trojani*, 1 populací *Abies bornmuelleriana* a 1 populací *Abies nordmanniana*. FADY & CONKLE (1992) sledovali pomocí isoenzymů řeckou jedli *Abies ×borisii-regis*. Později publikovali výsledky studie zabývající se sledováním středoziemních populací rodu *Abies* (FADY & CONKLE 1993), kde bylo pomocí isoenzymů sledováno celkem 5 populací druhu *Abies cephalonica*, 2 populace *Abies bornmuelleriana*, 1 populace *Abies alba* a 1 populace křížence *Abies ×borisii-regis*. Studie byla provedena pomocí 16 enzymových systémů (*Acp*, *Aco*, *Cat*, *Gdh*, *Got*, *Gr*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *Mnr*, *Pep*, *Pgm*, *6Pgdh*, *Pgi*, *Skdh*, *Ugpp*). Některé alely na lokusech *Pgi-A*, *Pgi-B*, *Lap*, *Got-B* a *Mnr-A* se jevily jako druhově specifické. Ve stejné oblasti pak SCALTSOYIANNES a kol. (1999) provedl studii 19 populací rodu *Abies*. Pomocí osmi lokusů (*Idh-B*, *Acp-A*, *Per-B*, *6Pgdh-A*, *6Pgdh-B*, *Mnr-B*, *Pgi-B*, *Pgm-A*) bylo sledováno osm druhů jedle (*Abies alba*, *Abies cephalonica*, *Abies nordmanniana*, *Abies bornmuelleriana*, *Abies equi-trojani*, *Abies cilicica*, *Abies numidica*, *Abies pinsapo*), jeden přirozený kříženec *Abies ×borisii-regis* a dvě variety jedle španělské (*Abies pinsapo* var. *marocana*, *Abies pinsapo* var. *tazaotana*). Sledované populace pocházely z oblasti Itálie, Chorvatska, Řecka, Španělska, Turecka, Maroka a Alžírsko. Jako místně specifické alely byly identifikovány *Mnr-B₄* pro *Abies cilicica* a *Pgi-B₅* pro *Abies pinsapo*. Většina lokusů s vysokým polymorfismem prokazovala postupnou proměnlivost od severu k jihu. Nízké hodnoty očekávaných heterozygotů byly pozorovány v severních populacích. Naopak, v jižních populacích byly hodnoty vyšší a to jak u *Abies alba*, tak u *Abies cilicica* a *Abies equi-trojani*. Nízká heterozygotnost pozorovaná v afrických populacích (zejména u *Abies pinsapo*) může být způsobena dlouhodobou izolací a malou velikostí populace. Porovnání genetické variability zástupců rodu *Abies* (*Abies alba*, *Abies ×borisii-regis*, *Abies equi-trojani* a *Abies bornmuelleriana*)

na Balkánském poloostrově provedl BERGMANN & GAGOV (2000). Výsledky ukázaly velmi malé rozdíly mezi populacemi jedlí druhu *Abies alba* a *Abies ×borisii-regis* a při porovnání pomocí shlukové analýzy byly klastrovány do jedné skupiny.

3.2.6 Využití isoenzymů při sledování jedle bělokoré v dalších studiích

Isoenzymy byly využity také při hodnocení provenienčních výzkumů, kdy se sledovala úroveň genetické variability ve výzkumné lesní školce a arboretu „Knödelhütte“ při universitě ve Vídni (AVENDAÑO CÓRCOLES & KLUMPP 2000). Sledování probíhalo na 11 enzymových systémech (*Aap*, *Aat*, *Gdh*, *Idh*, *Lap*, *Mdh*, *Mnr* (*Dia*), *6Pgdh*, *Pgi*, *Pgm* a *Skd*). Pozorované alelické varianty a hodnoty genetických parametrů byly v souladu s publikovanými výsledky genetických analýz z jednotlivých oblastí, proto autoři došli k závěru, že jednotlivé provenience ve sledované výsadbě byly vybrány správně a jsou reprezentativní pro dané oblasti.

Také provenienční výsadby v oblasti jižního Německa (Bad Reichenhall, Traunstein, Deggendorf a Griesbach) byly sledovány pomocí isoenzymů (KONNERT & REUTZ 2002). Pomocí analýz 8 enzymových systémů (*Ap*, *Aat*, *Idh*, *Mdh*, *Mnr*, *Ndh*, *6Pgdh* a *Pgm*) bylo zjištěno, že jednotlivé provenience jsou reprezentativním vzorkem daných oblastí.

Úspěšně byly analýzy isoenzymů využity i při rekonstrukci postglaciálního šíření jedle. Například KONNERT & BERGMANN (1995) publikovali výsledky studie, ve které prokázali, že lze pomocí isoenzymů určit příslušnost populací jedlí k jednomu ze tří refugií (v oblasti jižního Balkánu, centrální Itálie nebo východocentrální části Francie), a to z toho důvodu, že jedle z jednotlivých refugií jsou geneticky odlišné. K tomuto odlišení došlo pravděpodobně díky dlouhodobé izolaci (KONNERT & BERGMANN 1995).

Isoenzymových analýz se využívá také pro návrhy opatření v lesnictví (např. stanovení oblastí přenosu sadebního materiálu, možnosti provedení kontrolovaného opylení) (KONNERT 1994).

3.3 Metoda elektroforézy isoenzymů

3.3.1 Genetické markery

Genetické markery, kterých se využívá při genetických studiích, jsou znaky pod úplnou genetickou kontrolou, jejichž odezva na změny okolního prostředí je minimální. Z hlediska genetických analýz mají největší hodnotu znaky, které jsou kontrolované pouze alelami jednoho lokusu. Nazývají se genové markery (PAULE 1992). Pomocí těchto markerů můžeme popsat mnoho procesů probíhajících v populacích, jako je genetický drift, systém páření a selekci nebo odhadnout efektivní velikost populace, genový tok, reprodukční úspěšnost a fitnes (HEWIT 1999). Znalosti o genetické struktuře jsou zásadní pro pochopení populační genetiky u lesních dřevin i jiných rostlin (EPPERSON 1992).

Znaky, které jsou kontrolované velkým počtem genů (např. výška stromu, velikost listů) nejsou pro využití při genetických analýzách vhodné (PAULE 1992). Jako genetické markery se v dnešní době nejvíce využívají molekulární markery, jako jsou isoenzymy a DNA markery.

3.3.2 Isoenzymy jako genetické markery a jejich využití v lesnické genetice

Isoenzymy jsou různými molekulárními formami stejného enzymu. Enzymy jsou, obecně řečeno, proteiny, které zprostředkovávají biokatalýzu (MÁNEK 2001). Jsou to zvláště důležité skupiny sekundárních produktů DNA, které mají vliv na většinu metabolických buněčných reakcí (CONKLE 1992). Každý enzym je jednoznačně definován schopností katalyzovat určitou biochemickou reakci. Avšak stejnou chemickou reakci může katalyzovat několik individuálních bílkovin. Proteiny, které katalyzují stejnou reakci a mají rozdílnou primární strukturu (posloupnost jednotlivých aminokyselin tvořící kostru proteinu), se nazývají isoenzymy. Isoenzymy jsou tedy různé formy jednoho enzymu, které katalyzují stejnou chemickou reakci, ale v důsledku záměny aminokyselin se liší některou ze svých vlastností, která se může projevit jako (MÁNEK 2001):

- změna náboje a konformace molekuly
- změna katalytické aktivity
- změna tepelné stability enzymu
- změna pH optima
- změna specifity reakce

V elektroforetických separacích se využívá toho, že isoenzymy jsou rozdílně pohyblivé formy daného enzymu, které vznikají kombinací několika podjednotek enzymů. Asi polovina enzymů je složena ze dvou podjednotek – dimerické enzymy (MÁNEK 2001).

Isoenzymy jako genetické markery mohou sloužit pro sledování jednotlivých genotypů a následně jejich frekvencí v celých populacích. Multilokusové genotypy (genotypy více lokusů) umožňují sledovat jednotlivé populace a na základě jejich frekvencí porovnávat vnitropopulační i mezipopulační variabilitu lesních dřevin (PAULE 1992). Umožňují tedy získat údaje jak o alelových frekvencích, tak o úrovni genetické variability studovaných populací (BROWN 1978). U lesních dřevin je průměrně 5-10 % variability dáno mezipopulačně a 90-95 % variability připadá na variabilitu v rámci populací (GEBUREK 1997). U nahosemenných dřevin je vyšší podíl polymorfních lokusů a průměrný počet alel na lokus než u krytosemenných (HAMRICK a kol. 1992).

Limitujícím faktorem pro použití isoenzymů jako genetických markerů je to, že jen několik enzymů může být obarveno histochemicky. Počet takto studovaných isoenzymových lokusů v genomu stromu většinou nepřesáhne 25. Isoenzymové analýzy proto dávají jen hrubý odhad celkového genomu (ERIKSSON & EKBERG 2001).

Isoenzymy byly poprvé ve výzkumu populační struktury použity začátkem sedmdesátých let (PAULE 1985). Jejich využití v lesnické genetice bylo široké a využívaly se nejen jako genetické markery, ale zejména při aplikaci v praxi a ve výzkumu šlechtění lesních dřevin (certifikace původu rodičovských stromů a klonů, certifikace semen, studium genetické efektivnosti semenných sadů) nebo v případech, kde isoenzymové lokusy reprezentují většinu genomu (stanovení úrovně genetické proměnlivosti v přirozených populacích, získávání informací pro zachování genofondu, studium charakteru páření na populační úrovni v přirozených a šlechtitelských populacích) (ADAMS 1981). Dále se využívaly při determinaci genetických vztahů mezi druhy, např. k odhadu příbuznosti vzácných taxonů a předpovědi jejich relativního ohrožení. Byly využívány také pro přímé stanovení alelové diverzity při návrhu ex-situ a in-situ programu záchrany genových zdrojů (MILLAR & WESTFALL 1992). Pomocí isoenzymů byla také sledována vzdálenost doletu pylu a šíření semen lesních dřevin (ADAMS 1992). Enzymové analýzy byly využívány i v systematice (např. studie v rámci rodu *Pinus* (BUSINSKÝ & WEGER 1995, MÁNEK & EŠNEROVÁ 2004, SZMIDT & WANG 1993, LEWANDOWSKI a kol. 2000), *Quercus* (MANOS & FAIRBROTHERS 1987, TOUMI & LUMARET 2001), *Alnus* (BOUSQUET a kol. 1988), *Larix* (SEMERIKOV a kol. 1999) aj.). U lesních dřevin se projevuje vyšší diverzita než u ostatních rostlin (KREMER 1994), protože mají obvykle menší podíl

fixovaných alel (alely s frekvencí rovnou 1,000) (CONKLE 1992). Isoenzymy byly úspěšně využity i jako podpora při rekonstrukci postglaciálních migračních cest (např. KONNERT & BERGMANN 1995, SCOTTI a kol. 2000, NAYDENOV a kol. 2007).

I když se v poslední době ve světě více používají analýzy pracující přímo s DNA, mají isoenzymové analýzy stále uplatnění při studiu genetické proměnlivosti a to především z těchto důvodů (WANG & SZMIDT 2001):

- snadnost prokázání způsobu dědičnosti isoenzymů
- kodominantnost allozymů zjednodušuje interpretaci bez potřeby komplikovaného křížení
- použitelnost techniky pro prakticky jakýkoliv druh
- je relativně levnou a technicky jednoduchou metodou
- sjednocenost statistických metod pro vyhodnocení genetické proměnlivosti (pozn. autora – existence softwarových programů, které umožňují rychlé vyhodnocení získaných dat)

Uvedené důvody využití platí i při využití většiny jiných metod pracujících přímo s DNA.

Při genetických analýzách se využívá isoenzymového polymorfismu, díky němuž je možné porovnávat genetickou strukturu jednotlivých jedinců i celých populací. Na vznik a udržování isoenzymového polymorfismu v rostlinných a živočišných populacích existují dvě základní teorie. První teorie říká, že jsou isoenzymové alely selekčně neutrální a že je isoenzymový polymorfismus vytvářen pouze mutacemi a genetickým driftem (např. RUDIN 1976). Druhá teorie naopak tvrdí, že geny kódující isoenzymy jsou součástí genomu a tudíž podléhají selekci (např. LUNDKVIST 1978). Výsledky pozdějších studií ukazují, že selekci podléhají enzymy, které jsou přímo spojeny se základními metabolickými procesy a ostatní enzymy jsou selekčně neutrální (např. BERGMANN a kol. 1990, EANES 1999).

3.3.3 Elektroforéza

Technika

Elektroforéza je technika, jejíž pomocí se v elektrickém proudu oddělují jednotlivé enzymy (CHELIAK a kol. 1987). Elektroforetická separace enzymů je možná díky ionizaci molekuly proteinu, tj. molekula nese určitý nenulový náboj. Elektroforéza pak spočívá v různě rychlé migraci enzymů elektrickým polem, což je dáno právě rozdílnou primární proteinovou strukturou (MÁNEK 2001). Jako nosič se pro elektroforézu používá

polyakrylamidový nebo škrobový gel, který je umístěn buď horizontálně na destičce, nebo vertikálně mezi dvěma skleněnými tabulkami. Kontakt mezi elektrodami a gelem je zprostředkován pufrům (HARTL & CLARK 2007). Proteiny, které jsou takto separovány, mohou být rozděleny do hlavních kategorií isoenzymů a do více specifických setů zvaných allozymy (BAKER 2000).

Po vložení homogenátu zkoumaného pletiva, což je vlastně směs isoenzymů, do elektrického pole, získáme po proběhlé elektroforéze rozdělené isoenzymy na gelu podle jejich elektroforetické pohyblivosti (MÁNEK 2001). Jako materiál pro isoenzymové analýzy se nejčastěji používá pletivo dormantních pupenů nebo semen.

Detekce isoenzymů

Po dokončení vlastní elektroforézy (elektroforéza probíhá několik hodin) jsou na gelu rozdělené proteiny, které je nutné zviditelnit barvením pomocí histochemické reakce. Obecně lze říci, že detekce enzymů je založena na reakci, kterou daný enzym katalyzuje. Oblasti na gelu, kam bílkovinné frakce domigrovaly, se zviditelní po přelití gelu „barvicí směsí“. Výsledkem barvení je vystoupení barevných proužků na gelu – elektroforeogram neboli zymogram neboli „pattern“ (charakteristický vzorec, genotyp jedince, pro daný enzym) (MÁNEK 2001).

Interpretace a omezení zymogramů

Předpokladem efektivního využívání dat, které elektroforéza poskytuje, je správná interpretace obrazců na gelech. Toho lze docílit při dodržení určitých předpokladů (MÁNEK 2001):

- Rozdílná pohyblivost enzymů v elektrickém poli je způsobena rozdíly v sekvenci DNA (pokud se zymogram dvou jedinců liší, předpokládáme, že rozdíly jsou geneticky založené).
- Expresí genů kódující enzymy je kodominantní, to znamená, že produkty všech alel daného lokusu lze nalézt na gelu a tak je možné rozlišit homozygotní a heterozygotní jedince (kodominance je podmínkou pouze při analýzách diploidního pletiva; u endospermu nehraje roli).
- Znalost kvartérní struktury enzymů.
- Znalost aktivity enzymu v jednotlivých kompartmentech buňky, případně období, kdy je daný enzym aktivní.

Získaná data umožňují ve značném rozsahu odhadovat míru heterozygotnosti v populaci a činit závěry o genetickém polymorfismu, reprodukčním systému, popřípadě o populační struktuře.

Při vyhodnocování zymogramů existují určitá omezení, která se však dají eliminovat intenzivním studiem vytypovaných enzymových systémů a konfrontací získaných výsledků s literaturou. Omezení jsou následující (MÁNEK 2001):

- Isoenzymová analýza má smysl jen tehdy, je-li na dané taxonomické úrovni a při sledování enzymových systémů nalezen polymorfismus.
- Běžnými elektroforetickými technikami můžeme rozeznat jen část proměnlivosti ve sledovaných isoenzymových lokusech
- Část alel může zůstat neobjevena (kryptická), přestože obvykle vykazují vysoký stupeň polymorfismu.
- Komplikací může také být výskyt tzv. nulových alel („null allels“), tedy alel bez aktivity in vitro.
- Existuje nebezpečí, že se na zymogramech objeví i nedědičné změny nebo artefakty, které mohou být vykládány jako pravidelné rozdíly mezi vzorky.
- Na zymogramech se mohou vyskytovat i tzv. sekundární isoenzymy, které mohou vznikat během posttranslačních procesů, kdy mohou vznikat vícere formy produktů jednoho genu (nedědičný polymorfismus).
- Sekundární proužky (stíny, duchy) mohou také vzniknout díky degradaci proteinů ve sledované homogenizované tkáni během laboratorního zpracování vzorků.

4 Materiál a metodika

4.1 Výběr lokalit

Výběr vhodných lokalit pro sběr rostlinného materiálu byl prováděn s přihlédnutím k zastoupení jedle uvedenému v lesních hospodářských plánech a terénním průzkumem. Vzhledem k tomu, že z důvodu minimalizace genetické příbuznosti byly mezi sledovanými jedinci dodržovány minimální vzdálenosti 30 m, musela lokalita svou rozlohou a zastoupením dřeviny umožnit sběr materiálu z dostatečného počtu jedinců. Výjimku tvoří populace označená jako Soubor 1000⁺, která byla tvořena jedinci rostoucími napříč Šumavou v nadmořské výšce nad 1 000 m, tj. jedná se o soubornou populaci plošně zahrnující oblast celé Šumavy. Každá lokalita/souborná populace byla hodnocena jako samostatná populace. Přehled sledovaných lokalit je uveden v tabulce č. 1 a jejich poloha na území NP Šumava je vyznačena v mapce v příloze č. 3.

Tabulka č. 1: Přehled sledovaných lokalit s uvedením číselného kódu, počtem hodnocených stromů a lesním vegetačním stupněm a průměrnou nadmořskou výškou.

Číselný kód populace	Název populace	Počet sledovaných stromů	LVS	Průměrná nadmořská výška
1	Gerlova Huť	48	6	800 m n. m.
2	Velký Bor	48	6	800 m n. m.
3	Soubor 1000 ⁺	50	6–7	>1000 m n. m.
4	Povydří	48	5	650 m n. m.
5	Stožecko	48	5–6	700 m n. m.

4.2 Sběr vzorků

V terénu byly z jednotlivých stromů odebírány koncové větvičky s dormantními pupeny v zimním období v letech 2006 a 2007. Při sběru vzorků byla mezi jednotlivými sledovanými stromy na lokalitě zachována minimální vzdálenost 30 m. Na lokalitách Velký Bor, Gerlova Huť a vzorky z populace označené jako Soubor 1000⁺ byly pro analýzy odebírány s využitím žebříku a aluminiové teleskopické tyče s huseníkem na konci. Sledované stromy na těchto lokalitách byly v terénu vyznačeny. Vzorky z oblasti Povydří a Stožecka byly sesbírány po orkánu Kyrill ze země (byly sesbírány ulámané větvičky s pupeny). Vzorky z těchto dvou populací zahrnovaly plošně mnohem rozsáhlejší oblast než první dvě populace.

Vzorky větviček z každého stromu byly uloženy do mikrotenového sáčku a celá populace do jednoho označeného pytle (číselný kód populací je uveden v tabulce č. 1). Shromážděný materiál byl až do doby vlastní analýzy deponován v mrazicím boxu při teplotě -22 °C.

4.3 Laboratorní zpracování

Před vlastní analýzou bylo každému vzorku (tzn. jedinci) přiděleno číslo pro potřeby opakované analýzy. Opakované analýzy se prováděly v případě, že byl získaný výsledný zymogram nečitelný a nebylo možné jeho spolehlivé vyhodnocení.

Pro vlastní genetickou analýzu byl použit proteinový extrakt z diploidní tkáně dormantních pupenů. Dormance je žádoucí vzhledem k minimálnímu obsahu sekundárních metabolitů, které mohou narušovat až znemožňovat interpretaci získaných výsledků (MÁNEK 2001). K přípravě extraktu bylo z každého jedince použito cca 10 mg pupenů zbavených obalových šupin. Extrakt byl připraven homogenizací tkáně pomocí plastového tloučku a písku v eppendorf zkumavkách s následným odstředěním na centrifuze. K extrakci byl použit tris-glycínový pufr s obsahem PVP a merkptoethanolu podle receptury MUONA a kol. (1987) s některými drobnými úpravami. Surový homogenát byl poté absorbován do papírových knotů o rozměru 3x10 mm (papír Whatman No. 3 MM). Knoty nasáté extraktem byly vloženy na cca 12% škrobový gel, který byl následně uložen do vlastní elektroforetické vany. Pro kontrolu byl na gel vkládán jeden referenční vzorek, jehož genotyp byl předem otestovaný.

Příprava gelu spočívala v mikrovlnném ohřevu škrobové suspenze a následném odvodu vodní vývěvou. Před vložení knotů s extraktem byly gely temperovány na 3°C.

Vlastní elektroforéza probíhala v horizontálním uspořádání při napětí 170 – 300 V a proudu 150 mA po dobu 5 hodin. Vše bylo chlazeno termostatickým cirkulátorem zn. HAAKE na 3°C. Průběh elektroforézy byl kontrolován rychlostí postupu bromfenolové modře.

Po ukončení elektroforézy byly gely rozřezány na tenké plátky a každý z nich obarven speciální histochemickou reakcí pro zviditelnění elektroforetických obrazců (tzv. zymogramů). Barvení isoenzymů probíhalo podle prací CONKLE a kol. (1982) a CHELIAK & PITEL (1984). Vyhodnocování zymogramů pak podle prací KONNERT (1992) a LONGAUER (1996). Bylo sledováno celkem 9 enzymových systémů (rozdělení do skupin

dle GILLESPIE & LANGLEY 1974) kódujících celkem 16 interpretovatelných lokusů (viz tabulka č. 2). Označení lokusů a alel probíhalo na základě jejich relativní elektroforetické mobility. Nejrychlejší alela byla označena číslem 1, pomalejší číslem 2, atd. V rámci každého enzymového systému byl lokus, který se dostal nejbližší ke katodě označen písmenem A, pomalejší písmenem B, atd. (viz obr. 1 v kapitole Výsledky).

U vzorků, u nichž byl výsledný zymogram nečitelný, bylo provedeno opakování. Cca 15 % jedinců bylo elektroforeticky sledováno dvakrát, cca 5 % vzorků bylo sledováno třikrát. V případě nejasné interpretace i po třetím opakování byly vzorky z hodnocení vyřazeny.

Tabulka č. 2: Přehled sledovaných enzymových systémů s uvedením zkratky Enzymové komise, počtem hodnocených lokusů.

Enzymový systém	Zkratka	E.C. kód	Počet hodnotitelných lokusů	Skupina
Isocitrát dehydrogenáza	IDH	1.1.1.42	1	I
Glutamát dehydrogenáza	GDH	1.4.1.2	1	I
Glutamát-oxalacetát transamináza	GOT	2.6.1.1	3	I
Leucin aminopeptidáza	LAP	3.4.11.1	2	I
Fosfoglukomutáza	PGM	5.4.2.2	2	I
Fosfoglukózoisomeráza	PGI	5.3.1.9	2	I
Peroxidáza	PEROX	1.11.1.7	2	II
Fosfoenolpyruvát karboxyláza	PEPCA	4.1.1.31	1	II
6-Fosfoglukonát dehydrogenáza	6-PGDH	1.1.1.44	2	II

4.4 Statistické hodnocení

Ze získaných zymogramů po proběhnutí elektroforéze byly určeny genotypy jedinců a z nich pak byly vypočítány základní genetické charakteristiky.

Genetickou strukturu populací je možné hodnotit jako stav populace v daném stádiu vývoje, tj. genetickou proměnlivost populací, mezipopulační genetickou variabilitu, anebo systém reprodukce (tj. mechanismus zabezpečující udržení genetické proměnlivosti mezi jednotlivými generacemi) (PAULE 1992).

Orientačními charakteristikami genetické proměnlivosti jsou průměrný počet alel na lokus a podíl polymorfních lokusů z celkového počtu zkoumaných lokusů. Míry charakterizující genetickou strukturu a proměnlivost populací jsou založeny na alelických frekvencích jednotlivých alelických variant v lokusech (PAULE 1992). Často používaným kritériem pro určování podílu polymorfních lokusů je frekvence nejvíce zastoupené alely (GONCHARENKO a kol. 1994). Lokus je považován za polymorfní, pokud frekvence nejvíce

zastoupené alely nepřesáhne hodnotu 0,95 (kritérium 0,95), resp. 0,99 (kritérium 0,99). V některých studiích se uvádí podíl polymorfních lokusů bez ohledu na frekvenci nejvíce zastoupené alely (žádné kritérium; no criterion). V těchto případech je lokus považován za polymorfní, pokud je u něj pozorován výskyt více než jedné alely.

Heterozygotnost je jednou ze základních charakteristik genetické proměnlivosti.

Očekávaná heterozygotnost (H_E) představuje podíl očekávaných heterozygotů v populaci na základě alelických frekvencí za předpokladu platnosti Hardy-Weinbergova zákona (NEI 1975 in BAKER 2000):

$$H_E = 1 - \sum p_i^2$$

p_i frekvence i-té alely

Pozorovaná heterozygotnost (H_O) je podíl heterozygotních jedinců v daném lokusu z celkového počtu pozorovaných jedinců (PAULE 1992) a lze vyjádřit jako (GILLET a kol. 2005):

$$H_O = \sum_{i < j} p_{ij}$$

Zda rozdělení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci odpovídá Hardy-Weinbergově rovnováze, je zjišťováno pomocí testu dobré shody. Odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy se také testuje na základě zjištěných genotypů v populaci (SWOFFORD & SELANDER 1981).

Struktura populace se obvykle stanovuje pomocí Wrightovy F-statistiky, kdy se určuje *stupeň inbreedingu v populaci* (F_{IS}), *stupeň populační diferenciace* (F_{ST}) a *odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy v populacích* (F_{IT}). Platí (WRIGHT 1951 in AVISE 2004):

$$(1 - F_{IT}) = (1 - F_{ST})(1 - F_{IS})$$

Stupeň inbreedingu (F_{IS}) udává převahu heterozygotních nebo homozygotních jedinců v populaci. Vypočte se jako (DORAK 2004):

$$F_{IS} = \frac{H_E - H_O}{H_E}$$

H_E očekávaná heterozygotnost v populaci

H_O pozorovaná heterozygotnost v populaci

Fixační indexy F_{IS} a F_{IT} jsou často souhrnně označovány jako F_I . Oba udávají převahu homozygotních nebo heterozygotních populací. Fixační index F_{IT} hodnotí souhrnně všechny sledované populace a vypočte se jako (NEI 1973, 1977 in AVISE 2004):

$$F_{IT} = 1 - \frac{H_O}{H_E}$$

H_E očekávaná heterozygotnost přes všechny populace

H_O pozorovaná heterozygotnost přes všechny populace

Stupeň populační diferenciace (F_{ST}) může být popsán jako rozptyl (V_p) alelových frekvencí mezi populacemi v závislosti na průměrné pozorované frekvenci (p) (AVISE 2004):

$$F_{ST} = \frac{V_p}{p(1-p)}$$

Genový tok je jedním z hlavních faktorů určujících genetickou strukturu populací (BURCZYK a kol. 2004). Genový tok se měří **počtem migrantů na populaci ($N_e m$)** (BARTON & BENGTTSSON 1986) a stanoví se jako:

$$F_{ST} = \frac{1}{(1 + 4 N_e m)}$$

Genetická vzdálenost (D) je mírou genetické podobnosti populací, která je založena na alelických frekvencích. Nejčastěji se používají Neiovy genetické vzdálenosti (PAULE 1992) a vyjádří se jako (GILLET a kol. 2005):

$$D = -\ln \left(\frac{J_{xy}}{\sqrt{J_x J_y}} \right)$$

J_x, J_y průměrné homozygotnosti na lokus v populacích X a Y

J_{xy} průměrná genová identita mezi populacemi X a Y.

Tyto parametry jsou počítány podle následujících formulí:

$$J_x = \sum \sum x_i$$

$$J_y = \sum \sum y_i$$

$$J_{xy} = \sum \sum x_i y_i$$

x_i, y_i frekvence i-té alely v populaci

V této studii byla data vyhodnocována pomocí počítačových programů určených pro analýzu genetické struktury z elektroforetických dat – BIOSYS 1 (SWOFFORD & SELANDER 1989), GSED (GILLET 1994), FSTAT (GOUDET 2001). Pro interpretaci matic genetických vzdáleností mezi populacemi byla použita shluková analýza – UPGMA (SNEATH & SOKAL 1973).

Byly zjišťovány následující charakteristiky:

- Alelické frekvence genetické multiplicity charakterizované celkovým počtem alel a podílem polymorfních lokusů.
- Očekávané a pozorované heterozygotnosti, indexy fixace.
- Genetické diference jednotlivých populací vyjádřené Neiovými genetickými vzdálenostmi (NEI 1972).

5 Výsledky

5.1 Charakteristika sledovaných enzymových systémů a hodnocení genotypů

Laboratorní analýzy byly prováděny pro všechny odebrané vzorky jedinců z každé populace. Celkem bylo analyzováno 242 stromů. U některých jedinců však nebyly ani po opakovaných analýzách zymogramy čitelné, proto nebyly zařazeny do výsledného hodnocení. V tabulce č. 3 je uveden počet skutečně vyhodnocovaných jedinců z každé populace pro každý lokus.

Tabulka č. 3: Přehled počtu hodnocených jedinců pro jednotlivé lokusy a populace.

Lokus	Počet hodnocených jedinců v populaci				
	Gerlova Hut'	Velký Bor	Soubor 1000 ⁺	Povydrří	Stožecko
<i>Idh-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Pgm-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Pgm-B</i>	43	46	50	48	48
<i>Lap-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Lap-B</i>	43	46	50	48	48
<i>Pgi-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Pgi-B</i>	43	46	50	48	48
<i>Perox-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Perox-B</i>	43	46	50	48	48
<i>6Pgh-A</i>	43	46	50	45	46
<i>6Pgh-B</i>	43	46	50	45	48
<i>Got-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Got-B</i>	43	46	50	48	48
<i>Got-C</i>	43	46	50	46	48
<i>Gdh-A</i>	43	46	50	48	48
<i>Pepca-B</i>	43	46	50	48	48

5.1.1 Sledované enzymové systémy

Na šumavských lokalitách bylo u jedle bělokoré sledováno celkem devět enzymových systémů. Všechny sledované alely jednotlivých interpretovatelných lokusů jsou uvedeny na obrázku č. 1.

Leucin aminopeptidáza (LAP)

Leucin aminopeptidáza se projevila dvěma lokusy. U lokusu A byly pozorovány ve čtyřech populacích tři alely, čtyři alely byly pozorovány pouze u jedné populace. U lokusu B bylo pozorováno pět alel u dvou populací. U třech populací byly pozorovány alely čtyři.

Glutamát dehydrogenáza (GDH)

Glutamát dehydrogenáza se projevila pouze jedním lokusem, a to lokusem A. Na jedné lokalitě se tento lokus projevil monomorfně, na ostatních byly pozorovány dvě alely.

Fosfoglukoisomeráza (PGI)

Enzymový systém fosfoglukoisomeráza se projevil dvěma lokusy. Lokus A byl u všech sledovaných populací monomorfní na druhé alele. Lokus B byl monomorfní pouze na jedné lokalitě, na ostatních lokalitách se projevíly dvě alely.

Glutamát-oxalacetát transamináza (GOT)

Glutamát-oxalacetát transamináza se projevila třemi lokusy. U lokusu A se projevíly dvě alely na třech lokalitách, na dvou lokalitách se lokus projevil monomorfně. U lokusu B byly pozorovány tři alely na čtyřech lokalitách, na jedné lokalitě se první alela neprojevíla. Lokus C se projevil třemi alelami na všech lokalitách.

Isocitrát dehydrogenáza (IDH)

Isocitrát dehydrogenáza se projevila pouze jedním lokusem. Ve třech populacích byly pozorovány tři alely, ve dvou populacích se jedna alela neprojevíla.

Fosfoenolpyruvát karboxyláza (PEPCA)

U fosfoenolpyruvát karboxylázy byl pozorován pouze jeden lokus, a to lokus B. Na všech lokalitách se projevil monomorfně na druhé alele.

6-fosfoglukonát dehydrogenáza (6-PGDH)

Enzymový systém 6-fosfoglukonát dehydrogenáza se u sledovaných populací projevil dvěma lokusy. U lokusu A byly pozorovány celkem čtyři alely. Druhá a třetí alela byla pozorována na všech lokalitách. První alela se projevíla pouze na jedné lokalitě

a čtvrtá alela byla pozorována na třech lokalitách. Lokus B se projevil celkem třemi alelami. První a třetí alela se každá projevila pouze na jedné lokalitě. Na zbývajících třech lokalitách se projevil monomorfně.

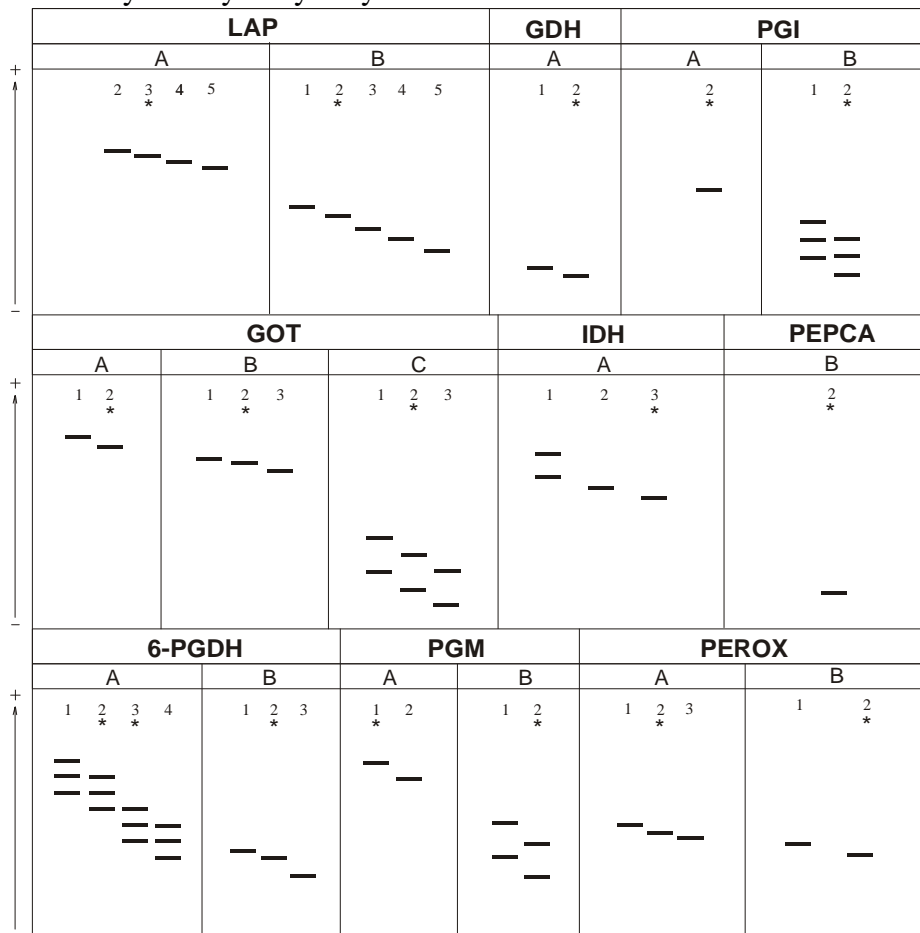
Fosfoglukomutáza (PGM)

U enzymového systému fosfoglukomutáza byly pozorovány dva lokusy. Lokus A se ve třech populacích projevil dvěma alelami, u dvou populací byl monomorfní. Lokus B se projevil dvěma alelami ve všech sledovaných populacích.

Peroxidáza (PEROX)

Enzymový systém peroxidáza se projevil dvěma lokusy. U lokusu A se objevily tři alely. První a třetí alela se projevila pouze na jedné lokalitě. Druhá alela byla pozorována na všech lokalitách. Lokus B se projevil dvěma alelami na třech lokalitách, na dvou byl projev monomorfní.

Obrázek č. 1: Schematický přehled a popis všech zaznamenaných alelických variant sledovaných enzymových systémů



Pozn: Symbol * nad alelou signalizuje nejfrekventovanější alelu pro daný lokus.

5.1.2 Hodnocení genotypů

Genotypy jedinců byly stanovovány na základě relativní pohyblivosti jednotlivých alel v elektrickém poli (viz. kapitola Metodika). Celkem bylo pozorováno 68 alelických variant.

Lokus *Idh-A*

Nejčastější kombinace alel, která se objevovala na lokalitě Gerlova Huť, byla kombinace 33. U některých jedinců byla pozorována kombinace 13 nebo 11. Jeden jedinec byl homozygotní na 2. alele. Nejčastější kombinací alel na lokalitě Velký Bor byla kombinace 33 a 11. U dvou jedinců byla pozorována kombinace 13. V populaci označené jako Soubor 1000⁺ se nejčastěji objevovala kombinace alel 33. Byly zde též pozorovány kombinace 11, 13, 23 a 22. Na lokalitě Povydří byly pozorovány kombinace alel 33, 11, 13 a 23. Na lokalitě Stožecko byli opět nejčastěji zastoupeni homozygotní jedinci na 3. alele. Dále se objevila kombinace 11 a 13.

Lokus *Pgm-A*

Na lokalitě Gerlova Huť a v populaci označené jako Soubor 1000⁺ byli pozorováni pouze homozygotní jedinci na alele 1. Na lokalitě Velký Bor byla kombinace alel 11 nejčastější, objevily se tu ale i kombinace 22 a 12. Na lokalitě Povydří byla pouze u jednoho jedince pozorována kombinace alel 12, ostatní jedinci byli homozygotní na 1. alele. Na lokalitě Stožecko měli převahu také homozygotní jedinci 11, ale objevili se i jedinci s kombinací 22 a 12.

Lokus *Pgm-B*

Na lokalitě Gerlova Huť se nejčastěji objevovali homozygotní jedinci na alele 2. U některých jedinců byla pozorována kombinace alel 12 a 11. Na lokalitě Velký Bor byli pozorováni pouze homozygotní jedinci 22 nebo 11. V populaci označené jako Soubor 1000⁺, podobně jako na lokalitě Stožecko, byli nejčastěji pozorováni homozygotní jedinci na 2. alele. Výjimečně se objevili také jedinci s kombinací alel 11 a 12. Na lokalitě Povydří byla nejčastější kombinací alel kombinace 22. U několika jedinců byla pozorována kombinace 12.

Lokus *Lap-A*

Na žádné ze sledovaných lokalit se neprojeví 1. alela. Na lokalitách Velký Bor a Gerlova Huť byli nejčastěji pozorováni homozygotní jedinci na 3. alele. Dále se zde objevila kombinace alel 23, 24 a 34. Podobně tomu bylo i u populace označené jako Soubor 1000⁺, ale navíc zde byl pozorován jeden homozygotní jedinec na alele 4. Na lokalitě Povydří se častěji než na jiných lokalitách objevovala u jedinců kombinace alel 34, nejčastěji byli ale opět zastoupeni homozygotní jedinci na 3. alele. Pouze jeden jedinec se objevil s kombinací alel 23. Na lokalitě Stožecko byl jako na jediné pozorován homozygotní jedinec na alele 5. Nejčastěji byli i tady zastoupeni homozygotní jedinci na 3. alele, dále byli pozorováni jedinci s kombinací alel 34, 24 a 44.

Lokus *Lap-B*

Na lokalitě Gerlova Huť se nejčastěji objevovali homozygotní jedinci na 2. alele. Druhou nejčastější kombinací alel byla kombinace 23. Dále zde byli pozorováni jedinci s kombinací 11, 12, 13, 33 a 34. Na lokalitě Velký Bor byli také nejčastěji pozorováni jedinci s kombinací alel 22, dále 11, 12, 23, 13 a 14. V populaci označené jako Soubor 1000⁺ se objevili jedinci s kombinací alel 11, 12, 13, 22, 23, 24 a 33, z nichž nejčastěji byli pozorováni homozygotní jedinci na 2. alele. Nejčastěji pozorovanou alelickou kombinací na lokalitě Povydří byla kombinace 44, druhou nejčastější 24. Dále byly pozorovány kombinace 12, 22, 23, 25, 33, 45 a 55. Na lokalitě Stožecko se nejčastěji objevovali heterozygotní jedinci s kombinací alel 24. U heterozygotních jedinců se dále objevila kombinace alel 14, 23, 25, 34, 35, a 45. Homozygotní jedinci byli pozorováni na 2., 3., 4. a 5. alele.

Lokus *Pgi-A*

U tohoto lokusu byli na všech lokalitách pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele.

Lokus *Pgi-B*

Na lokalitě Gerlova Huť byli na tomto lokusu pozorováni buď homozygotní jedinci na 1., nebo 2. alele a heterozygotní jedinci s kombinací alel 12. Na lokalitě Velký Bor byli pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele. V populaci Soubor 1000⁺ byli nejčastěji pozorováni homozygotní jedinci na 2. alele. Výjimečně byl pozorován jedinec s kombinací alel 12. Na lokalitě Povydří byli pozorováni pouze homozygotní jedinci, a to jak na 1. tak

na 2. alele. Homozygotní jedinci na 1. nebo 2. alele byli pozorováni i na lokalitě Stožecko. Zde byl však pozorován i jeden heterozygotní jedinec s kombinací alel 12.

Lokus *Perox-A*

Na lokalitách Gerlova Hut', Velký Bor a Stožecko byli u tohoto lokusu pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele. U populace Soubor 1000⁺ byli převážně pozorováni také homozygotní jedinci na 2. alele, objevili se zde ale i heterozygotní jedinci s kombinací alel 23. Na lokalitě Povydří byli kromě homozygotních jedinců na 2. alele pozorováni také homozygotní jedinci na alele 1. a heterozygotní jedinci s kombinací alel 12.

Lokus *Perox-B*

Na lokalitě Gerlova Hut' se u tohoto lokusu projevila pouze kombinace alel 22 a 11. V populacích Velký Bor a Soubor 1000⁺ byli pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele. Na lokalitě Povydří byli pozorováni buď homozygotní jedinci na 2. alele, nebo jedinci heterozygotní s kombinací alel 12. Na lokalitě Stožecko byla kromě alelických kombinací 22 a 12 sledována u 1 jedince také kombinace 11.

Lokus *6Pgdh-A*

Na lokalitě Gerlova Hut' byli na tomto lokusu převážně homozygotní jedinci na 2., 3. a 4. alele. Objevili se ale také jedinci s kombinací alel 23. Na lokalitě Velký Bor byli pozorováni homozygotní jedinci na 1., 2. a 3. alele nebo jedinci s kombinací alel 23 a 34. Také v populaci Soubor 1000⁺ převažovali homozygotní jedinci, a to na alelách 2 a 3. Pouze jeden jedinec byl pozorován s kombinací alel 23. Na lokalitě Povydří byly u jedinců pozorovány alelické kombinace 22, 23, 33, 34 a 44. Na lokalitě Stožecko byly pozorovány kombinace alel 22, 23 a 33.

Lokus *6Pgdh-B*

Na lokalitách Gerlova Hut', Velký Bor, Soubor 1000⁺ a Povydří byli u tohoto lokusu pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele. V populaci Stožecko se kromě kombinace 22 projevila také kombinace alel 12.

Lokus *Got-A*

Na lokalitách Gerlova Hut' a Soubor 1000⁺ se projevili pouze homozygotní jedinci na 2. alele. Na lokalitách Velký Bor a Povydří byli kromě homozygotních jedinců

na 2. alele pozorování také heterozygotní jedinci s kombinací alel 12. V populaci Stožecko se projeví alelické kombinace 11, 12 a 22.

Lokus *Got-B*

Na lokalitách Gerlova Huť a Povydří byli u tohoto lokusu pozorováni převážně homozygotní jedinci na 2. alele. Objevili se ale také heterozygotní jedinci s kombinací alel 12 a 23. Na lokalitách Velký Bor a Soubor 1000⁺ byli pozorováni homozygotní jedinci na 2. a 3. alele a heterozygotní jedinci s kombinacemi alel 12, 13 a 23. Na lokalitě Stožecko se objevili homozygotní jedinci na 2. alele a heterozygotní jedinci s kombinací alel 23.

Lokus *Got-C*

Na lokalitě Gerlova Huť byli pozorováni homozygotní jedinci jak na 2. alele, tak na alele 3. a heterozygotní jedinci s kombinací alel 23 a 13. Na lokalitě Velký Bor byli pozorováni jedinci s kombinacemi alel 22, 33, 12, 13 a 23. V populaci Soubor 1000⁺ se projeví jak homozygotní jedinci na 1. a 2. alele, tak jedinci heterozygotní s kombinací alel 12 a 23. Na lokalitě Povydří byli pozorováni jedinci s kombinací alel 11, 22 a 23. Na lokalitě Stožecko byli pozorováni homozygotní jedinci na 1., 2. i 3. alele a heterozygotní jedinci s kombinací alel 23.

Lokus *Gdh-A*

Na lokalitách Gerlova Huť, Povydří a Stožecko byli pozorováni pouze homozygotní jedinci a to buď na 2., nebo 1. alele. Na lokalitě Velký Bor byli pozorováni buď homozygotní jedinci na 2. alele, nebo heterozygotní jedinci s kombinací alel 12. V populaci Soubor 1000⁺ byli pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele.

Lokus *Pepca-B*

U tohoto lokusu byli na všech lokalitách pozorováni pouze homozygotní jedinci na 2. alele (odvozeno na základě studia literatury).

5.2 Hodnocení jednotlivých populací

5.2.1 Alelické frekvence

Pro každý lokus v každé populaci byly stanoveny frekvence výskytu jednotlivých alel. Tabulka č. 4 uvádí přehled alelických frekvencí, v příloze 4 je grafické znázornění těchto frekvencí v lokusech a v příloze 5 je souhrnné grafické znázornění lokusů v jednotlivých populacích. Frekvence alel v populacích se pohybovaly v rozmezí 1 % až 100 %. Stoprocentní výskyt jedné alely v lokusu značí homozygotního jedince.

Tabulka č. 4: Alelické frekvence jednotlivých lokusů pro jednotlivá stanoviště (tučně vyznačeno diskutované).

1.část

Lokus	Alela	Lokalita				
		Gerlova Hut'	Velký Bor	Soubor 1000+	Povydrří	Stožecko
<i>Idh-A</i>	1	0,116	0,326	0,100	0,198	0,240
	2	0,023	0,000	0,050	0,052	0,000
	3	0,861	0,674	0,850	0,750	0,760
<i>Pgm-A</i>	1	1,000	0,957	1,000	0,990	0,927
	2	0,000	0,043	0,000	0,010	0,073
<i>Pgm-B</i>	1	0,081	0,087	0,080	0,021	0,083
	2	0,919	0,913	0,920	0,979	0,917
<i>Lap-A</i>	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	0,174	0,033	0,090	0,010	0,031
	3	0,745	0,934	0,840	0,896	0,854
	4	0,081	0,033	0,070	0,094	0,094
	5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021
<i>Lap-B</i>	1	0,116	0,174	0,140	0,010	0,021
	2	0,616	0,772	0,730	0,333	0,313
	3	0,256	0,043	0,120	0,115	0,219
	4	0,012	0,011	0,010	0,469	0,353
	5	0,000	0,000	0,000	0,073	0,094
<i>Pgi-A</i>	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>Pgi-B</i>	1	0,221	0,000	0,020	0,083	0,094
	2	0,779	1,000	0,980	0,917	0,906
<i>Perox-A</i>	1	0,000	0,000	0,000	0,052	0,000
	2	1,000	1,000	0,980	0,948	1,000
	3	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000
<i>Perox-B</i>	1	0,047	0,000	0,000	0,052	0,052
	2	0,953	1,000	1,000	0,948	0,948

Tabulka č. 4: Alelické frekvence jednotlivých lokusů pro jednotlivá stanoviště (tučně vyznačeno diskutované).

2.část

Lokus	Alela	Lokalita				
		Gerlova Hut'	Velký Bor	Soubor 1000+	Povydrří	Stožecko
<i>6Pgdh-A</i>	1	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000
	2	0,384	0,283	0,430	0,645	0,707
	3	0,593	0,673	0,570	0,311	0,293
	4	0,023	0,022	0,000	0,044	0,000
<i>6Pgdh-B</i>	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,021
	2	1,000	0,978	1,000	1,000	0,979
	3	0,000	0,022	0,000	0,000	0,000
<i>Got-A</i>	1	0,000	0,011	0,000	0,010	0,052
	2	1,000	0,989	1,000	0,990	0,948
<i>Got-B</i>	1	0,081	0,043	0,050	0,042	0,000
	2	0,896	0,870	0,890	0,906	0,990
	3	0,023	0,087	0,060	0,052	0,010
<i>Got-C</i>	1	0,012	0,033	0,120	0,022	0,083
	2	0,779	0,782	0,840	0,891	0,834
	3	0,209	0,185	0,040	0,087	0,083
<i>Gdh-A</i>	1	0,023	0,033	0,000	0,021	0,021
	2	0,977	0,967	1,000	0,979	0,979
<i>Pepca-B</i>	1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

5.2.2 Hodnocení alelových frekvencí na jednotlivých lokalitách

Gerlova Hut'

Na lokalitě Gerlova Hut' byl lokus *Pgm-A* monomorfní na 1. alele, stejně jako v populaci Soubor 1000⁺. S poměrně vysokou frekvencí, přes 17 %, byl na této lokalitě pozorován výskyt 2. alely lokusu *Lap-A*. U ostatních populací byla frekvence výskytu této alely do 9 %. U lokusu *Pgi-B* byla s vysokou frekvencí zastoupena 1. alela. Na této lokalitě se objevila se zastoupením přes 22 %, zatímco na ostatních lokalitách nedosáhla ani 10 %. Nejfrekventovanější alelou u lokusu *6Pgdh-A* byla, podobně jako na dalších dvou lokalitách, 3. alela. Lokus *Got-A* se projevil na této lokalitě monomorfně. S poměrně vysokou frekvencí (8,1 %) se zde projevila 1. alela lokusu *Got-B*. Na ostatních lokalitách byl její výskyt do 5 %. S frekvencí přes 20 % byla u lokusu *Got-C* na této lokalitě a na lokalitě Velký Bor pozorována 3. alela.

Velký Bor

Na lokalitě Velký Bor nebyla pozorována 2. alela lokusu *Idh-A*. S poměrně vysokým zastoupením (přes 93 %) se zde objevila 3. alela lokusu *Lap-A*. Jako na jediné lokalitě byl zde pozorován monomorfní projev lokusu *Pgi-B*. Také lokus *Perox-B* se zde projevil monomorfně. U lokusu *6Pgdh-A* se pouze na této lokalitě projevila 1. alela, 3. alela zde měla nejvyšší zastoupení (přes 67 %). U lokusu *6Pgdh-B* se projevila se 2% zastoupením 3. alela. U lokusu *Got-C* byla pozorována 3. alela s 18,5% zastoupením.

Populace Soubor 1000⁺

V této populaci se projevil monomorfně lokus *Pgm-A*. U lokusu *Perox-A* se u některých jedinců pouze v této populaci projevila 3. alela. Frekvence této alely byla 2 %. Lokus *Perox-B* měl monomorfní projev. Nejvyšší frekvenci u lokusu *6Pgdh-A* měla 3. alela, 4. alela nebyla pozorována vůbec. Monomorfně se projevil také lokus *Got-A*. U lokusu *Got-C* se s poměrně vysokou frekvencí (12 %) projevila 1. alela, naopak, 3. alela měla ve srovnání s ostatními populacemi nejnižší frekvenci (4 %). Lokus *Gdh-A* se pouze v této populaci projevil monomorfně.

Povydrří

Lokus *Pgm-B* se na této lokalitě projevil s velmi nízkou frekvencí (pouze 2 %). U lokusu *Lap-A* se s 1% frekvencí projevila 2. alela, stejně jako 1. alela u lokusu *Lap-B*. 4. alela u lokusu *Lap-B* se projevila s nejvyšší frekvencí (téměř 47 %) a projevila se také alela 5. U lokusu *Perox-A* byla pozorována 1. alela. Nejvyšší frekvenci u lokusu *6Pgdh-A* měla 2. alela.

Stožecko

Na lokalitě Stožecko nebyla u lokusu *Idh-A* pozorována 2. alela. Jako na jediné lokalitě byla zde pozorována 5. alela u lokusu *Lap-A*. U lokusu *Lap-B* se 1. alela projevila pouze s malou frekvencí, nejvyšší frekvence byla pozorována u 4. alely a byla pozorována také alela 5. 2. alela u lokusu *6Pgdh-A* měla nejvyšší frekvenci (70,7 %) a nebyla pozorována alela 4. U lokusu *6Pgdh-B* byla pouze zde pozorována alela 1. S více než 5% frekvencí se projevila 1. alela lokusu *Got-A*. U lokusu *Got-B* se 1. alela neprojevila vůbec.

5.2.3 Hodnocení alelových frekvencí v závislosti na geografické poloze a nadmořské výšce

Při vyhodnocování závislosti zastoupení alel na geografické poloze, nebyl pozorován žádný významný trend (viz příloha č. 4). Důvodem je nejspíše malá rozloha sledované oblasti.

Při vyhodnocování závislosti zastoupení alel na nadmořské výšce, byl pozorován trend snižování výskytu 4. alely u lokusu *Lap-B* se stoupající nadmořskou výškou. Opačný trend byl pozorován u 2. alely stejného lokusu (viz příloha č. 5). U ostatních lokusů žádný trend pozorován nebyl. Důvodem může být opět malá rozloha sledované oblasti.

5.2.4 Hodnocení podílu polymorfních lokusů

Při použití kritéria 0,95 bylo pozorováno ze šestnácti hodnocených lokusů dvanáct lokusů (75 %) polymorfních alespoň v jedné populaci. Polymorfních lokusů ve všech populacích bylo pět (31,25 %). Při použití kritéria 0,99 bylo alespoň v jedné populaci polymorfních 87,5 % lokusů, tj. čtrnáct lokusů ze sledovaných šestnácti. Ve všech populacích bylo polymorfních sedm lokusů, tj. 43,75 %. Pokud uvažujeme, že polymorfní lokus je jakýkoliv lokus, kde se projevilo více alel než jedna (bez kritéria), zůstávají hodnoty stejné jako při použití kritéria 0,99. Všechny alely, které byly u jednotlivých lokusů pozorovány, měly alespoň 1% zastoupení, protože v každé populaci nebylo hodnoceno více než 50 stromů.

Při použití kritéria 0,95 při hodnocení jednotlivých lokalit bylo zjištěno, že nejmenší podíl polymorfních lokusů (43,75 %) byl na lokalitě Velký Bor a v populaci označené jako Soubor 1000⁺. V populacích Gerlova Huť a Povydrří bylo zastoupení polymorfních lokusů 56,25%. Nejvíce polymorfních lokusů bylo pozorováno na lokalitě Stožecko (62,5 %). Při použití kritéria 0,99 byl nejmenší podíl polymorfních lokusů pozorován v populaci Soubor 1000⁺ (56,25 %), dále na lokalitě Gerlova Huť (62,5 %) a Velký Bor (68,75 %). Nejvyšší podíl polymorfních lokusů byl pozorován na lokalitách Stožecko a Povydrří (81,25 %).

5.2.5 Podíl heterozygotních jedinců v populacích

Pro každou sledovanou populaci a lokus byl stanoven počet očekávaných a pozorovaných heterozygotních jedinců (viz tabulka č. 5).

Nejvyšší počet pozorovaných heterozygotních jedinců na lokalitě Gerlova Huť byl u lokusů *Lap-B* (18), *Pgi-B* (17) a *Lap-A* (16). Ani jeden heterozygotní jedinec se neobjevil

u dvou lokusů (*Perox-A*, *Gdh-A*). Nejvíce heterozygotních jedinců bylo očekáváno u lokusu *Lap-B* (23,267) a nejméně u *Gdh-A* (1,953). Lokusy *Pgm-B*, *Pgi-A*, *Perox-B*, *6Pgdh-B*, *Got-A* a *Pepca-B* byly homozygotní. Na lokalitě Velký Bor byl nejvyšší počet heterozygotních jedinců pozorován také pro lokus *Lap-B* (8) a dále pro lokusy *6Pgdh-A* a *Got-C* (oba 6). Žádný heterozygotní jedinec nebyl u lokusu *Pgm-B*. Pět lokusů bylo na této lokalitě homozygotních (*Pgi-A*, *Pgi-B*, *Perox-A*, *Perox-B* a *Pepca-B*). Nejvyšší počet očekávaných heterozygotních jedinců byl stanoven pro lokus *6Pgdh-A* (21,391) a nejnižší pro *Got-A* (0,989). V populaci Soubor 1000⁺ byl pozorovaný nejvyšší počet heterozygotních jedinců u lokusů *Lap-B* (17), *Got-C* (14) a *Lap-A* (11), nejnižší u *6Pgdh-A* (1). Nejvyšší počet očekávaných heterozygotních jedinců byl stanoven pro lokus *6Pgdh-A* (24,510) a nejnižší pro lokusy *Pgi-B* a *Perox-A* (oba 1,960). Na této lokalitě bylo pozorováno nejvíce homozygotních lokusů, celkem 7 (*Pgm-A*, *Pgi-A*, *Perox-B*, *6Pgdh-B*, *Got-A*, *Gdh-A* a *Pepca-B*). Na lokalitě Povydří byl opět nejvyšší počet heterozygotních jedinců pro lokus *Lap-B* (20) a dále pro lokusy *Idh-A* a *Lap-A* (oba 9). Žádný heterozygotní jedinec nebyl pozorován u lokusů *Pgi-B* a *Gdh-A*. Nejvyšší počet očekávaných heterozygotních jedinců byl určen pro *Lap-B* (26,436) a nejnižší pro lokusy *Pgm-A* a *Got-A* (oba 0,989). Homozygotní lokusy byly tři (*Pgi-A*, *6Pgdh-B* a *Pepca-B*). Na lokalitě Stožecsko byl nejvyšší počet pozorovaných heterozygotních jedinců opět u lokusu *Lap-B* (22), dále u *Idh-A* (11) a *6Pgdh-B* (7). Ani jeden heterozygotní jedinec nebyl pozorován u lokusu *Gdh-A*. Nejvyšší počet očekávaných heterozygotních jedinců byl určen pro lokus *Lap-B* (30,287) a nejnižší pro *Got-B* (0,989). Homozygotní lokusy byly na této lokalitě celkem tři (*Pgi-A*, *Perox-A* a *Pepca-B*).

Tabulka č. 5: Počet pozorovaných (N_{HO}) a očekávaných (N_{HE}) heterozygotních jedinců v jednotlivých lokusech a populacích (tučně vyznačeno diskutované). (Pomlčky v buňkách značí homozygotní lokusy.)

Lokus	Počet heterozygotních jedinců	Lokalita				
		Gerlova Huť	Velký Bor	Soubor 1000+	Povydrří	Stožecko
<i>Idh-A</i>	N_{HO}	6,000	2,000	5,000	9,000	11,000
	N_{HE}	10,558	20,217	13,250	18,330	17,372
<i>Pgm-A</i>	N_{HO}	1,000	2,000	-	1,000	3,000
	N_{HE}	6,430	3,826	-	0,989	6,479
<i>Pgm-B</i>	N_{HO}	-	0,000	2,000	2,000	4,000
	N_{HE}	-	7,304	7,360	1,957	7,319
<i>Lap-A</i>	N_{HO}	16,000	4,000	11,000	9,000	6,000
	N_{HE}	17,593	5,707	14,070	8,138	11,691
<i>Lap-B</i>	N_{HO}	18,000	8,000	17,000	20,000	22,000
	N_{HE}	23,267	17,120	21,650	26,436	30,287
<i>Pgi-A</i>	N_{HO}	-	-	-	-	-
	N_{HE}	-	-	-	-	-
<i>Pgi-B</i>	N_{HO}	17,000	-	2,000	0,000	1,000
	N_{HE}	14,802	-	1,960	7,319	8,138
<i>Perox-A</i>	N_{HO}	0,000	-	2,000	3,000	-
	N_{HE}	3,814	-	1,960	2,904	-
<i>Perox-B</i>	N_{HO}	-	-	-	5,000	3,000
	N_{HE}	-	-	-	4,734	4,734
<i>6Pgdh-A</i>	N_{HO}	5,000	6,000	1,000	4,000	7,000
	N_{HE}	21,523	21,391	24,510	22,227	18,900
<i>6Pgdh-B</i>	N_{HO}	-	2,000	-	-	2,000
	N_{HE}	-	1,957	-	-	1,957
<i>Got-A</i>	N_{HO}	-	1,000	-	1,000	3,000
	N_{HE}	-	0,989	-	0,989	4,734
<i>Got-B</i>	N_{HO}	9,000	5,000	7,000	5,000	1,000
	N_{HE}	8,221	10,783	10,090	8,351	0,989
<i>Got-C</i>	N_{HO}	8,000	6,000	14,000	8,000	4,000
	N_{HE}	15,012	16,207	13,920	9,067	13,957
<i>Gdh-A</i>	N_{HO}	0,000	3,000	-	0,000	0,000
	N_{HE}	1,953	2,902	-	1,957	1,957
<i>Pepca-B</i>	N_{HO}	-	-	-	-	-
	N_{HE}	-	-	-	-	-

5.2.6 Fixační index pro jednotlivé lokusy

Hodnoty indexů fixace pro jednotlivé lokusy u sledovaných populací jsou uvedeny v tabulce č. 6. Fixační index udává zastoupení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci na konkrétních polymorfních lokusech. Může nabývat hodnot -1 až +1. Hodnota -1 znamená, že se v populaci vyskytují pouze heterozygotní jedinci; hodnota +1 říká, že v populaci jsou pozorováni jen homozygotní jedinci.

U populace Gerlova Huť byli u lokusu *Perox-A* a *Gdh-A* sledováni pouze jedinci homozygotní. Na lokalitě Velký Bor byli pouze homozygotní jedinci pozorováni na lokusu *Pgm-B*. Na lokalitě Povydří to byly lokusy *Pgi-B* a *Gdh-A*. Na lokusu *Gdh-A* byli pouze homozygotní jedinci sledováni i na lokalitě Stožecko. Na všech lokalitách bylo u převažujícího počtu lokusů pozorováno vyšší zastoupení homozygotních jedinců (kladné znaménko indexu). Na lokalitě Povydří byl sledován nejvyšší podíl lokusů s heterozygotním zastoupením jedinců.

Tabulka č. 6: Hodnoty indexů fixace pro jednotlivé lokusy a populace.

Lokus	Lokalita				
	Gerlova Huť	Velký Bor	Soubor 1000+	Povydří	Stožecko
<i>Idh-A</i>	0,432	0,901	0,623	0,509	0,367
<i>Pgm-A</i>	0,844	0,477	-	-0,011	0,537
<i>Pgm-B</i>	-	1,000	0,728	-0,022	0,453
<i>Lap-A</i>	0,091	0,299	0,218	-0,106	0,487
<i>Lap-B</i>	0,226	0,533	0,215	0,243	0,274
<i>Pgi-A</i>	-	-	-	-	-
<i>Pgi-B</i>	-0,148	-	-0,020	1,000	0,877
<i>Perox-A</i>	1,000	-	-0,020	-0,033	-
<i>Perox-B</i>	-	-	-	-0,056	0,366
<i>6Pgdh-A</i>	0,768	0,720	0,959	0,820	0,630
<i>6Pgdh-B</i>	-	-0,022	-	-	-0,022
<i>Got-A</i>	-	-0,011	-	-0,011	0,366
<i>Got-B</i>	-0,095	0,536	0,306	0,401	-0,011
<i>Got-C</i>	0,467	0,630	-0,006	0,118	0,713
<i>Gdh-A</i>	1,000	-0,034	-	1,000	1,000
<i>Pepca-B</i>	-	-	-	-	-

5.2.7 Testování platnosti Hardy-Weinbergovy rovnováhy v populacích

Pro statistické zhodnocení platnosti Hardy-Weinbergovy rovnováhy ve sledovaných populacích byl použit χ^2 -test pro porovnání očekávaných a pozorovaných genotypů v populaci a dále test dobré shody pro porovnání zastoupení homozygotních a heterozygotních jedinců.

Testování rozložení genotypů v populaci

V tabulce v příloze č. 6 jsou uvedeny základní údaje pro hodnocení genotypů v jednotlivých lokusech pro posouzení platnosti stanovené nulové hypotézy, která je: „Ve sledované populaci platí Hardy-Weinbergova rovnováha.“

Na lokalitě Gerlova Huť byla hypotéza testována na deseti polymorfních lokusech (*Idh-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Pgi-B*, *Perox-A*, *6Pgdh-A*, *Got-B*, *Got-C* a *Gdh-A*). Pozorované genotypy se u lokusů *Idh-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Perox-A*, *6Pgdh-A*, *Got-C* a *Gdh-A* významně liší na hladině významnosti $\alpha=0,05$ od četnosti genotypů předpokládaných při platnosti Hardy-Weinbergovy rovnováhy. Na lokalitě Velký Bor byla hypotéza testována také na deseti polymorfních lokusech (*Idh-A*, *Pgm-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *6Pgdh-A*, *Got-A*, *Got-B*, *Got-C* a *Gdh-A*). U všech sledovaných lokusů, kromě *Got-A* a *Gdh-A*, byla platnost nulové hypotézy zamítnuta na hladině významnosti $\alpha=0,05$. U populace Soubor 1000⁺ byla nulová hypotéza testována na devíti lokusech (*Idh-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Pgi-B*, *Perox-A*, *6Pgdh-A*, *Got-B* a *Got-C*). Platnost nulové hypotézy byla zamítnuta na hladině významnosti $\alpha=0,05$ u lokusů *Idh-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *6Pgdh-A* a *Got-B*. Na lokalitě Povydrří probíhalo testování na třinácti lokusech (*Idh-A*, *Pgm-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Pgi-B*, *Perox-A*, *Perox-B*, *6Pgdh-A*, *Got-A*, *Got-B*, *Got-C* a *Gdh-A*). Platnost Hardy-Weinbergovy rovnováhy byla na hladině významnosti $\alpha=0,05$ zamítnuta u sedmi lokusů (*Idh-A*, *Lap-B*, *Pgi-B*, *6Pgdh-A*, *Got-B*, *Got-C* a *Gdh-A*). Na lokalitě Stožecko byla nulová hypotéza testována také na třinácti lokusech (*Idh-A*, *Pgm-A*, *Pgm-B*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Pgi-B*, *Perox-B*, *6Pgdh-A*, *6Pgdh-B*, *Got-A*, *Got-B*, *Got-C* a *Gdh-A*) a na hladině významnosti $\alpha=0,05$ nebyla zamítnuta pouze pro lokusy *6Pgdh-B* a *Got-B*.

Testování rozložení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci

Pomocí testu dobré shody bylo zjišťováno, zda rozdělení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci odpovídá Hardy-Weinbergově rovnováze. Pro každý

lokus byly testovány následující skupiny: homozygotní jedinci pro nejčastěji zastoupenou alelu, běžní/vzácní heterozygotní jedinci a vzácní homozygotní jedinci a ostatní heterozygotní jedinci. Základní hodnoty pro jednotlivé lokusy pro posouzení platnosti stanovené nulové hypotézy, která je: „Ve sledované populaci platí Hardy-Weinbergova rovnováha,“ jsou uvedeny v příloze č. 7.

Na lokalitě Gerlova Huť byla nulová hypotéza testována na šesti lokusech (*Idh-A*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Pgi-A*, *Got-B*, *Got-C*). Rozdělení homozygotních a heterozygotních jedinců se u lokusů *Idh-A*, *Lap-A*, *Pgi-A*, a *Got-C* významně liší na hladině významnosti $\alpha=0,05$ od rozložení předpokládaného při platnosti Hardy-Weinbergovy rovnováhy. Na lokalitě Velký Bor byla nulová hypotéza na hladině významnosti $\alpha=0,05$ zamítnuta u všech z pěti testovaných lokusů (*Lap-A*, *Lap-B*, *6Pgdh-A*, *Got-B*, *Got-C*). V populaci Soubor 1000⁺ byla platnost nulové hypotézy zamítnuta na hladině významnosti $\alpha=0,05$ u třech (*Idh-A*, *Lap-A*, a *Got-B*) z pěti testovaných lokusů (*Idh-A*, *Lap-A*, *Lap-B*, *Got-B*, *Got-C*). Na lokalitě Povydrří byla platnost stanovené nulové hypotézy testována také na pěti polymorfních lokusech (*Idh-A*, *Lap-B*, *6Pgdh-A*, *Got-B*, *Got-C*). Na hladině významnosti $\alpha=0,05$ byla hypotéza zamítnuta u třech lokusů (*Idh-A*, *6Pgdh-A* a *Got-B*). Platnost nulové hypotézy byla na lokalitě Stožecko testována na třech lokusech (*Lap-A*, *Lap-B* a *Got-C*) a byla zamítnuta na hladině významnosti $\alpha=0,05$ u lokusů *Lap-A* a *Got-C*.

5.3 Souhrnné zhodnocení populací

5.3.1 Základní genetické charakteristiky

Přehled sumárních výsledků pro jednotlivé lokality je uveden v tabulce č. 7.

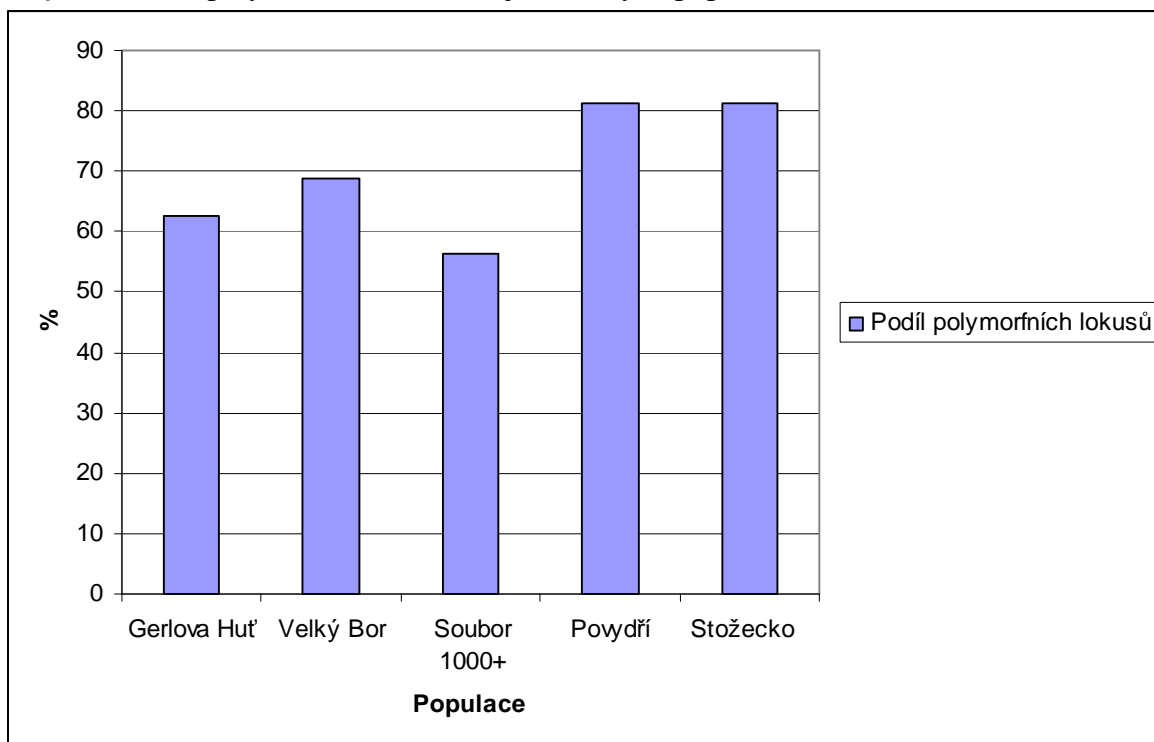
Nejvyšší průměrný počet alel na lokus byl pozorován na lokalitě Povydrří (2,2), dále na lokalitách Gerlova Huť, Velký Bor a Stožecko (2,1). V populaci Soubor 1000⁺ byl pozorován nejmenší průměrný počet alel na lokus (1,9) i nejmenší podíl polymorfních lokusů (56,3 %). Nejvyšší podíl polymorfních lokusů byl pozorován na lokalitě Povydrří a Stožecko (81,3 %) (viz tabulka č. 7 a graf č. 1). Nejnižší pozorovaná heterozygotnost byla zjištěna na lokalitě Velký Bor (0,053) a v populaci Soubor 1000⁺ (0,076). Nejvyšší pozorovaná heterozygotnost, přes 0,1, byla zjištěna na lokalitě Gerlova Huť. Pro tuto lokalitu byla stanovena také nejvyšší očekávaná heterozygotnost. Očekávaná heterozygotnost byla ve všech sledovaných populacích větší než heterozygotnost pozorovaná (viz tabulka č. 7 a graf č. 2). Ve všech populacích byla pozorována kladná

hodnota fixačního indexu, což znamená, že byl ve všech populacích pozorován vyšší podíl homozygotních jedinců.

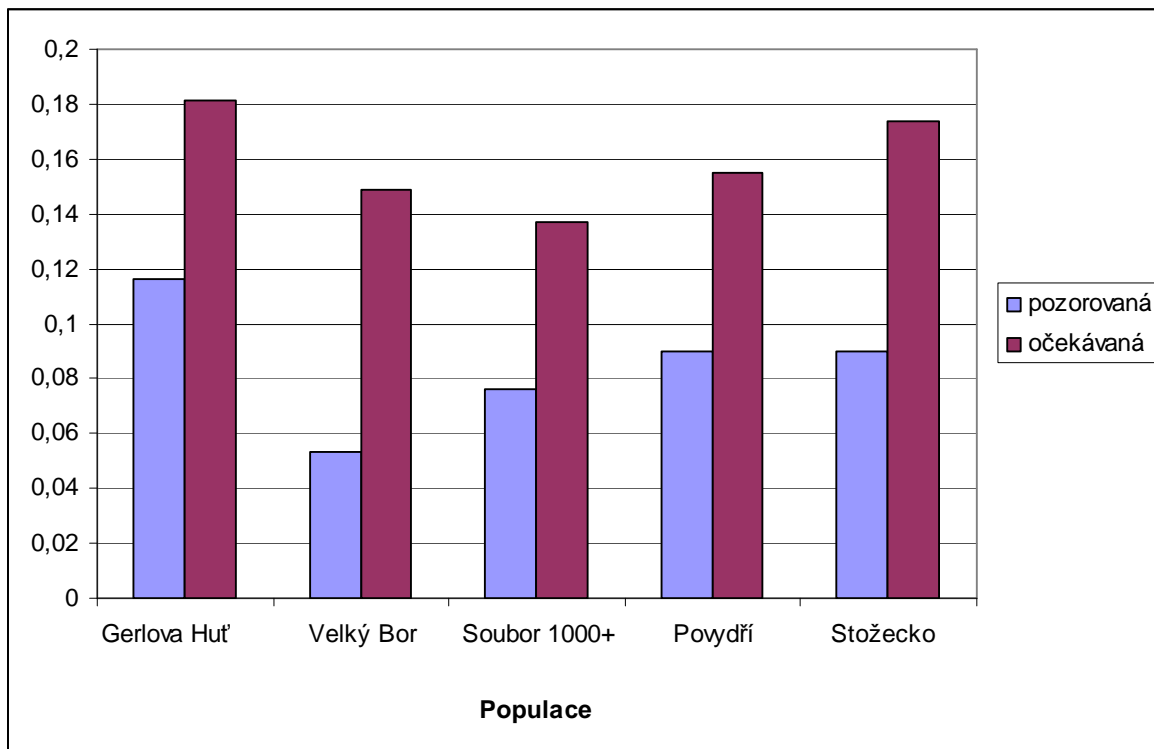
Tabulka č. 7: Přehled sumárních výsledků genetické struktury pro jednotlivé lokality (v závorce uvedena střední chyba odhadu).

Populace	Průměrný počet stromů na lokus	Průměrný počet alel na lokus	Podíl polymorfních lokusů	Heterozygotnost		Fixační index
				Pozorovaná	Očekávaná	
Gerlova Huť	43	2,1 (0,2)	62,5	0,116 (0,039)	0,181 (0,049)	0,359
Velký Bor	46	2,1 (0,3)	68,8	0,053 (0,014)	0,149 (0,043)	0,644
Soubor 1000⁺	50	1,9 (0,2)	56,3	0,076 (0,028)	0,137 (0,042)	0,445
Povydrří	46,5	2,2 (0,2)	81,3	0,090 (0,028)	0,155 (0,046)	0,419
Stožecko	46,9	2,1 (0,2)	81,3	0,090 (0,030)	0,174 (0,046)	0,483

Graf č. 1: Podíl polymorfních lokusů v jednotlivých populacích.



Graf č. 2: Pozorovaná a očekávaná heterozygotnost v jednotlivých populacích.



5.3.2 Analýza genetické struktury populací

Pro analýzu genetické struktury sledovaných populací byla použita Wrightova F -statistika (byl určován stupeň inbreedingu – F_{IS} , stupeň populační diferenciace na subpopulace – F_{ST} , odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy – F_{IT}) a Neiova G -statistika (poměr diverzity mezi populacemi k celkové diverzitě – G_{ST}). Pomocí hodnoty pro F_{ST} (SLATKIN 1985) byl počítán i genový tok ($N_e m$) (viz tabulka č. 8).

Kladná hodnota stupně inbreedingu (F_{IS}) poukazuje na to, že v populacích byl pozorován nadbytek homozygotních jedinců. Ve sledovaných populacích byl pozorován téměř 50% pokles heterozygotnosti ve srovnání s Hardy-Weinbergovým zákonem. Malé hodnoty spočítané pro stupeň diferenciace (F_{ST}) a poměr diverzity mezi populacemi k celkové diverzitě (G_{ST}) poukazují na malé genetické rozdíly mezi sledovanými populacemi. Poměr diverzity mezi populacemi k celkové diverzitě (G_{ST}) byl 6 %. To znamená, že přibližně 94 % celkové genetické diverzity je dáno vnitropopulačně a jen 6 % připadá na rozdíly mezi populacemi.

Tabulka č. 8: Průměrné hodnoty F_{IS} , F_{ST} , F_{IT} , G_{ST} a $N_e m$ pro sledované populace.

Souhrn za populace	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}	G_{ST}	$N_e m$
	0,497	0,070	0,459	0,057	3,321

5.3.3 Genetické vzdálenosti mezi populacemi

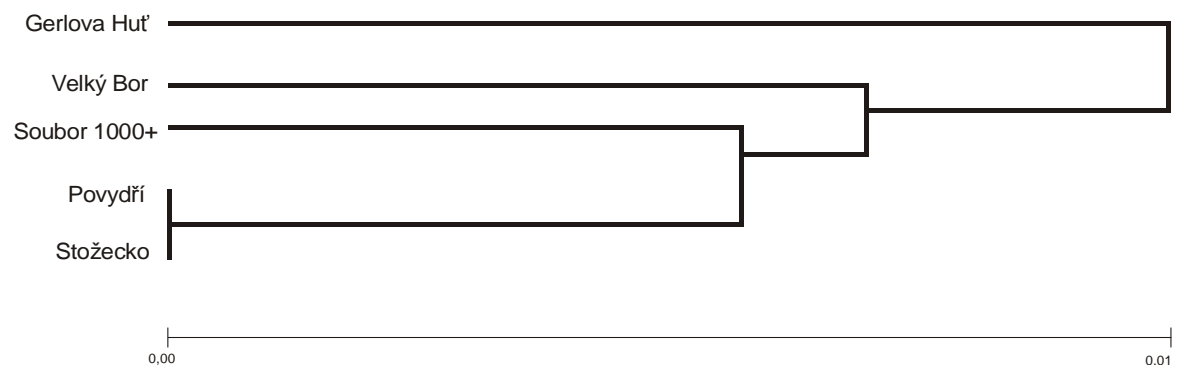
Vypočtené genetické vzdálenosti mezi populacemi (podle NEI 1972) jsou uvedeny v tabulce č. 9. Genetické vzdálenosti se pohybovaly v rozmezí 0,001 až 0,01 a rozdíl mezi populacemi není velký.

Grafické znázornění genetických vzdáleností pomocí shlukové analýzy je uvedeno na obrázku č. 2. Shluková analýza ukazuje, že nejvíce podobné si vzájemně jsou populace Povydří a Stožecko.

Tabulka č. 9: Matice genetických vzdáleností (podle NEI 1972).

Populace	1	2	3	4	5
1 Gerlova Huť	***				
2 Velký Bor	0,010	***			
3 Soubor 1000⁺	0,005	0,005	***		
4 Povydří	0,004	0,003	0,002	***	
5 Stožecko	0,006	0,006	0,006	0,001	***

Obrázek č. 2: Dendrogram Shlukové analýzy (metodou UPGMA) na základě Neiových genetických vzdáleností



6 Diskuse

6.1 Frekvence alel

V oblasti Šumavy byla prováděna analýza čtyř populací jedle bělokoré v rámci výzkumu sledujícího genetickou diverzitu populací v jejím areálu rozšíření (LONGAUER 1996). Jednalo se o populace z oblastí kolem Nýrska, Železné Rudy, Kubovy Hutí a Bílého potoka. U lokusu *Lap-A* byly sledovány 4 alely, z nichž frekvence nejvíce zastoupené alely byla přes 80 %. U populací sledovaných v předložené studii se podobná frekvence objevila u 4 populací, v jedné populaci byla frekvence o trochu nižší (74,5 %). Na lokalitě Stožecko, která byla sledovaná v předložené studii, se objevila i nejpomalejší alela tohoto lokusu, která byla ve studii prováděné Longauerem (LONGAUER 1996) pozorována pouze v oblasti Itálie. Tato alela byla pozorována i v populacích ve Švýcarsku (HUSSENDÖRFER 1999) nebo v oblasti Slezských Beskyd (Polsko) (MEJNARTOWICZ 2004). Nejčastěji byly v evropských populacích pozorovány 3 alely (BALLIAN & KAJBA 2005, KORSHIKOV a kol. 2005, LEWANDOWSKI a kol. 2001, MEJNARTOWICZ 2003, BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2003, 2009) nebo 2 alely (BREITENBACH-DORFER a kol. 1997, FADY a kol. 1999).

Pro lokus *Lap-B* bylo v předložené studii pozorováno pět alel stejně jako u populací v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, 2004). V Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005) a na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2003, 2009) byly pozorovány alely pouze čtyři. Tři alely byly pozorovány u populací z Itálie (DUCCI a kol. 1999) a na Slovensku pak alely dvě (MATUŠOVÁ 1995).

Lokus *Perox-A* se u šumavských populací v předložené studii i ve studii provedené Longauerem (LONGAUER 1996) projevil většinou monomorfně, případně byla sledována nízká frekvence u pomalejší alely. V předložené studii však byla pozorována na lokalitě Povydří jedna rychlejší alela (s malou frekvencí) než alela nejfrekventovanější. Tato alela nebyla pozorována v žádné jiné evropské populaci (LONGAUER 1996, CURTU a kol. 2009).

Pro lokus *Perox-B* byly u šumavských populací v této studii i ve studii provedené Longauerem (LONGAUER 1996) pozorovány pouze 2 alely. Nejvyšší frekvence byla pozorována u druhé, pomalejší alely. V oblasti Itálie byla u tohoto lokusu pozorována ještě jedna pomalejší alela, ovšem s velmi malou frekvencí (0,2 %) (SCALTSOYIANNES a kol. 1999) na rozdíl od populací sledovaných v Rumunsku, kde tato pomalejší alela byla sledována s frekvencí kolem 20 % (CURTU a kol. 2009).

Lokus *6Pgdh-A* se v předložené studii projevil čtyřmi alelami. V šumavských populacích sledovaných Longauerem (LONGAUER 1996) se projevíly pouze dvě alely. Čtyři alely u tohoto lokusu byly pozorovány také v Polsku (MEJNARTOWICZ 2004), kde podobně jako v šumavských populacích byla nejrychlejší alela pozorována pouze u některých populací. V šumavských populacích nebyla pozorována pouze jedna nejfrekventovanější alela, nejfrekventovanější byly druhá nebo třetí nejrychlejší alela. U jedle bělokoré v Polsku (MEJNARTOWICZ 2004) byla v některých populacích pozorována jako nejvíce zastoupená alela i alela nejpomalejší. V polských Beskydech byly pro tento lokus pozorovány tři alely (MEJNARTOWICZ 2003), podobně jako v jedné populaci v oblasti jižních Alp ve Švýcarsku (HUSSENDÖRFER 1999), v jedné populaci v Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005), ve dvou populacích na území Bosny a Hercegoviny (BALLIAN 2003) a v jiných populacích jedle v rámci Evropy (BERGMAN a kol. 1990). V populacích rostoucích v Itálii byly pozorovány jak tři alely (DUCCI 1999), tak alely dvě (SCALTSOYIANNES a kol. 1999, VICARIO a kol. 1995). V jihovýchodní Francii (FADY a kol. 1999), na Slovensku (MATUŠOVÁ 1995), v Polsku (LEWANDOWSKI 2001), na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009) a ve většině dalších evropských populací (LONGAUER 1996, 2001, KONNERT & BERGMANN 1995, BREITENBACH-DORFER a kol. 1997) byly pozorovány pouze 2 alely.

Lokus *6Pgdh-B* se u šumavských populací v předložené studii projevil jako v ostatních populacích v Čechách (LONGAUER 1996) třemi alelami. Ne ve všech populacích však byly všechny alely pozorovány najednou. Měnila se i frekvence nejvíce zastoupené alely. U některých populací to byla alela nejrychlejší (LONGAUER 1996), u jiných populací druhá nejrychlejší alela (předložená studie). Nejvíce zastoupená alela se měnila ve sledovaných populacích i jinde v rámci Evropy. Na Slovensku se u některých populací nejrychlejší alela neprojevila vůbec (MATUŠOVÁ 1995), přitom v jiných populacích byla pozorována jako nejfrekventovanější (LONGAUER 1996). Podobně tomu bylo i v Itálii, kde v některých populacích byly pozorovány tři alely (SCALTSOYIANNES a kol. 1999), v jiných alely dvě (VICARIO a kol. 1995, DUCCI a kol. 1999) a jako nejfrekventovanější byla pozorována buď druhá nejrychlejší, nebo nejrychlejší alela. Ve Švýcarsku byla pozorována jako nejfrekventovanější alela druhá nejrychlejší alela (HUSSENDÖRFER 1999), podobně jako v Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005) nebo na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009). V souhrnné studii sledující jedli v rámci celé Evropy (KONNERT & BERGMANN 1995) byla nejfrekventovanější alelou buď alela nejrychlejší, nebo nejpomalejší. BREITENBACH-

DORFER a kol. (1997) uvádí, že vysoká frekvence výskytu nejrychlejší alely je typická pro populace jedle, které pochází z Balkánského refugia. V jihovýchodní Francii byly sledovány pro tento lokus pouze 2 alely, z nichž nejfrekventovanější alelou byla alela pomalejší (FADY a kol. 1999). V Polsku byly sledovány v některých populacích tři alely, z nichž nejfrekventovanější byla druhá nejrychlejší alela (LEWANDOWSKI 2001) nebo alel pět (MEJNARTOWICZ 2003) nebo šest (MEJNARTOWICZ 2004), kdy nejfrekventovanější alelou byla druhá nebo čtvrtá nejrychlejší alela.

Pro lokus *Got-A* byly u šumavských populací v předložené studii pozorovány buď dvě alely, nebo pouze alela pomalejší. V jiných sledovaných šumavských populacích (LONGAUER 1996) byla pozorována pouze pomalejší alela. Podobně je tomu i u většiny jiných populací v Evropě (BERGMAN a kol. 1990, VICARIO a kol. 1995, BALLIAN & KAJBA 2005, HUSSENDÖRFER 1999, LEWANDOWSKI 2001, MEJNARTOWICZ 2003). V Bystřických horách v Polsku byla pozorována také třetí alela (MEJNARTOWICZ 2004). Tři alely u tohoto lokusu byly pozorovány ještě u některých populací jedle na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009), na Ukrajině (KORSHIKOV a kol. 2005), v Itálii (DUCCI a kol. 1999) a na Slovensku (LONGAUER 1996), ale u většiny slovenských populací byly pozorovány pouze alely dvě (MATÚŠOVÁ 1995, LONGAUER 1996).

V předložené studii byly pro lokus *Got-B* pozorovány tři alely u čtyř populací. U jedné populace se projevily pouze dvě alely (neprojevila se nejrychlejší alela) stejně jako v populacích sledovaných Longauerem (LONGAUER 1996). Nejfrekventovanější alelou byla druhá nejrychlejší alela. Ve většině sledovaných evropských populací jedle tomu bylo podobně (FADY a kol. 1999, MATÚŠOVÁ 1995, LONGAUER 2001, BALLIAN & KAJBA 2005, HUSSENDÖRFER 1999, BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009, DUCCI a kol. 1999). V populacích jedle rostoucích v Polsku byly sice pozorovány také tři alely pro tento lokus, ale nejfrekventovanější alelou byla alela nejrychlejší (MEJNARTOWICZ 2004). Ve studii provedené Konnertovou a Bergmanem (KONNERT & BERGMANN 1995) se kromě nejrychlejší alely projevila také alela nejpomalejší jako alela nejvíce frekventovaná. V populacích jedle na Ukrajině byla pozorována i čtvrtá alela (KORSHIKOV a kol. 2005).

U lokusu *Got-C* byly pozorovány u šumavských populací tři alely a nejvíce frekventovanou alelou byla alela druhá nejrychlejší (předložená studie, LONGAUER 1996). Stejný počet alel i stejná nejfrekventovanější alela byla pozorována i v populacích ve Francii (FADY a kol. 1999), na Slovensku (LONGAUER 2001), v Itálii (DUCCI a kol. 1999) a v Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005). Ve Švýcarsku byly pozorovány pouze dvě alely (HUSSENDÖRFER 1999). V Polsku se tento lokus projevil pěti alelami

(MEJNARTOWICZ 2004) a na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009) a na Ukrajině čtyřmi alelami (KORSHIKOV a kol. 2005). KONNERT (1993) uvádí, že zejména výskyt třetí alely u lokusu *Got-C* má u jedle bělokoré vazbu k toleranci vůči environmentálním stresům.

Lokus *Gdh-A* se u šumavských populací projevil jednou nebo dvěma alelami (předložená studie, LONGAUER 1996). Nejvíce zastoupená alela byla alela pomalejší. Podobně tomu bylo i v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, 2004) a na Slovensku (LONGAUER 2001, MATUŠOVÁ 1995). V Itálii (DUCCI a kol. 1999) a na Ukrajině (KORSHIKOV a kol. 2005) byly pozorovány alely tři.

Lokus *Pgi-A* se na Šumavě projevil monomorfně (předložená studie, LONGAUER 1996), stejně jako v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, LEWANDOWSKI 2001), v Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005). V Rumunsku a Bulharsku (LONGAUER 1996, KONNERT & BERGMANN 1995), na území Bosny a Hercegoviny (BALLIAN 2003, BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009) byly pozorovány dvě alely. V Itálii byly pozorovány v některých populacích (LONGAUER 1996, VICARIO a kol. 1995) dvě alely, v některých alely tři (DUCCI a kol. 1999).

U lokusu *Pgi-B* byly v předložené studii pozorovány dvě alely. Nejfrekventovanější alelou byla alela pomalejší. Na lokalitě Velký Bor byla pozorována pouze pomalejší alela. V jiných sledovaných šumavských populacích se tento lokus projevil také monomorfně (LONGAUER 1996) stejně jako na území Chorvatska (BALLIAN & KAJBA 2005). V populacích na území Bosny a Hercegoviny byly pozorovány buď dvě alely nebo jedna alela (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009). V Itálii je tento lokus více variabilní, u sledovaných populací se zde projevil až tři alely (KONNERT & BERGMANN 1995, LONGAUER 1996, SCALTSOYIANNES a kol. 1999, VICARIO a kol. 1995). Tři alely byly pozorovány také v Bulharsku (LONGAUER 1996) a Rumunsku (LONGAUER 1996).

Enzymový systém IDH se zdá být u rodu jedle více variabilní než je u jiných rodů jehličnatých dřevin (SCHROEDER 1989b). V šumavských populacích podobně jako v jiných studiích (SCHROEDER 1989b, VICARIO a kol. 1995, BREITENBACH-DORFER a kol. 1997, BERGMANN a kol. 1990) nebyla identifikována čtvrtá alela lokusu *Idh-A*, která byla pozorována v některých populacích jedle bělokoré v Rakousku (BREITENBACH-DORFER a kol. 1992), Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, 2004), na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009) nebo ve švýcarských Alpách (HUSSENDÖRFER 1999). V Itálii (VICARIO a kol. 1995) byly pozorovány pouze dvě alely. U lokusu *Idh-B* byla

dokonce objevena jasná klinální závislost na teplotních poměrech (nadmořské výšce a zeměpisné šířce) (BERGMANN & GREGORIUS 1993).

U lokusu *Pgm-A* byly v předložené studii pozorovány jedna nebo dvě alely a nejfrekventovanější byla alela nejrychlejší. Podobné zastoupení alel bylo pozorováno v Itálii (VICARIO a kol. 1995), Švýcarsku (HUSSENDÖRFER 1999) a v některých populacích na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2009). V Chorvatsku byla pozorována pouze jedna alela (BALLIAN & KAJBA 2005) stejně jako v některých populacích v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003). V Polsku v Beskydech byly pozorovány alely tři (LEWANDOWSKI 2001) a nejfrekventovanější alelou byla druhá nejrychlejší alela. V některých populacích na území Bosny a Hecegoviny byly pozorovány také tři alely a nejfrekventovanější alelou byla buď alela nejrychlejší, nebo druhá nejrychlejší (BALLIAN 2003, 2009).

U lokusu *Pgm-B* byly pozorovány v populacích na Šumavě dvě alely a nejvíce zastoupenou byla alela pomalejší stejně jako v Polsku (MEJNARTOWICZ 2004, LEWANDOWSKI 2001), Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005), na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008, BALLIAN 2003, 2009) i jinde v Evropě (KONNERT & BERGMANN 1995).

Alely typické pro populace jedle rostoucí v západní nebo centrální části Evropy (*Lap-A₃* a *Got-B₃*) (KONNERT & BERGMANN 1995) byly pozorovány také v populacích na Šumavě. Na Šumavě nebyla pozorována alela *Lap-A₁*, což je také uváděno jako typický znak pro oblast západní a centrální části Evropy (KONNERT & BERGMANN 1995). Podobnost šumavských populací s populacemi rostoucími v Německu naznačuje výskyt alely *6Pgdh-A1*, která byla právě v Německu pozorována (KONNERT 1995 in BALLIAN & KAJBA 2005).

6.2 Podíl polymorfních lokusů a průměrný počet alel na lokus

U sledovaných šumavských populací jedle bělokoré se podíl polymorfních lokusů pohyboval v rozmezí 56,3 % (Soubor 1000⁺) a 81,3 % (Povydíř a Stožecko). LONGAUER (1996) uvádí pro Čechy průměrný podíl polymorfních lokusů 72,2 % a pro Moravu 77,8 %. Pro Slovensko pak také 77,8 %, ale MATUŠOVÁ (1995) uvádí průměrný podíl polymorfních lokusů daleko menší, pouze 45 %. V Polsku se tento podíl pohyboval v Beskydech v rozmezí 64,29 % a 71,43 % (MEJNARTOWICZ 2003), v oblasti při hranicích s Českou republikou mezi 23% a 46 % (LEWANDOWSKI a kol. 2001) a v oblasti Karpat

průměrně 71,21 % (MEJNARTOWICZ 2004). V Karpatech na území Ukrajiny se podíl polymorfních lokusů pohyboval v rozmezí 58,3 % a 79,2 % (KORSHIKOV a kol. 2005). V oblasti jihovýchodní Francie byl pozorován podíl polymorfních lokusů v rozmezí 30 % až 70 % (FADY a kol. 1999), v Itálii 25 % až 87,5 % (SCALTSOYIANNES a kol. 1999, VICARIO a kol. 1995) a v Chorvatsku mezi 56,25 % a 62,5 % (BALLIAN & KAJBA 2005). BERGMANN a kol. (1990) uvádí v souhrnné studii pro oblast jihovýchodní Evropy průměrný podíl polymorfních lokusů na úrovni 55 %, pro východní část střední Evropy 56 %, pro západní část střední Evropy 65 % a pro jižní Evropu 75 %. Podíl polymorfních lokusů u jedle bělokoré lze porovnat i s výsledky studií sledujících jiné druhy jedlí. Velmi nízké hodnoty podílu polymorfních lokusů byly pozorovány pro *Abies sibirica* (SEMERIKOVA & SEMERIKOV 2006), a to rozmezí 13,3 % a 20 %. Také u *Abies balsamea* byly pozorovány velmi nízké hodnoty, zejména v izolovaných populacích (SHEA & FURNIER 2002). Průměrná hodnota byla stanovena na 13,6 %. Naopak, u *Abies sachalinensis* byl pozorován velmi vysoký podíl polymorfních lokusů (NAGASAKA a kol. 1997). Pohyboval se v rozmezí 75 % až 100 % (průměrně 77,8 %). U *Abies grandis* byl pozorován podíl polymorfních lokusů mezi 36 % až 63 % (KONNERT & RUETZ 1997). Podíl polymorfních lokusů pro *Abies concolor* byl v průměru pozorován 62,5 % (ZHANG a kol. 2005). Podíl polymorfních lokusů u *Abies procera* se pohyboval mezi 33,3 % a 45,83 % (YEH & HU 2005). AGUIRRE-PLANTER a kol. (2000) publikovali výsledky studie, kde byl podíl polymorfních lokusů pro *Abies flinckii* stanoven na 30,2 %, pro *Abies guatemalensis* 20 %, pro *Abies hickeli* 28,2 % a pro *Abies religiosa* 31,8 %. Pro *Abies nordmanniana* stanovil VICARIO a kol. (1995) podíl polymorfních lokusů na úrovni 58,3 %. SCALTSOYIANNES a kol. (1999), který sledoval středozemní druhy jedlí, pozoroval u *Abies ×borisii-regis* i *Abies cephalonica* vysoký podíl polymorfních lokusů (až 100 %), dále u *Abies bornmuelleriana* i *Abies equi-trojani* 87,5 %, u *Abies cilicica* 75%, u *Abies nordmanniana* 62,5 %, *Abies numidica* 50 % a nejnižší podíl u *Abies pinsapo* (v rozmezí 12,5 % až 37,5 %). Poměrně vysoký podíl u *Abies cilicica* sledoval i DUCCI a kol. (1999), a to 81,8 %, u *Abies bornmuelleriana*, *Abies nordmanniana* a *Abies nebrodensis* 54,5% a u *Abies equi-trojani* 63,6 %. FADY & CONKLE (1993) pozoroval pro *Abies bornmuelleriana* podíl polymorfních lokusů na úrovni 59,1 % a u *Abies cephalonica* 72,7 %.

Průměrný počet alel na lokus byl u šumavských populací pozorován v rozmezí 1,9 (Soubor 1000⁺) až 2,2 (Povydří). V populacích v Chorvatsku byl průměrný počet alel nižší (rozmezí 1,75 až 2,00) (BALLIAN & KAJBA 2005). Nižší byl i v Polsku v pohraniční

oblasti s Českou republikou (LEWANDOWSKI a kol. 2001, MEJNARTOWICZ 2004), v jihovýchodní Francii (FADY a kol. 1999) a na Slovensku (MATUŠOVÁ 1995). V Karpatech byl vyšší na území Polska (MEJNARTOWICZ 2004) i na území Ukrajiny (KORSHIKOV a kol. 2005). Ve Švýcarsku se pohyboval od 2,00 do 2,36 (HUSSENDÖRFER 1999). U populací jedle bělokore v Itálii to bylo 1,4 až 1,8 (VICARIO a kol. 1995, FADY a kol. 1999), ale BERGMANN a kol. (1990) pozorovali pro oblast jižní Evropy vyšší počet (2,05). Také SCALTSOYIANNES a kol. (1999) pozorovali v této oblasti vyšší průměrný počet v rozmezí 1,63 až 2,13. BERGMANN a kol. (1990) stanovili průměrný počet alel na lokus ve východní části střední Evropy 1,76, v západní části střední Evropy 1,85 a v jihovýchodní Evropě 1,65. Průměrný počet alel na lokus byl ve srovnání s populacemi jedle bělokore nižší u *Abies sibirica* (1,32) (SEMERIKOVA & SEMERIKOV 2006), *Abies balsamea* (1,21) (SHEA & FURNIER 2002), *Abies flinckii* (1,6) (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000), *Abies guatemalensis* (1,38) (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000), *Abies hickeli* (1,53) (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000), *Abies religiosa* (1,54) (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000) a *Abies nebrodensis* (VICARIO a kol. 1995). Srovnatelný průměrný počet alel na lokus byl pozorován u *Abies grandis* (1,45 až 2,09) (KONNERT & RUETZ 1997) a *Abies concolor* (2,08) (ZHANG a kol. 2005). U střeozemních jedlí (SCALTSOYIANNES a kol. 1999) byl nejmenší průměrný počet alel na lokus pozorován u *Abies pinsapo*, *Abies numidica*, *Abies cilicica* a *Abies bornmuelleriana* (u všech do 1,88). Vyšší podíl než 2,0 byl pozorován u *Abies nordmanniana*, *Abies cephalonica*, *Abies ×borisii-regis* a *Abies equi-trojani* (DUCCI a kol. 1999).

6.3 Pozorovaná a očekávaná heterozygotnost

Ve všech sledovaných šumavských populacích jedle bělokore byla očekávaná heterozygotnost větší než heterozygotnost pozorovaná. Ve všech populacích tedy bylo pozorováno méně heterozygotních jedinců. Také v Čechách byla průměrná očekávaná heterozygotnost větší než heterozygotnost pozorovaná (LONGAUER 1996). Na Moravě tomu bylo ale naopak, očekávaná heterozygotnost byla větší než pozorovaná (LONGAUER 1996). Ve většině Evropských populací je u jedle bělokore pozorovaná heterozygotnost nižší než očekávaná (LONGAUER 1996, VICARIO a kol. 1995, DUCCI a kol. 1999). Na Slovensku ve studii provedené Matúšovou (MATUŠOVÁ 1995) byla očekávaná heterozygotnost u sledovaných populací menší než pozorovaná. Podobně tomu bylo

i v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, 2004, LEWANDOWSKI a kol. 2001), na Ukrajině (KORSHIKOV a kol. 2005) a v severní části Itálie (VICARIO a kol. 1995).

Pozorovaná heterozygotnost u sledovaných šumavských populací se pohybovala v rozmezí 0,053 – 0,116. Tyto výsledky podpořily výsledky studie sledující populace jedle v oblasti Rakouska a Německa, ve které se projevoval trend snižování heterozygotnosti směrem k severu a k východu (BREITENBACH-DORFER a kol. 1997).

Nejmenší pozorovaná heterozygotnost byla v populacích *Abies balsamea*, a to 0,015 (SHEA & FURNIER 2002). Pozorovaná heterozygotnost do 0,100 byla u populací *Abies sibirica* (SEMERIKOVA & SEMERIKOV 2006), *Abies religiosa*, *Abies hickeli* a *Abies guatemalensis* (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000). Pozorovaná heterozygotnost v rozsahu 0,100 až 0,200 byla stanovena v populacích *Abies nordmanniana*, *Abies cephalonica*, *Abies ×borisii-regis*, *Abies equi-trojani* a *Abies nebrodensis* (DUCCI a kol. 1999, FADY & CONKLE 1993).

6.4 Genetická struktura populací

HAMRICK a kol. (1992) publikovali výsledky, kde byla stanovena průměrná hodnota G_{ST} pro rod *Abies* 6,3 % a pro všechny nahosemenné dřeviny 7,3 %. V šumavských populacích byla hodnota G_{ST} nižší (5,7 %), ale byla vyšší ve srovnání s publikovanými výsledky studií z Chorvatska (BALLIAN & KAJBA 2005), Ukrajiny (KORSHIKOV a kol. 2005), Polska (LEWANDOWSKI a kol. 2001) a Slovenska (MATÚŠOVÁ 1995). Vyšší hodnota G_{ST} než v šumavských populacích byla pozorována např. v Itálii (VICARIO a kol. 1995). Hodnota G_{ST} byla stanovena i u šumavských populací zástupců rodu borovice příslušející k agregátu *Pinus mugo* (EŠNEROVÁ & MÁNEK 2005). U populací agregátu *Pinus mugo* byla hodnota G_{ST} daleko nižší než u populací jedle bělokoré i přesto, že v rámci agregátu bylo hodnoceno několik taxonů (*Pinus mugo* s. str., *Pinus rotundata*, *Pinus ×pseudopumilio*).

U populací jiných druhů jedlí byly pozorovány jak nižší hodnoty G_{ST} (např. *Abies cephalonica* - FADY & CONKLE 1993, *Abies hickeli* - AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000, *Abies balsamea* - SHEA & FURNIER 2002), tak hodnoty vyšší (např. *Abies sibirica* - SEMERIKOVA & SEMERIKOV 2006, *Abies concolor* - ZHANG a kol. 2005, *Abies grandis* - KONNERT & RUETZ 1997, *Abies guatemalensis*, *Abies religiosa* a *Abies flinckii* - AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000). V šumavských populacích byl pozorován menší genový tok než v populacích v Polsku (MEJNARTOWICZ 2003, 2004).

Kladné hodnoty u indexu stupně inbreedingu (F_{IS}) v šumavských populacích poukazují na vyšší podíl homozygotních jedinců v populacích. Také v oblasti Karpat na Ukrajině byl v populacích pozorován vyšší podíl homozygotních jedinců (KORSHIKOV a kol. 2005). V Polsku v oblasti Západních i Východních Karpat byl naopak pozorován vyšší podíl heterozygotních jedinců (MEJNARTOWICZ 2003, 2004). Vyšší podíl heterozygotních jedinců v populacích jedle bělokoré byl pozorován také v Polsku u hranic s Českou republikou (MEJNARTOWICZ 2004) a na Slovensku (MATUŠOVÁ 1995).

Vyšší zastoupení homozygotních jedinců bylo pozorováno také v populacích *Abies sibirica* (SEMERIKOVA & SEMERIKOV 2006), *Abies cephalonica* (FADY & CONKLE 1993), *Abies guatemalensis*, *Abies hickeli*, *Abies religiosa* a *Abies flinckii* (AGUIRRE-PLANTER a kol. 2000) a *Abies balsamea* (SHEA & FURNIER 2002).

6.5 Genetická vzdálenost populací

LONGAUER (1996) pozoroval u evropských populací jedle bělokoré maximální genetickou vzdálenost 0,056; u šumavských populací to pak bylo 0,004 a v rámci Čech 0,005. V předložené studii byla maximální genetická vzdálenost mezi populacemi větší, ale i tak byly pozorované malé genetické vzdálenosti. Malé genetické vzdálenosti mezi populacemi pocházejícími z geograficky malých oblastí, byly pozorovány také v jiných studiích (BRAUN & GOMÉZ 1994, SAGNARD a kol. 2002) a jsou srovnatelné se vzdálenostmi pozorovanými na Ukrajině (KORSHIKOV a kol. 2005) a v Polsku (LEWANDOWSKI a kol. 2001). Při porovnání populací rostoucích na území Polska v oblasti Karpat s příhraniční oblastí s Českou republikou byly pozorovány genetické vzdálenosti mezi populacemi větší (MEJNARTOWICZ 2003, 2004), stejně jako u populací v Itálii (SCALTSOYIANNES a kol. 1999), jihovýchodní Francii (FADY a kol. 1999), v Itálii (VICARIO a kol. 1995), na území Bosny a Hercegoviny (BILELA & BALLIAN 2008) a Chorvatsku (BALLIAN & KAJBA 2005). Menší genetické vzdálenosti byly pozorovány na Slovensku (MATUŠOVÁ 1995).

Daleko větší genetické vzdálenosti mezi populacemi byly pozorovány u *Abies concolor* (ZHANG a kol. 2005), *Abies grandis* (KONNERT & RUETZ 1997), *Abies cephalonica*, *Abies ×borisii-regis* a *Abies pinsapo* (SCALTSOYIANNES a kol. 1999).

7 Závěr

Jedle bělokorá je považována ve střední Evropě za dřevinu s nízkou mezipopulační variabilitou (např. LEWANDOWSKI a kol. 2001), což bylo potvrzeno i u šumavských populací. Variabilita mezi populacemi byla přibližně 6 %.

Zdá se, že největší vliv na genetickou strukturu populací na Šumavě má nadmořská výška. Nejmenší podíl polymorfních lokusů a nejmenší průměrný počet alel na lokus byl pozorován u jedlí rostoucích nad 1 000 m n. m. Tyto výsledky tedy ukazují na to, že u jedle rostoucí na Šumavě v extrémních podmínkách mimo optimum svého výskytu dochází ke snižování genetické variability. Ne ve všech oblastech je ale nadmořská výška hlavním faktorem, který strukturu populací ovlivňuje (KORSHIKOV a kol. 2005).

U šumavských populací jedle bělokoré byl pozorován téměř 50% pokles heterozygotnosti v porovnání s Hardy-Weinbergovou rovnováhou. Odchylka od Hardy-Weinbergovy rovnováhy byla potvrzena i testováním rozložení genotypů v populacích. Na všech lokalitách byla u většiny lokusů platnost rovnováhy zamítnuta na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Podobné výsledky přineslo i testování rozložení homozygotních a heterozygotních jedinců v populacích.

U sledovaných populací byly pozorovány také malé genetické vzdálenosti. Malé genetické vzdálenosti byly pozorovány i v jiných studiích, které sledovali populace jedle v geograficky malých oblastech.

V šumavských populacích byly pozorovány alely, které jsou typické pro populace jedlí rostoucích v západní a centrální části Evropy. Podobnost sledovaných populací s populacemi západoevropskými byla podpořena také hodnotami pozorované heterozygotnosti. Tyto hodnoty byly v souladu s výsledky studie sledující populace jedle v oblasti Rakouska a Německa, ve které se projevoval trend snižování heterozygotnosti směrem k severu a k východu (BREITENBACH-DORFER a kol. 1997). Podle LIEPELT a kol. (2009) se jedle do uvedených oblastí rozšířila z italského refugia. Výsledky této studie příslušnost šumavských populací k italskému refugiu podporují.

Předložená práce přináší nové informace o genetické struktuře populací jedle bělokoré rostoucích na Šumavě. Jedle bělokorá je tak další dřevinou, která byla v oblasti Šumavy zkoumána. Pomocí horizontální elektroforézy isoenzymů byly sledovány také populace smrku ztepilého, tisu červeného, agregátu borovice kleče a byla provedena pilotní studie pro modřín opadavý (EŠNEROVÁ & MÁNEK 2009).

Velmi zajímavou otázkou je zjištěná přítomnost alely *Perox-A₁* v šumavských populacích jedle bělokoré. I když tato alela nebyla přítomna v žádné jiné evropské populaci, je nutné si před vyvozením jakéhokoliv závěru uvědomit, že tento lokus byl hodnocen jinými autory pouze u omezeného počtu populací. Unikátnost pozorované alely musí být tedy ještě ověřena studiem dalších populací a to jak v rámci Šumavy a České republiky, tak v rámci celého areálu. Jak bylo potvrzeno u smrku ztepilého v oblasti Boubínského pralesa, pouze velký počet zkoumaných populací může odhalit jedinečný výskyt některé z alel (MÁNEK 2008).

8 Literatura

ANONYMUS, 2008: Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2007. MZE, Úsek lesního hospodářství, Praha, s. 98. ISBN 978-80-7084-635-3.

ADAMS, W. T., 1981: Applying isozyme analysis in tree breeding programmes. In: Proceedings of the Symposium on Isozymes of North American Forest Trees and Forest Insects. Berkley, USDA General Technical Report PSW – 48, s. 60-64.

ADAMS, W.T., 1992: Gene dispersal within forest tree populations. *New Forests* 6: 217-240.

AGUIRRE-PLANTER, E., FURNIER, G.R., EGUIARTE, L.E, 2000: Low levels of genetic variation within and high levels of genetic differentiation among populations of species of *Abies* from southern Mexico and Guatemala. *American Journal of Botany* 87(3): 362-371.

AVENDAÑO CÓRCOLES, J. & KLUMPP, R.T., 2000: On the genetic variation of *Abies alba* Mill. monitored by isozyme markers as revealed from the provenance trail „Knödelhütte 1967“. In: Proceedings of the 9th International European Silver Fir Symposium – Autochthonous European silver fir of the Balkan at Ribarica/Bulgaria, s. 55-62.

AVISE, J.C., 2004: Molecular Markers, Natural History, and Evolution. Sinauer Associates, s. 684. ISBN 0-87893-041-8.

BAKER, A.J. (eds.), 2000: Molecular Methods in Ecology. Blackwell Science Ltd., s. 337. ISBN 0-632-03437-8.

BALLIAN, D., 2003: Procjena genetičke variabilnosti obije jele (*Abies alba* Mill.) analizom izoenzima u dijelu prirodnih populacija Bosne i Hercegovine i Hrvatske. *Šumarski list* 3-4: 135-151.

BALLIAN, D., 2009: Genetičke strukture obične jele (*Abies alba* Mill.) iz zapadne i istočne Bosne. *Šumarski list* 9-10: 501-512.

BALLIAN, D. & KAJBA, D., 2005: Estimation of the isoenzyme genetic variability of the silver fir (*Abies alba* Mill.) from the area of Gorski Kotar (Croatia). *Periodicum Biologorum* 107(1): 67-72.

BARTON, N. & BENGTTSSON, B. O., 1986: The barrier to genetic exchange between hybridising populations. *Heredity* 56: 357-376.

BERGMANN, F., 1991: Causes and consequences of species-specific genetic variation patterns in European forest tree species. In: Müller-Starck, G., Ziehe, M. (eds.): Genetic variation in European populations of forest trees, s. 192-205.

BERGMANN, F., 1996: Population genetics of natural regeneration of *Abies alba* in relation to the adult stand. *AFZ Der Wald* 51(19): 1046-1047.

- BERGMANN, F. & GAGOV, V., 2000: Genetische Diversität und Differenzierung von Tannenpopulationen der Balkanhalbinsel. In: Proceedings of the 9th International European Silver Fir Symposium – Autochthonous European silver fir of the Balkan at Ribarica/Bulgaria, s. 1-4.
- BERGMANN, F., GREGORIUS, H.-R., LARSEN, J. B., 1990: Levels of genetic variation in European silver fir (*Abies alba*). Are they related to the species' decline? *Genetica* 82: 1-10.
- BERGMANN, F. & GREGORIUS, H.-R., 1993: Ecogeographical Distribution and Thermostability of Isocitrate Dehydrogenase (IDH) Alloenzymes in European Silver Fir (*Abies alba*). *Biochemical Systematics and Ecology* 21(5): 597-605.
- BERGMANN, F. & HORVAT-MAROLT, S., 1994: Beziehungen zwischen physiologischer Anpassung und genetischer Variation der Weißtanne (*Abies alba*). In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s. 127-131.
- BERGMANN, F. & KOWNATZKI, D., 1988: The genetic variation pattern of silver fir (*Abies alba* Mill.) in Europe monitored from enzyme gene loci. In: Paule, L. & Korpel', S. (eds): Abhandl. 5. IUFRO Tannensymposium, Zvolen, s. 21-26.
- BILELA, S. & BALLIAN, D., 2008: Genetska varijabilnost obične jele (*Abies alba* Mill.) iz središnjeg diela Bosne i Hercegovine na temelju analize biokemijskih biljega. *Radovi - Šumar. inst. Jastrebar.* 43(1): 5-18.
- BOUSQUET, J., CHELIAK, W.M., LALONDE, M., 1988: Allozyme Variation Within and Among Mature Populations of Speckled Alder (*Alnus rugosa*) and Relationships with Green Alder (*A. crispa*). *American Journal of Botany* 75(11): 1678-1686.
- BRAUN, H. & GÓMEZ, L. L., 1994: Die Tanne (*Abies alba* Mill.) in Sachsen. In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s. 201-216.
- BREITENBACH, M., 1988: Genetische Charakterisierung von Tannen mit Hilfe von Isoenzymuntersuchungen. *Österr. Forstzeitung* 99(2): 35.
- BREITENBACH-DORFER, M., PINSKER, W., HACKER, R., MÜLLER, E., 1992: Clone identification and clinal allozyme variation in populations of *Abies alba* from the Eastern Alps (Austria). - *Pl. Syst. Evol.* 181: 109-120.
- BREITENBACH-DORFER, M., KONNERT, M., PINSKER, W., STARLINGER, F., GEBUREK, T., 1997: The contact zone between two migration routes of silver fir, *Abies alba* (*Pinaceae*), revealed by allozyme studies. *Pl. Syst. Evol.* 206: 259-272.
- BROWN, A.H.D., 1978: Isozymes, Plant Population Genetic Structure and Genetic Conservation. *Theor. Appl. Genet.* 52: 145-157.

BŘÍZOVÁ, E., 2004: Palynologický výzkum rašelinišť a jezer pro účely geologického mapování. In: Dvořák, L., Šustr, P. (eds.): Aktuality šumavského výzkumu II., Srní 4. – 7. října 2004. Vimperk, s. 164–171.

BURCZYK, J., DiFAZIO, S.P., ADAMS W.T., 2004: Gene flow in forest trees: How far do genes really travel? *Forest Genetics* 11(3-4): 179-192.

BURGA, C.A., 1988: Swiss vegetation history during the last 18 000 years. *New Phytol.* 110: 581–602.

BURGA, C.A. & HUSSENDÖRFER, E., 2001: Vegetation history of *Abies alba* Mill. (Silver fir) in Switzerland - pollen analytical and genetic surveys related to aspects of vegetation history of *Picea abies* (L.) H. Karsten (Norway spruce). *Vegetation History and Archaeobotany* 10: 151–159.

BUSINSKÝ, R. & WEGER, J., 1995: Genetická analýza jedinců přirozené hybridní populace borovic (*Pinus sylvestris* × *Pinus rotundata*) na rašeliništi Podkovák metodou elektroforézy izoenzymů – modelová studie. *Acta Průhoniciana* 62: 47-52.

CONCLE, M.T., 1992: Genetic diversity - seeing the forest through the tree. *New Forest* 6: 5-22.

CONKLE, M.T., HODGSKISS, P.D., NUNNALLY, L.L. & HUNTER, S.C., 1982: Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. USDA For. Serv. Tech. Rep. PSW-64.

CURTU, A. L., SOFLETEA, N., RADU, R., BACEA, A., ABRUDAN, I. V., BUTIUC-KEUL, A., FARCAS, S., 2009: Allozyme Variation of Coniferous Tree Species from Maramures Mountain, Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37(2): 245-251.

ČERNÝ, D., 2005: Historický průzkum stavu lesa se zvláštním zaměřením na výskyt jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) v revíru Stožec. In: Neuhöferová, P. (eds.) *Jedle bělokorá – 2005*, [European silver fir – 2005], sborník referátů, 31.10. – 1.11.2005, Srní, ČZU FLE v Praze, Katedra pěstování lesů a Správa Národního parku a chráněné krajinné oblasti Šumava, s. 23-42.

DORAK, M. T., 2004: Basic population genetics [online]. Dostupné z: <http://dorakmt.tripod.com/genetics/popgen.html>. [cit. 29. 4. 2004]

DUCCI, F., PROIETTY, R., FAVRE, J-M., 1999: Allozyme assessment of genetic diversity within the relic Sicilian fir *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei. *Ann. For. Sci.* 56: 345-355.

EANES, W.F., 1999: Analysis of selection on enzyme polymorphisms. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 30: 301-326.

EPD, 2009: <http://www.europeanpollendatabase.net/> .[cit. 28.5.2009]

EPPELSON, B.K., 1992: Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. *New Forest* 6: 257-278.

- ERIKSSON, G. & EKBERG, I., 2001: An introduction to forest genetics. SLU – Genetic center, Uppsala, s. 166. ISBN 91-576-6032-8.
- EŠNEROVÁ, J. & MÁNEK, J., 2005: Studium genetické diverzity přirozených populací agregátu *Pinus mugo* na území NP Šumava. In: Lukáčik, I., Škvareninová, J. (eds.): Autochtónna dendroflóra a jej uplatnenie v krajine. Sborník vedeckých a odborných prací z vedecké conference, TU Zvolen, 15. – 16.6.2005, s. 164-177.
- EŠNEROVÁ, J. & MÁNEK, J., 2009: Genetická struktura populace jehličnatých dřevin. In: Vacek, S., Krejčí, F. (eds.): Lesní ekosystémy v národním parku Šumava – 2. vydání, Lesnická práce, Kostelec nad Černými lesy, s. 512. ISBN 978-80-87154-68-7
- FADY, B. & CONCLE, M.T., 1992: Segregation and Linkage of Allozymes in Seed Tissues of the Hybrid Greek Fir *Abies borisii regis* Mattfeld. *Silvae Genetica* 41(4-5): 273-278.
- FADY, B. & CONCLE, M.T., 1993: Allozyme variation and possible phylogenetic implications in *Abies cephalonica* Loudon and some related eastern Mediterranean firs. *Silvae Genetica* 42(4): 351-359.
- FADY, B., FOREST, I., HOCHU, I., RIBIOLLET, A., DE BEAULIEU, J.L., PASTUSZKA, P., 1999: Genetic differentiation in *Abies alba* Mill. populations from southeastern France. *Forest Genetics* 6 (3): 129–138.
- FÜHRER, E., 1990: Forest decline in central Europe: Additional aspects of its cause. *Forest Ecology and Management* 37: 249-257.
- GEBUREK, T., 1997: Isozymes and DNA markers in gene conservation of forest trees. *Biodiversity and Conservation* 6: 1639-1654.
- GILLESPIE, J.H. & LANGLEY C.H., 1974: A general model to account for enzyme variation in natural populations. *Genetics* 76: 837-884.
- GILLET, E. M., 1994: GSED – Genetic Structures from Electrophoretic Data (version 2.1). Dostupné z: <http://www.uni-goettingen.de/de/95607.html>. [cit. 28.5.2009]
- GILLET, E., GÖMÖRY, D., PAULE, L., 2005: Measuring genetic variation within and among population. In: Geburek, T. & Turok, J. (eds.): Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arbona Publishers, Zvolen, s.693. ISBN 80-967088-1-3.
- GONCHARENKO, G.G, SILIN, A.E., PADUTOV, V. E., 1994: Intra- and interspecific genetic differentiation in closely related pines from Pinus subsection Sylvestres (*Pinaceae*) in former Soviet Union. *Plant Syst. Evol* 194, s. 39 – 45.
- GOUDET, J., 2001: FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Dostupné z: <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. Updated from Goudet (1995). Poslední revize 23.8.2005 [cit. 28.5.2009]
- GÓMEZ, L.L., 1994: Schädigungsgrad und genetische Strukturen der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Sachsen. In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s. 217-226.

- GÖMÖRY, D., LONGAUER, R., LIEPELT, S., BALLIAN, D., BRUS, R., KRAIGHER, H., PARPAN, V.I., PARPAN, T.V., PAULE, L., STUPAR, V.I., ZIEGENHAGEN, B., 2004: Variation patterns of mitochondrial DNA of *Abies alba* Mill. in suture zones of postglacial migration in Europe. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73(3): 203-206.
- GRILL, D., ESTERBAUER, H., BIRKNER, M., KLANSEK, E., 1982: Die Peroxidase-Isoenzymmuster von *Picea abies*, *Abies alba*, and *Larix decidua*. *Phyton* 22: 201-211.
- HAMRICK, J.L., GODT, M.J.W., SHERMAN-BROYLES, S.L., 1992: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plants. *New Forests* 6: 95-124.
- HANSEN, J.K. & LARSEN J.B., 2004: European silver fir (*Abies alba* Mill.) provenances from Calabria, southern Italy: 15-years results from Danish provenance field trails. *Eur J Forest Res* 123: 127-138.
- HARTL, D.L. & CLARK, A.G., 2007: Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc., s. 652. ISBN 978-0-87893-308-2.
- HEJNÝ, S. & SLAVÍK, B., 1997: Květena České republiky – 1. díl. Academia, Praha, s. 557. ISBN 80-200-0643-5.
- HEWITT, G.M., 1999: Post-glacial re-colonisation of European biota. *Biol J Linn Soc* 68: 87–112.
- HICKS, S., 2006: When no pollen does not mean no trees. *Veget. Hist. Archeobot.* 15: 253-261.
- HORT, L. & VRŠKA, T., 2005: Dynamika populace jedle bělokoré v šumavských pralesovitých rezervacích v průběhu posledních 30 let a nástin budoucího vývoje. In: Neuhöferová, P. (eds.) *Jedle bělokorá – 2005*, [European silver fir – 2005], sborník referátů, 31.10. – 1.11.2005, Srní, ČZU FLE v Praze, Katedra pěstování lesů a Správa Národního parku a chráněné krajinné oblasti Šumava, s. 23-42.
- HORVAT-MARLOT, S. & KRAMER, W., 1982: Die Weißtanne (*Abies alba* Mill.) in Jugoslawien. *Forstarchiv* 53: 172-180.
- HUSSENDÖRFER, E., 1994: Erste Ergebnisse genetischer Inventuren in Weisstannenbeständen (*Abies alba* Mill.) der Schweiz. In: Eder, W. (eds): *Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“*, s. 167-176.
- HUSSENDÖRFER, E., 1999: Genetic variation of Silver fir populations (*Abies alba* Mill.) in Switzerland. *Forest Genetics* 6(2): 101-113.
- HUSSENDÖRFER, E., KONNERT, M., BERGMANN, F., 1995: Inheritance and linkage of isozyme variant of silver fir (*Abies alba* Mill.). *Forest Genetics* 2(1): 29-40.
- CHELIAK, W.M. & PITEL, J.A., 1984: Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest tree species. Petawawa National Forestry Institute, Canada, s. 49.

CHELIAK, W. M., YEH, F. C. H., PITEL, J. A., 1987: Use of Electrophoresis in Tree Improvement Programs. The Forestry Chronicle, s. 89-96.

JANKOVSKÁ, V., 2004: Plešné jezero – archiv informací o holocenním a svrchněpleistocenním charakteru vegetace, krajiny a jezerního biotopu (první výsledky). In: Dvořák, L., Šustr, P. (eds.): Aktuality šumavského výzkumu II., Srní 4. – 7. října 2004. Vimperk, s. 158-163.

JANKOVSKÁ, V., 2006: Late Glacial and Holocene history of Plešné Lake and its surrounding landscape based on pollen and palaeoalgalogical analyses. Biologia, Bratislava 61(20): 371-385.

JANKOVSKÝ, L., 2005: Chřadnutí a choroby jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.). In: Neuhöferová, P. (eds.) Jedle bělokorá – 2005, [European silver fir – 2005], sborník referátů, 31.10. – 1.11.2005, Srní, ČZU FLE v Praze, Katedra pěstování lesů a Správa Národního parku a chráněné krajinné oblasti Šumava, s. 69-74.

JELÍNEK, J., 2005: Od jihočeských pralesů k hospodářským lesům Šumavy. MZE ČR, Úsek lesního hospodářství, ÚHÚL Brandýs nad Labem, s. 124. ISBN 80-7084-341-1.

KLÍMA, B., 1963: Dolní Věstonice. Výzkum tábořiště lovců mamutů v letech 1947-1952. Nakladatelství Československé Akademie Věd, Praha.

KNEBLOVÁ, V., 1954: Fytopaleontologický rozbor uhlíků z paleolitického sídliště v Dolních Věstonicích. Anthropozoikum 3: 297-299.

KONNERT, M., 1992: Genetische Untersuchungen in geschädigten Weißtannen-Beständen (*Abies alba* Mill.) Südwestdeutschlands. Dissertation Erhaltung des Doktorgrades der Forstlichen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen, s. 116 + Anexe.

KONNERT, M., 1993: Untersuchungen zum Einfluß genetischer Faktoren auf die Schädigung der Weißtanne. Forstw. Cbl. 112: 20-26.

KONNERT, M., 1994: Ergebnisse isoenzymatischer Untersuchungen bei der Weißtanne als Entscheidungshilfen für forstliche Maßnahmen. In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s. 30-42.

KONNERT, M. & BERGMANN, F., 1995: The geographical distribution of genetic variation of silver fir (*Abies alba*, *Pinaceae*) in relation to its migration history. - P1. Syst. Evol. 196: 19-30.

KONNERT, M., MAURER, W., HUSSENDÖRFER, E., 2004: Anleitung für Isoenzymuntersuchungen bei Weißtanne (*Abies alba*) – Anleitungen zur Trennmethodik und Auswertung der Zymogramme [on-line]. Dostupné z: <http://www.genres.de/fgrdeu/iso-handbuecher/tanne-arbeitsanleitung.pdf>. [cit. 10.3.2009]

KONNERT, M. & RUETZ, W.F., 1997: Genetic variation among provenances of *Abies grandis* from the Pacific Northwest. Forest Genetics 4(2): 77-84.

- KONNERT, M. & RUETZ, W., 2002: Untersuchungen zur genetischen Variation von Prüfgliedern im Süddeutschen Weißtannen-Provenienzversuch. In: Maurer, W. (eds.): Ökologie und Waldbau der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) – Tagungsbericht zum 10. Internationalen IUFRO-Tannensymposium, s.8-16.
- KORMUŤÁK, A., 1982: Biochemical variation of the sub-arctic ecotype of the silver fir (*Abies alba* Mill.). *Folia dendrologica* 9: 5-14.
- KORMUŤÁK, A., BENČAŤ, F., RUDIN, D., SEYEDYAZDANI, R., 1982: Isoenzyme variation in the four Slovakian populations of *Abies alba* Mill. *Biológia (Bratislava)* 37: 433-440.
- KORSHIKOV, I.I., PIRKO, N.N., AND PIRKO, Y.V., 2005: Genetic Variation and Differentiation of *Abies alba* Mill. Populations from Ukrainian Carpathians. *Russ. J. Genet.* 41(3): 275–283.
- KRAL, F., 1980: Waldgeschichtliche Grundlagen für die Ausscheidung von Ökotypen bei *Abies alba*. *Proceedings 3. IUFRO Tannensymposium Wien*, s. 158-168.
- KREMER, A., 1994: Diversité génétique et variabilité des caractères phénotypiques chez les arbres forestiers. *Genet. Sel. Evol* 26(1): 105-123.
- KRAMER, W., 1984: Die Weißtanne, *Abies alba* Mill., in Kalabrien. *Beobachtungen und Eindrücke*. *Forstarchiv* 55: 150-155.
- LANG, G., 1992: Some aspects of European late- and post-glacial flora history. *Acta Bot. Fennica* 144: 1-17.
- LARSEN, J.B., 1986: Das Tannensterben: Eine neue Hypothese zur Klärung des Hintergrundes dieser rätselhaften Komplexkrankheit der Weißtanne (*Abies alba* Mill.). *Forstwiss. Centralbl.* 105: 381-396.
- LARSEN, J.B., MEKIĆ, F., 1991: The geographic Variation in European Silver Fir (*Abies alba* Mill.). *Silva Genetica* 40 (5/6): 188-198.
- LEWANDOWSKI, A., BORATYŃSKI, A., MEJNARTOWICZ, L., 2000: Allozyme investigations on the genetic differentiation between closely related pines - *Pinus sylvestris*, *P. mugo*, *P. uncinata*, and *P. uliginosa* (*Pinaceae*). *Plant Systematic and Evolution* 221(1-2): 15-24.
- LEWANDOWSKI, A., FILIPIAK, M., BURCZYK, J., 2001: Genetic variation of *Abies alba* Mill. in Polish part of Sudety Mts. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 70(3): 215-219.
- LIEPELT, S., CHEDDADI, R., DE BEAULIEU, J.-L., FADY, B., GÖMÖRY D., HUSSENDÖRFER, E., KONNERT, M., LITT, T., LONGAUER, R., TERHÜRNE-BERSON, ZIEGENHAGEN, B., 2009: Postglacial range expansion and its genetic imprints in *Abies alba* (Mill.) –A synthesis from palaeobotanic and genetic data. *Review of Palaeobotany and Palynology* 153: 139-149.
- LIEPELT, S., BIALOZYT, R., ZIEGENHAGEN, B., 2002: Wind-dispersed pollen mediates postglacial gene flow among refugia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 14590-14594.

- LIU, T.-S., 1971: A monograph of the genus *Abies*. Taipei, Taiwan.
- LONGAUER, R., 1994: Genetic Differentiation and Diversity of European Silver Fir in Eastern Part of Its Natural Range. In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s.155-163.
- LONGAUER, R., 1996: Genetic Diversity of European Silver Fir (*Abies alba* Mill.). [Genetická diverzita jedle bielej (*Abies alba* Mill.)] Kandidátska dizertačná práca, Katedra pestovania lesov fakulty TU vo Zvolene, s.154.
- LONGAUER, R., 2001: Genetic variation of European silver fir (*Abies alba* Mill.) in the Western Carpathians. *Journal of Forest Science* 47(10): 429-438.
- LONGAUER, R., GÖMÖRY, D., PAULE, L., KARNOSKY, D.F., MAŇKOVSKÁ, B., MÜLLER-STARCK, G., PERCY, K., SZARO, R., 2001: Selection effect of air pollution on gene pools of Norway spruce, European silver fir and European beech. *Environmental Pollution* 115: 405-411.
- LONGAUER, R., GÖMÖRY, D., PAULE, L., BLADA, POPESCU, F., MANKOVSKA, B., MÜLLER-STARCK, G., SCHUBERT, R., PERCY, K., SZARO, R.C., KARNOSKY D.F., 2004: Genetics effects of air pollution on forest tree species of the Carpathian Mountains. *Environmental Pollution* 130: 85-92.
- LUNDKVIST, K., 1978: Isoenzyme Allozymes in population genetic studies of Norway spruce (*Picea abies* K.). PhD thesis, Umea, s. 42.
- MANOS, P.S. & FAIRBROTHERS, D.E., 1987: Allozyme Variation in Populations of Six Northeastern American Red Oaks (*Fagaceae: Quercus* Subg. *Erythrobalanus*). *Systemic Botany* 12(3): 365-373.
- MATÚŠOVÁ, R., 1995: Genetic variation in five populations of Silver Fir (*Abies alba* Mill.) in Slovakia. *Biológia (Bratislava)* 50: 53-59.
- MÁNEK, J., 2001: Genetická diverzita smrku ztepilého ve zvláště chráněných územích ČR a identifikace ohrožených populací jako podklad pro záchranná opatření. Závěrečná grantová zpráva projektu VaV/610/1/99. Depon. in MŽP ČR Praha, s. 86.
- MÁNEK, J., 2008: Boubínské smrky uchovávají geny původních šumavských populace. *Šumava – Boubín/08*, s. 20-21.
- MÁNEK, J. & EŠNEROVÁ, J., 2004: Isozyme differentiation of *Pinus mugo* Turra and *Pinus × pseudopumilio* (Willk.) Beck in the Giant Mountains and in the Bohemian Forest, Czech Republic. *Forest Genetics* 11: 295-302.
- MEJNARTOWICZ, L., 1979: Polymorphism at the LAP and GOT loci in *Abies alba* Mill. populations. *Bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences. Série des Sciences Biologiques*. C1. V., 27(12): 1063–1070.

- MEJNARTOWICZ, L., 2000: Polish Sudeten and Carpathian Mountains Silver-Fir (*Abies alba*) Population Genetic Investigations. In: Proceedings of the 9th International European Silver Fir Symposium – Autochthonous European silver fir of the Balkan at Ribarica/Bulgaria, s. 49-54.
- MEJNARTOWICZ, L., 2002: Genetic analysis of silver fir populations in the Beskids. In: Maurer, W. (eds.): Ökologie und Waldbau der Weißtanne (*Abies alba* Mill.) – Tagungsbericht zum 10. Internationalen IUFRO-Tanensymposium, s. 17-24.
- MEJNARTOWICZ, L., 2003: Genetic analysis of silver fir populations in the Beskids. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 72(2): 115-119.
- MEJNARTOWICZ, L., 2004: Genetic analysis of silver fir populations in the north Carpathian and Sudeten mountains. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 73(4): 285-292.
- MEJNARTOWICZ, L. & BERGMANN, F., 2003: Mode of inheritance of Asparat Aminotransferase in Silver-Fir (*Abies alba* Mill.). Silvae Genetica 52(1): 15-17.
- MEJNARTOWICZ, L.E., LEWANDOWSKI, A., BERGMANN, F., 1994: Genetic structure and variation of the european silver-fir populations at man-made range disjunction. In: Eder, W. (eds): Ergebnisse des 7.IUFRO-Tannensymposiums der WP S. 1.01-08 „Ökologie und Waldbau der Weißtanne“, s.118-131.
- MILLAR, C.I. & WESTFALL, R.D., 1992: Allozyme markers in forest genetic conservation. New Forests 6: 347-371.
- MÍCHAL, I., 1983: Dynamika přírodního lesa V. Živa 5: 163-168.
- MULLER, S.D, NAKAGAWA, T., DE BEAULIEU, J.L., COURT-PICON, M., CARCAILLET, C., MIRAMONT, C., BOUTTERIN, C., ALI, A.A., BRUNETON, H., 2007: Post-glacial migration of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the south-western Alps. Journal of Biogeography 34: 876-899.
- MUONA, O., YAZDANI, R. & LUNDQUIST, G., 1987: Analysis of linkage in *Picea abies*. Hereditas 106: 31-36.
- MUSIL, I. & HAMERNÍK, J, 2007: Jehličnaté dřeviny. Přehled nahosemenných i výtrusných dřevin – Lesnická dendrologie 1. Academia, Praha, s. 352.
- NAGASAKA, K., WANG, Z.M., TANAKA, K., 1997: Genetic variation among natural *Abies sachalinensis* populations in relation to environmental gradients in Hokkaido, Japan. Forest Genetics 4(1): 43-50.
- NAYDENOV, K., SENNEVILLE, S., BEAULIEU, J., TREMBLAY, F., BOUSQUET, J., 2007: Glacial vicariance in Eurasia: mitochondrial DNA evidence from Scots pine for a complex heritage involving genetically distinct refugia at mid-northern latitudes and in Asia Minor. BMC Evolutionary Biology 7: 233-244.
- NEI, M., 1972: Genetic distance between populations. The American Naturalist 106(949): 283-292.

- OPRAVIL, E., 1976: Jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.) v československém kvartéru. Časopis slezského muzea 25: 45-67.
- PARDUCCI, L., SZMIDT, A.E., VILLANI, F., WANG, X-R, CHERUBINI, M., 1996: Genetic Variation of *Abies alba* in Italy. Hereditas 125: 11–18.
- PAULE, L., 1985: Využitie izoenzymových analýz pri výskume genetickej štruktúry populácií smreka. VÚ: VI – 6 – 2 / 02.e, Zvolen, s. 53.
- PAULE, L., 1992: Genetika a šľachtenie lesných drevín. Príroda a.s., Bratislava, s. 304, ISBN 80-07-00409-2.
- PROCHÁZKA, F. & ŠTECH, M. (eds.), 2002: Komentovaný černý a červený seznam cévnatých rostlin české Šumavy. Správa NP a CHKO Šumava & Eko-Agency KOPR, Vimperk, s. 140.
- RUDIN, D., 1976: Application of isozymes in tree breeding. In IUFRO Meeting on Advanced Generation Breeding, Bordeaux, s. 145-164.
- RYBNÍČEK, K. & RYBNÍČKOVÁ, E., 1992: Past human activity as florogenetic factor in Czechoslovakia. Acta Bot. Fennica 144: 59-62.
- SAMEK, V., 1967: O šíření jedle bílé (*Abies alba* Mill.) v době poledové na území střední Evropy. Lesnický časopis 13(40): 659-666.
- SANGARD, F., BARBEROT, C., FADY, B., 2002: Structure of Genetic diversity in *Abies alba* Mill. from southwestern Alps: multivariate analysis of adaptive and non-adaptive traits for conservation in France. Forest Ecology and Management 157: 175-189.
- SCALTSOYIANNES, A., TSAKTSIRA, M., DROUZAS, A.D., 1999: Allozyme differentiation in the Mediterranean firs (*Abies*, *Pinaceae*). A first comparative study with phylogenetic implications. Plant Syst. Evol. 216(3-4): 289-307.
- SCOTTI, I., VENDRAMIN, G.G., MATTEOTTI, L.S., SCARPONI, C., SARI-GORLA, M., BINELLI, G., 2000: Postglacial recolonization routes for *Picea abies* K. in Italy as suggested by the analysis of sequence-characterized amplified region (SCAR) markers. Molecular Ecology 9(6):699-708.
- SEMERIKOV, V.L., SEMERIKOV, L.F., LASCoux, M., 1999: Intra- and interspecific allozyme variability in Eurasian *Larix* Mill. species. Heredity 82:193-204.
- SEMERIKOVA, S.A. & SEMERIKOV, V.L., 2006: Genetic Variation and Population Differentiation in Siberian Fir *Abies sibirica* Ledeb. Inferred from Allozyme Markers. Russian Journal of Genetics 42(6):636-644.
- SHEA, K.L. & FURNIER, G.R., 2002: Genetic variation and population structure in central and isolated populations of balsam fir, *Abies balsamea* (*Pinaceae*). American Journal of Botany 89(5): 783-791.

- SCHEIFELE, M., 1970: Die Tanne von Aude. Allg. Forstzeitung 49: 1039-1041.
- SCHROEDER, S., 1989a: Die Weißtanne in Süddeutschland: Genetische Variation, Kline, Korrelationen. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung 160(5): 100-104.
- SCHROEDER, S., 1989b: Isoenzyme polymorphisms of silver fir (*Abies alba* Mill.). *Silvae Genetica* 38(3-4): 130-133.
- SCHROEDER, S., 1989c: Outcrossing rates and seed characteristics in damaged and natural populations of *Abies alba* Mill. *Silvae Genetica* 38(5-6): 185-189.
- SKALICKÝ, V. & KIRSCHNEROVÁ, L., 1993: Rozbor květeny západní části Šumavských plání a kontaktních území. Sborník Západočeského Muzea Plzeň, Přír. 86: 1-83.
- SLATKIN M., 1985: Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- SNEATH, P. H. A. & SOKAL, R. R., 1973: *Numerical Taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman & San Francisco, CA, s. 573. ISBN 0-7167-0697-0.
- SOUKUPOVÁ, L., SVOBODOVÁ, H., JENÍK, J., 2001: Z ekologie a paleoekologie šumavských rašelinišť. In: Mánek, J. (eds.): *Aktuality šumavského výzkumu, Srní 2. – 4. dubna 2001*, Vimperk, s. 15-21.
- SVOBODOVÁ, H., REILLE, M., GOEURY, G., 2001: Past vegetation dynamics of Vltavský luh, upper Vltava river valley in the Šumava mountains, Czech Republic. *Vegetation History and Archaeobotany* 10(4): 185-199.
- SVOBODOVÁ, H., SOUKUPOVÁ, L., REILLE, M., 2002: Diversified development of mountain mires, Bohemian Forest, Central Europe, in the last 13 000 years. *Quaternary International* 91: 123-135.
- SWOFFORD, D. L. & SELANDER R. B., 1981: BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *The Journal of Heredity* 72: 281-283.
- SWOFFORD, D. L. & SELANDER R. B., 1989: BIOSYS-1. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics. *Illinois Natural History Survey*, s. 43.
- SZMIDT, A.E. & WANG X.-R., 1993: Molecular systematics and genetic differentiation of *Pinus sylvestris* (L.) and *P. densiflora* (Sieb. et Zucc.). *Theoretical and Applied Genetics* 86(2-3): 159-165.
- ŠAMONIL, P. & VRŠKA, T., 2007: Trends and Cyclical Changes in Natural Fir-Beech Forests at the North-western Edge of the Carpathians. *Folia Geobotanica* 42: 337-361.

TERHÜRNE-BERSON, R., LITT, T., CHEDDADI, R., 2004: The spread of *Abies* throughout Europe since the last glacial period: combined macrofossil and pollen data. *Veget. Hist. Archaeobot.* 13: 257-268.

TOUMI, L. & LUMARET, R., 2001: Allozyme characterisation of four Mediterranean evergreen oak species. *Biochemical Systematic and Ecology* 29(8): 799-817.

ÚRADNÍČEK, L. & MADĚRA, P., 2005: Jedle – královna evropských lesů. In: Neuhöferová, P. (eds.) *Jedle bělokorá – 2005*, [European silver fir – 2005], sborník referátů, 31.10. – 1.11.2005, Srní, ČZU FLE v Praze, Katedra pěstování lesů a Správa Národního parku a chráněné krajinné oblasti Šumava, s. 69-74.

ÚRADNÍČEK, L., MADĚRA, P., KOLIBÁČOVÁ, S., KOBLÍŽEK, J., ŠEFL, J., 2001: Dřeviny České republiky. Matice Lesnická s. r. o., Písek, s. 333. ISBN 80-86271-09-9.

VENDRAMIN, G.G., DEGEN, B., PETIT, R.J., ANZIDEI, M., MADAGHIELE, A., ZIEGENHAGEN, B., 1999: High level of variation at *Abies alba* chloroplast microsatellite loci in Europe. *Mol. Ecol.* 8: 1117-1126.

VICARIO, F., VENDRAMIN, G.G., ROSSI, P., LIÒ, P., GIANNINI, R., 1995: Allozyme, chloroplast DNA and RAPD markers for determining genetic relationships between *Abies alba* and the relic population of *Abies nebrodensis*. *Theor. Appl. Genet.* 90: 1012-1018.

WANG, X-R. & SZMIDT, A. E., 2001: Molecular Markers in Population Genetics of Forest Trees. *Scand. J. For. Res.* 16: 199-220.

WICK, L. & MÖHL, A., 2006: The mid-Holocene extinction of silver fir (*Abies alba*) in the Southern Alps: a consequence of forest fires? *Palaeobotanical records and forest simulations. Veget Hist Archaeobot* 15: 435-444.

YEH, F.C. & HU, X.-S., 2005: Genetic structure and migration from mainland to island populations in *Abies procera* Rehd. *Genome* 48: 461-473.

ZATLOUKAL, V., ČERNÝ, M., PAŘEZ, J., 2005: Jedle bělokorá v Národním parku Šumava v datech inventarizace lesů. Neuhöferová, P. (ed.): *Jedle bělokorá – 2005*, [European silver fir - 2005], sborník referátů, 31.10. – 1.11.2005, Srní, ČZU FLE v Praze, Katedra pěstování lesů a Správa Národního parku Šumava a chráněné krajinné oblasti Šumava, s. 91 – 98.

ZHANG, J., HUI, L., DONG, J., WANG, J., 2005: Genetic Variation among 11 *Abies concolor* Populations Based on Allozyme Analysis. *Forestry studies in China* 7(1): 29-35.

9 Přílohy

Seznam příloh:

Příloha 1 - Mapa A: Areál rozšíření jedle bělokoré (*A. alba*) a dalších středozezemních druhů rodu *Abies*

- **Mapa B:** Příslušnost populací jedle bělokoré k jednotlivým refugiím

Příloha 2 – Seznam použitých zkratk enzymových systémů

Příloha 3 – Mapa NP Šumava s vyznačenými sledovanými lokalitami

Příloha 4 – Grafické znázornění zastoupení jednotlivých alel v lokusech a populacích

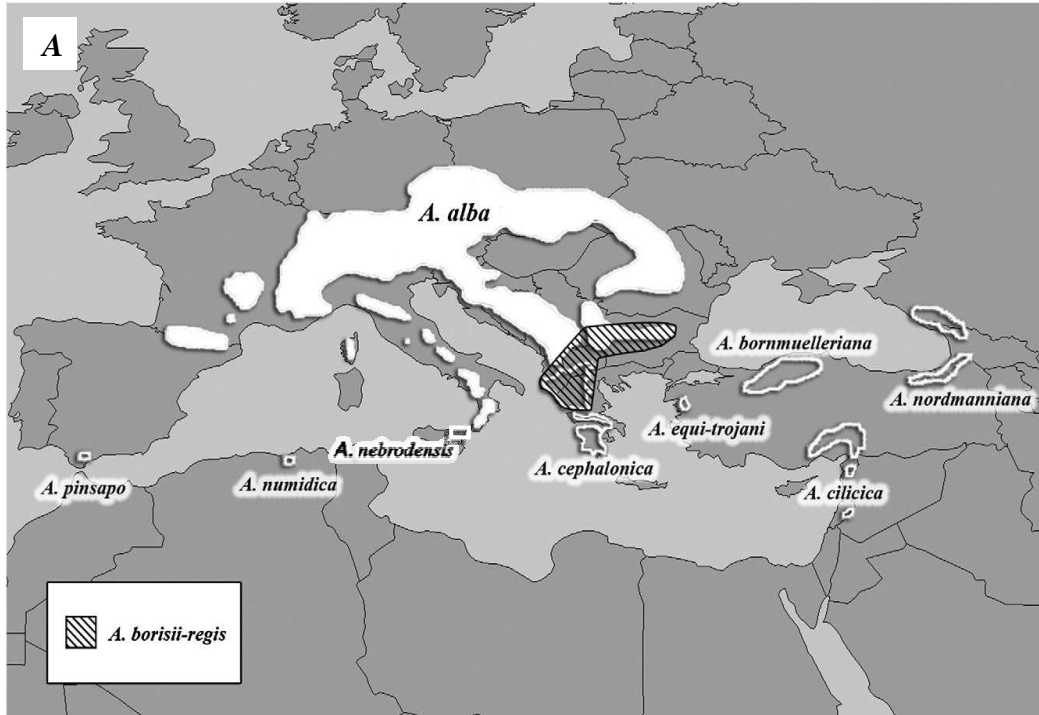
Příloha 5 – Grafické znázornění frekvencí alel v jednotlivých populacích

Příloha 6 – Testování rozložení genotypů v populaci

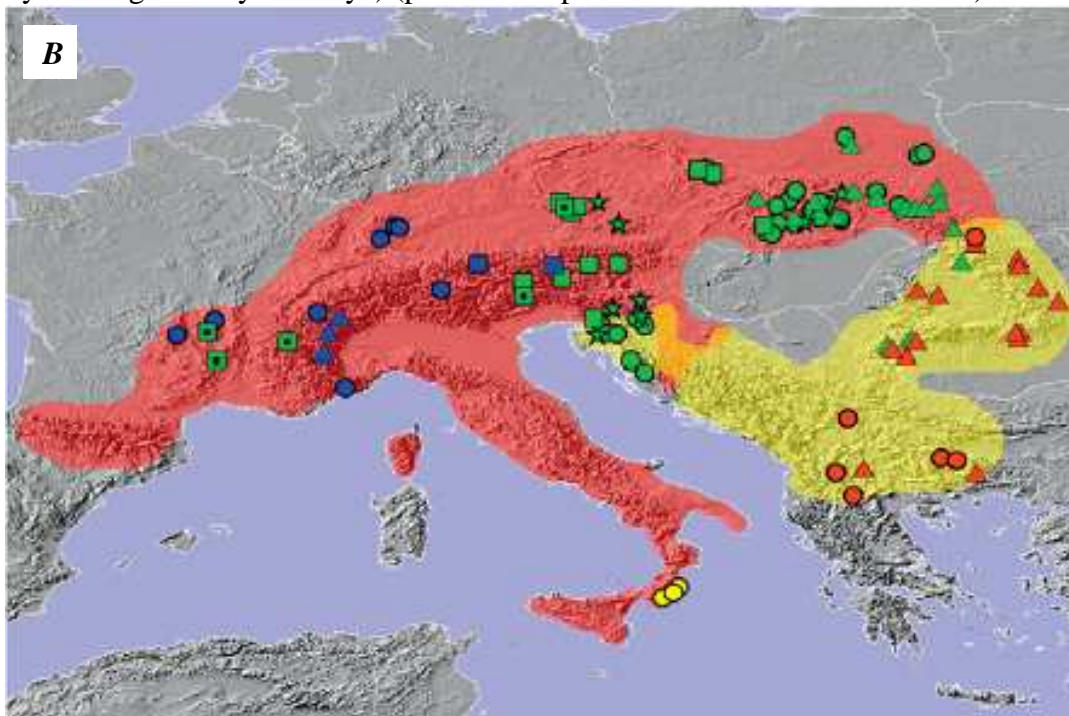
Příloha 7 – Testování rozložení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci

Příloha 1

Mapa A: Areál rozšíření jedle bělokoré (*A. alba*) a dalších středoziemních druhů rodu *Abies*: *A. cephalonica*, *A. nebrodensis*, *A. borisii-regis*, *A. nordmanniana*, *A. bornmuelleriana*, *A. equi-trojani*, *A. pinsapo*, *A. numidica*, *A. cilicica* (převzato a upraveno dle LIEPELT a kol. 2009)



Mapa B: Příslušnost populací jedle bělokoré k jednotlivým refugiím (vytvořené na základě výsledků genetických analýz) (převzato a upraveno dle LIEPELT a kol. 2009)



Vysvětlivky: červená oblast – populace patří k italskému refugiu, žlutá oblast – populace patří k balkánskému refugiu, oranžová oblast – přechodová zóna

Příloha 2

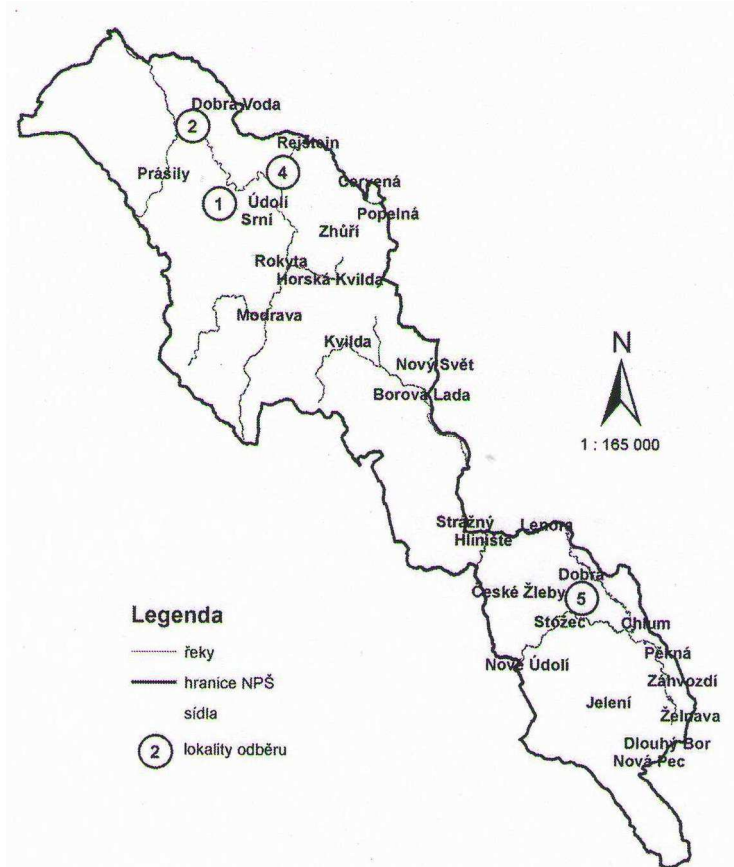
Seznam použitých zkratk enzymových systémů včetně uvedení kódu Enzymové komise (E. C. kód)

Zkratka	Enzymový systém	E. C. kód
<i>Aap</i>	Alanin aminopeptidáza	3.4.11.1
<i>Acp</i>	Acid fosfatáza	3.1.3.2
<i>Aco</i>	Akonitáza	1.1.1.1
<i>Adh</i>	Alkohol dehydrogenáza	1.1.1.1
<i>Cat</i>	Kataláza	1.11.1.6
<i>Dia (Men)</i>	Diaforáza	1.6.4.3 (nyní 1.8.1.4)
<i>Est</i>	Esteráza	3.1.1.2
<i>Fest (Fle)</i>	Fluorescenční esteráza	3.1.1.1
<i>Gdh</i>	Glutamát dehydrogenáza	1.4.1.2
<i>Got (Aat)</i>	Glutamát-oxalacetát transamináza	2.6.1.1
<i>Gr</i>	Glutathion reduktáza	1.6.4.2 (nyní 1.8.1.7)
<i>G6Pd</i>	Glukózo-6-fosfát dehydrogenáza	1.1.1.49
<i>Idh</i>	Isocitrát dehydrogenáza	1.1.1.42
<i>Lap (Ap)</i>	Leucin aminopeptidáza	3.4.11.1
<i>Mdh</i>	Malát dehydrogenáza	1.1.1.37
<i>Mnr</i>	Menadion reduktáza	1.6.99.2 (nyní 1.6.5.2)
<i>Ndh (Nadh)</i>	NADH-dehydrogenáza	1.6.99.3
<i>Pep</i>	Peptidáza	3.4.1.1 (nyní 3.4.11.1)
<i>Per (Px)</i>	Peroxidáza	1.11.1.7
<i>Pgi</i>	Fosfoglukózoisomeráza	5.3.1.9
<i>Pgm</i>	Fosfoglukomutáza	2.7.5.1
<i>6Pgd (6Pgdh)</i>	6-Fosfoglukonát dehydrogenáza	1.1.1.44
<i>Sod</i>	Superoxid dismutáza	1.15.1.1
<i>Skd (Shdh, Skdh)</i>	Šikimát dehydrogenáza	1.1.1.25
<i>Ugpp</i>	UDP-glukózopyrofosforyláza	2.7.7.9

Příloha 3

Mapa NP Šumava s vyznačenými sledovanými lokalitami

(číselný kód lokalit je uveden v tabulce č. 1 v kapitole 4.1.)

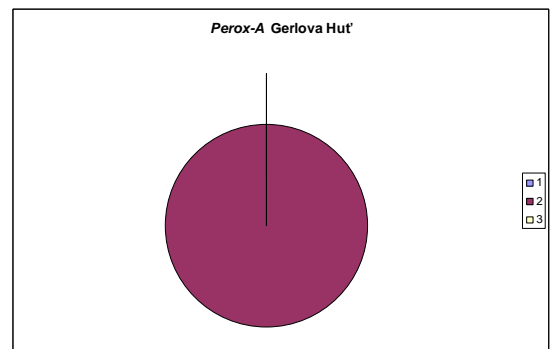
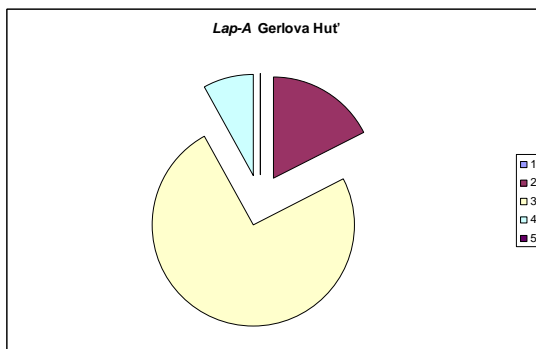
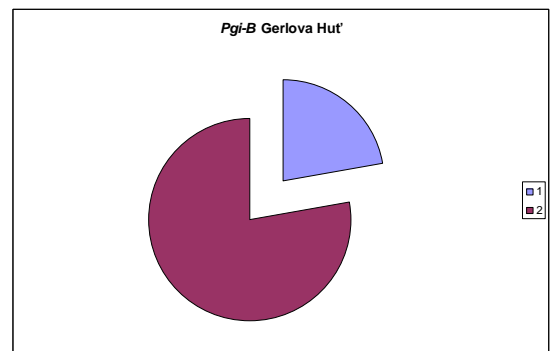
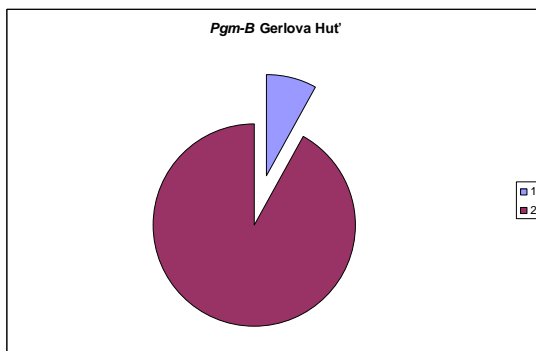
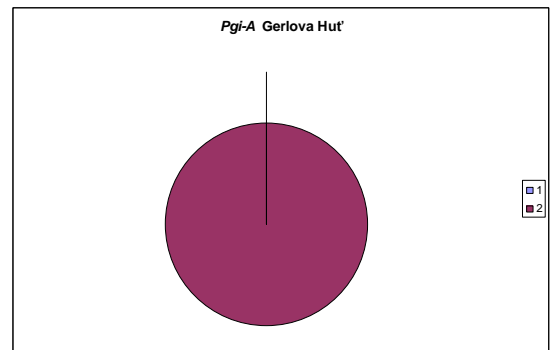
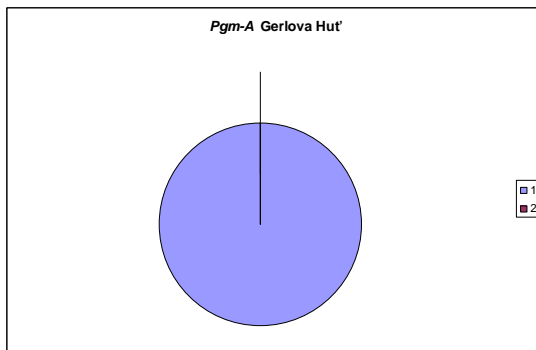
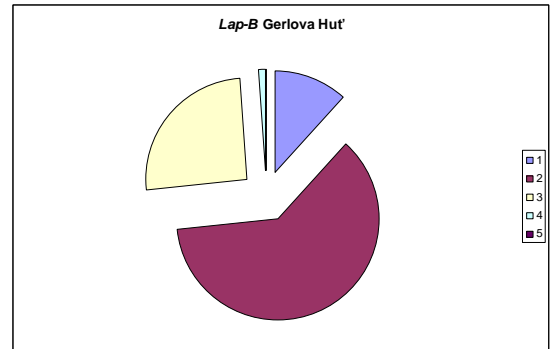
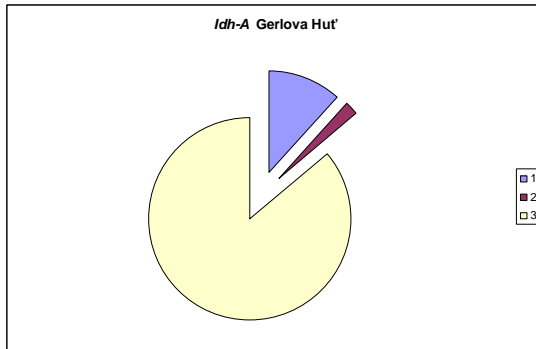


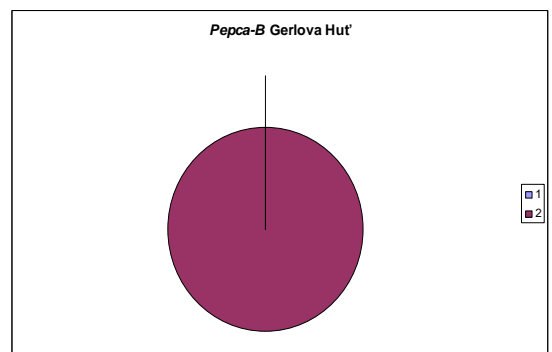
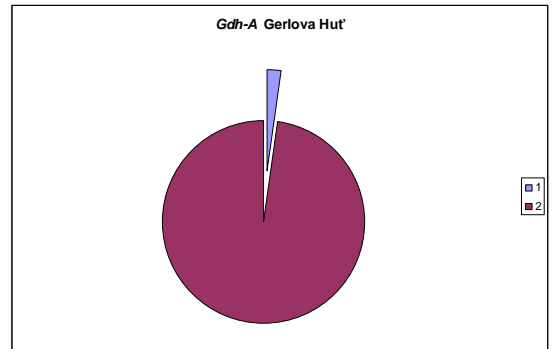
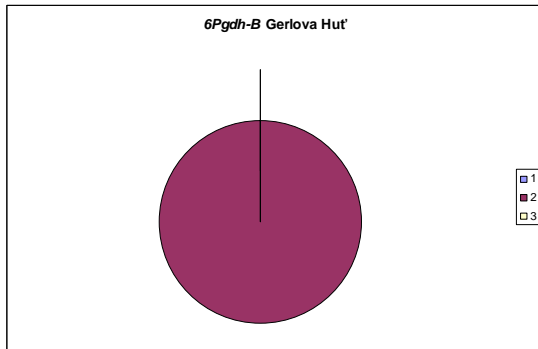
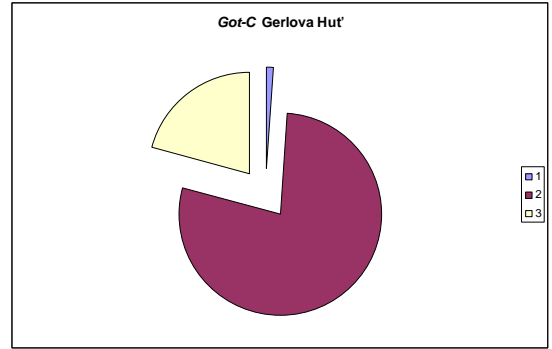
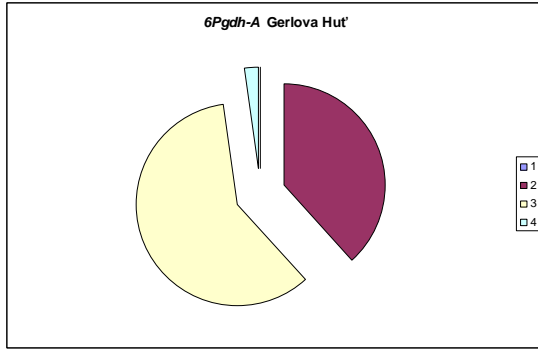
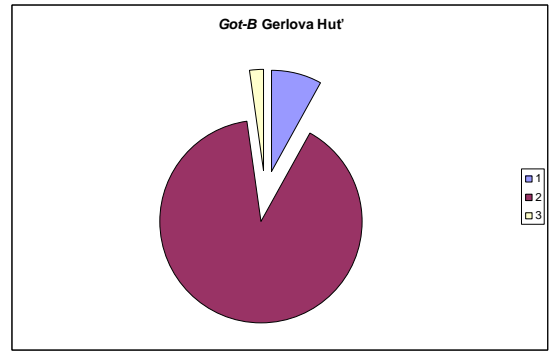
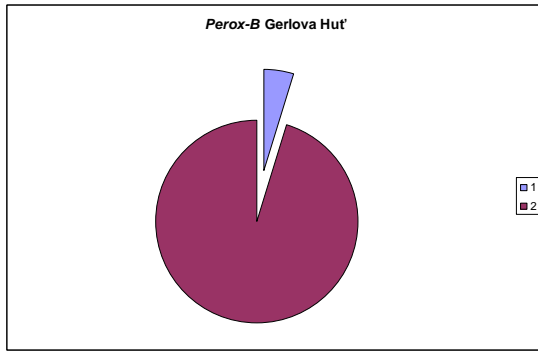
Pozn.: Populace č. 3 není v mapce vyznačena z toho důvodu, že se jedná o soubornou populaci zahrnující jedince rostoucí v nadmořské výšce nad 1 000 m n. m. napříč celým územím NP Šumava – populace Soubor 1000⁺.

Příloha 4

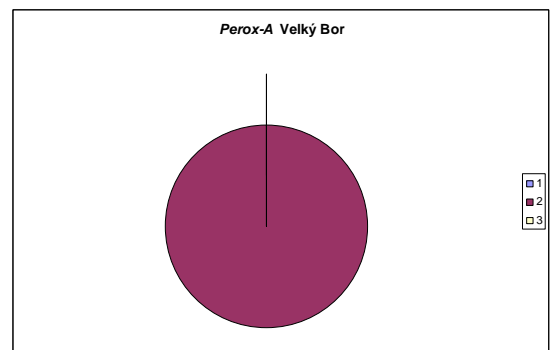
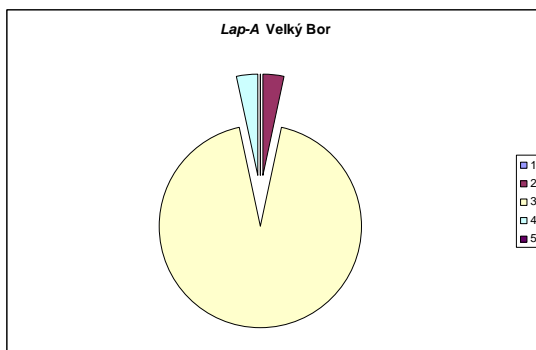
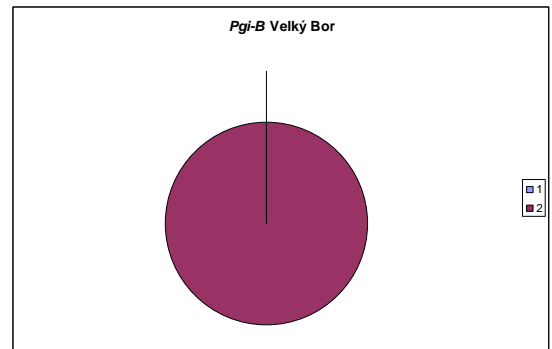
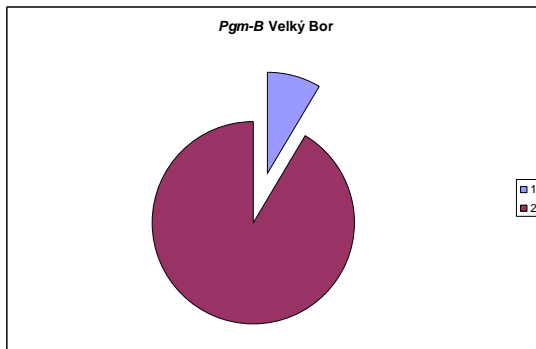
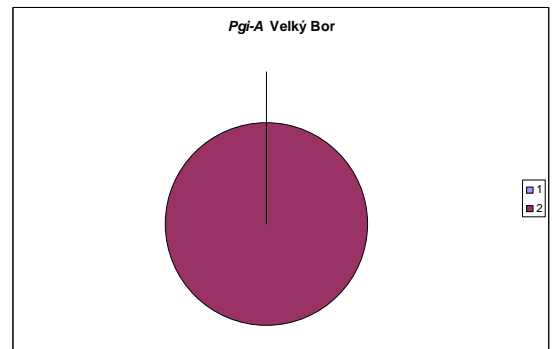
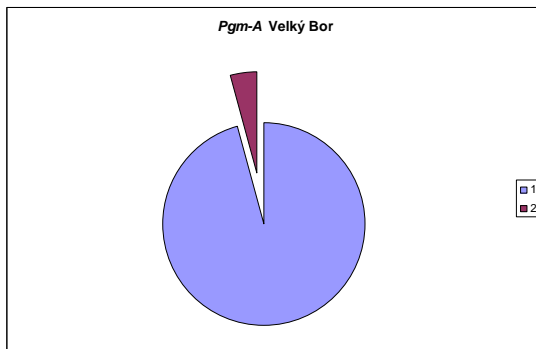
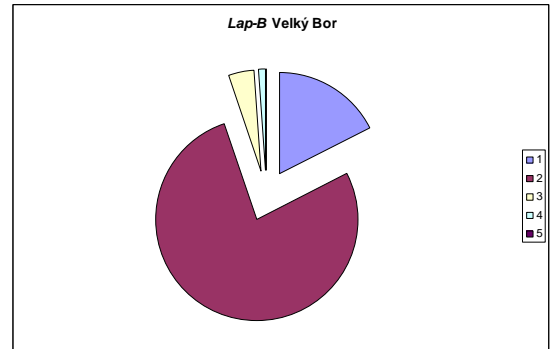
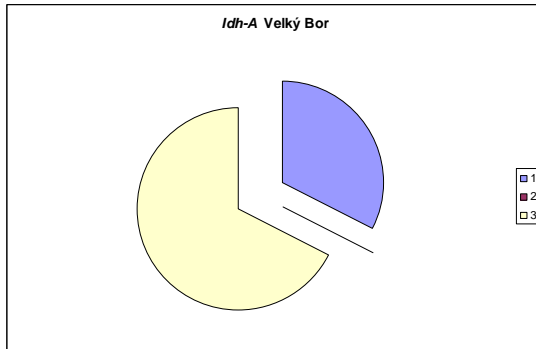
Grafické znázornění zastoupení jednotlivých alel v lokusech a populacích

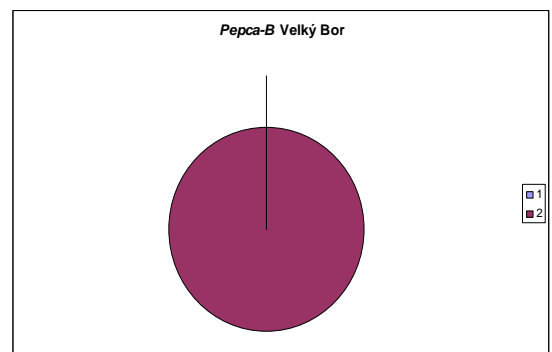
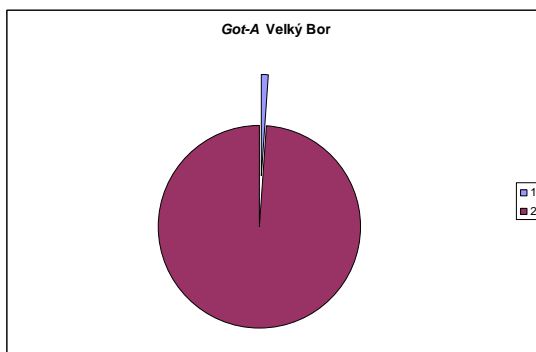
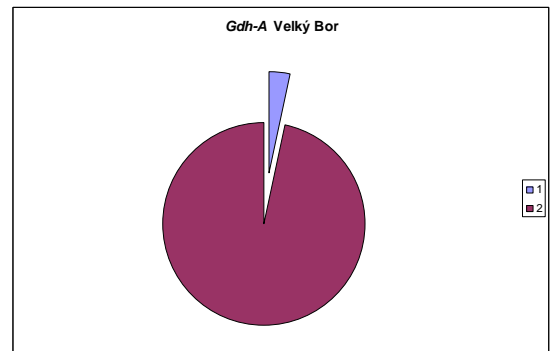
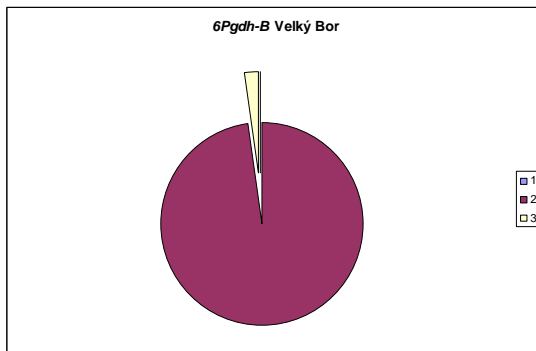
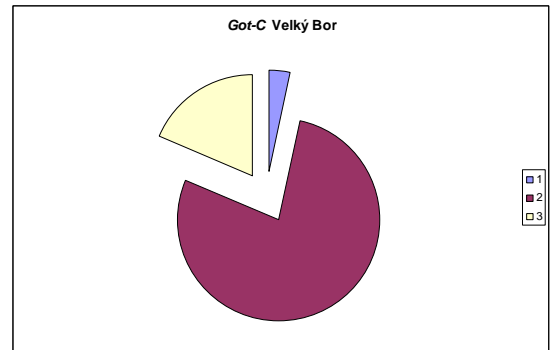
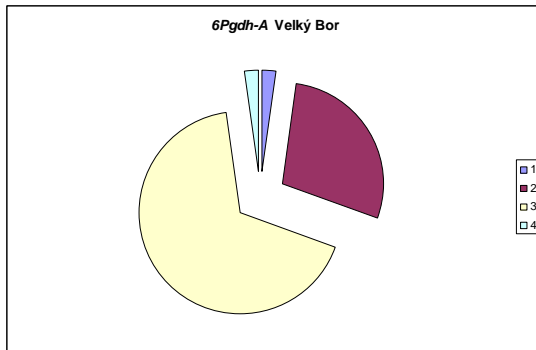
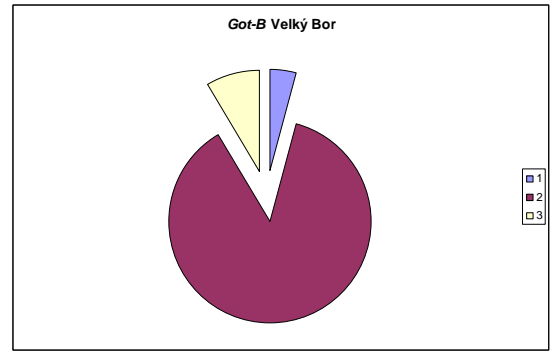
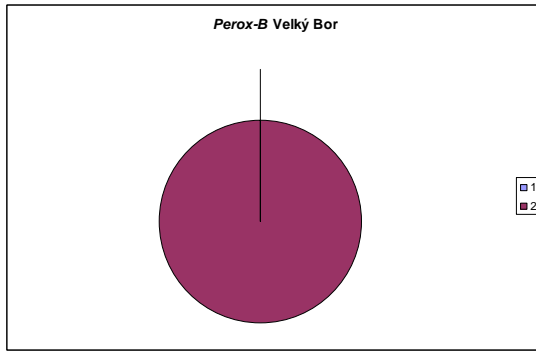
Gerlova Hut'



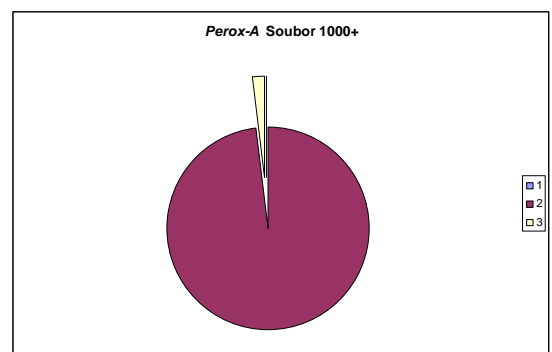
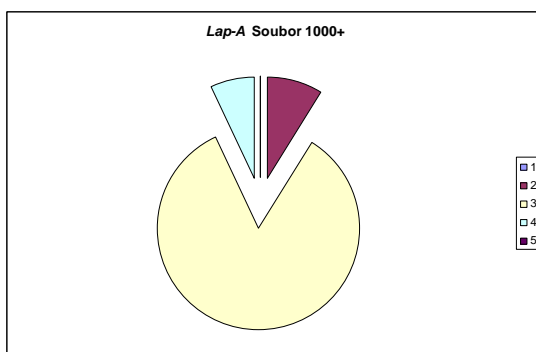
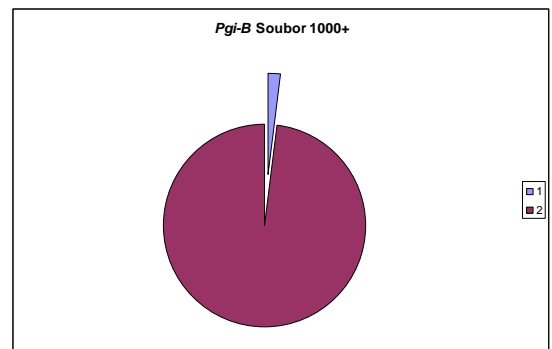
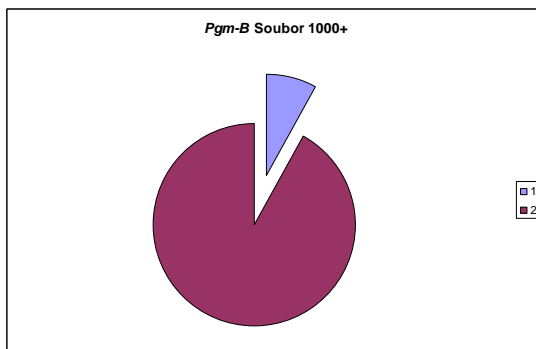
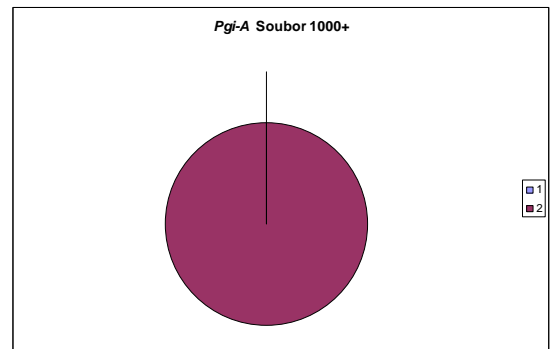
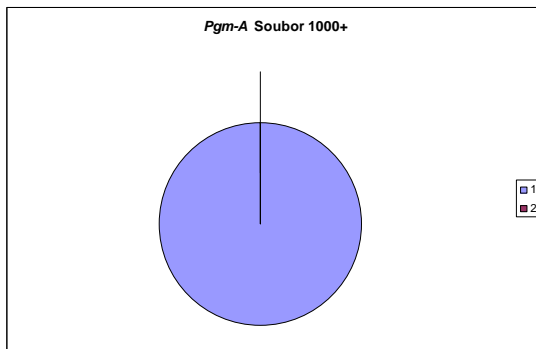
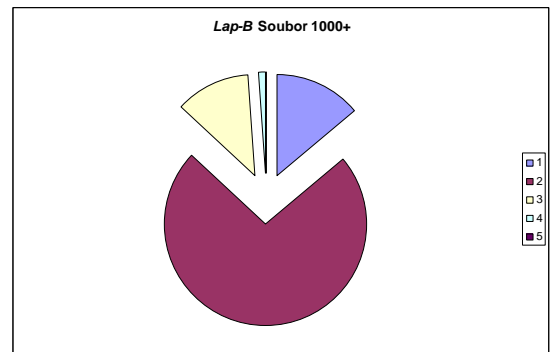
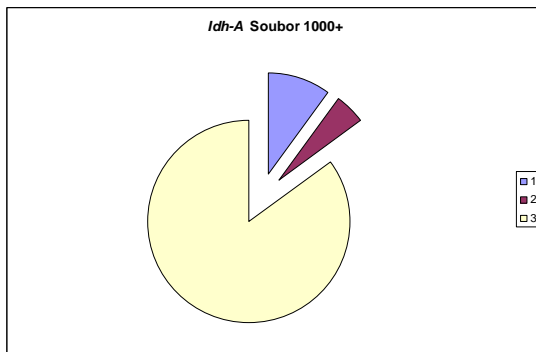


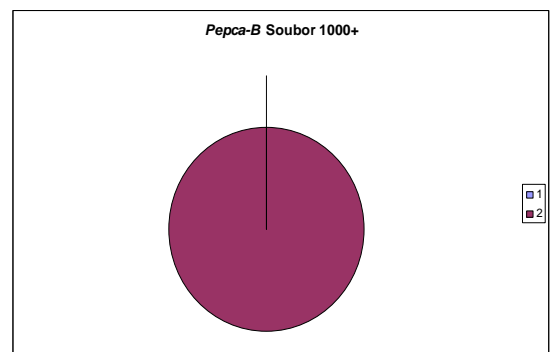
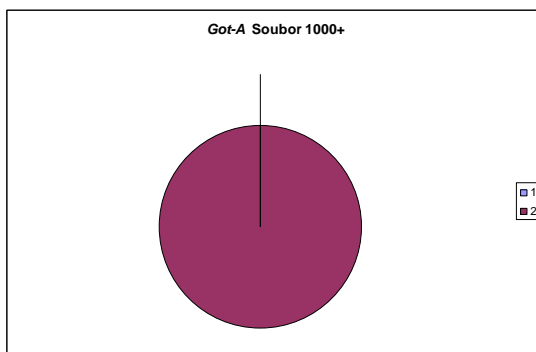
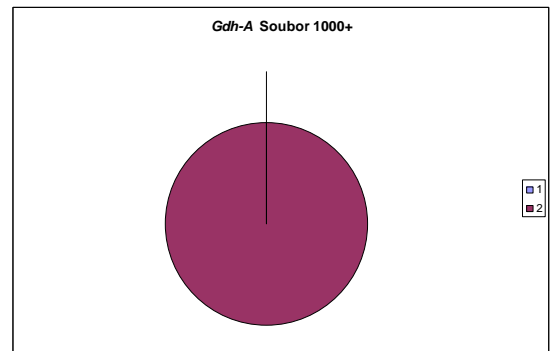
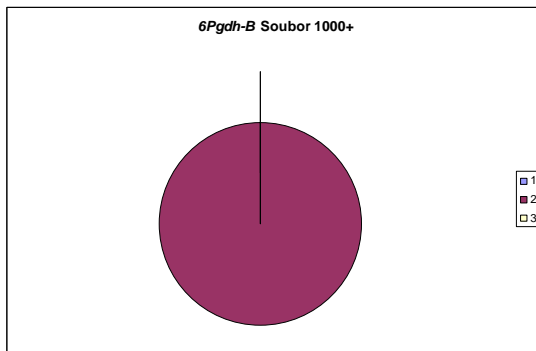
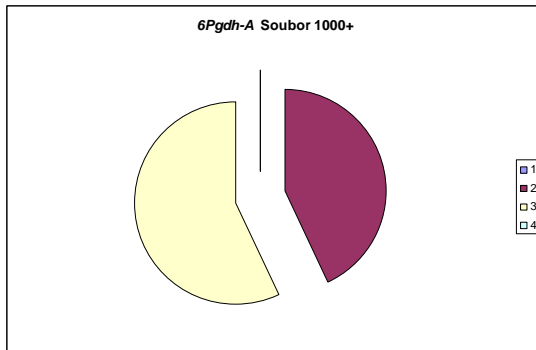
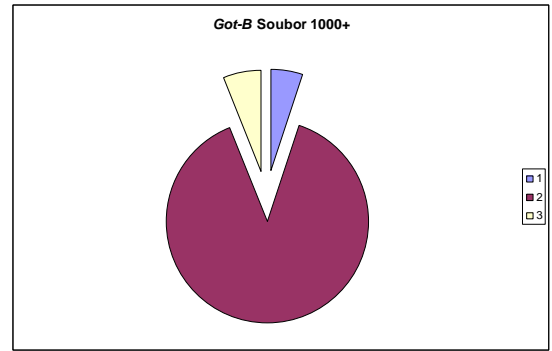
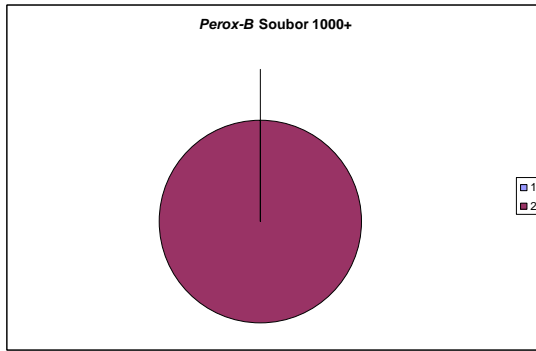
Velký Bor



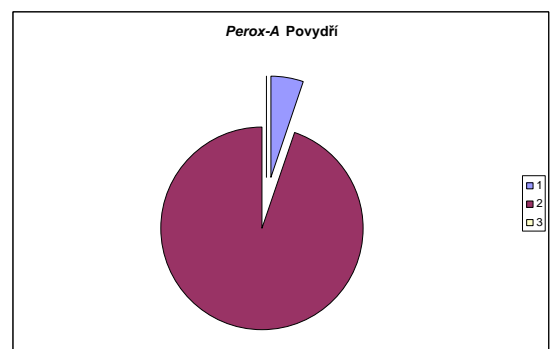
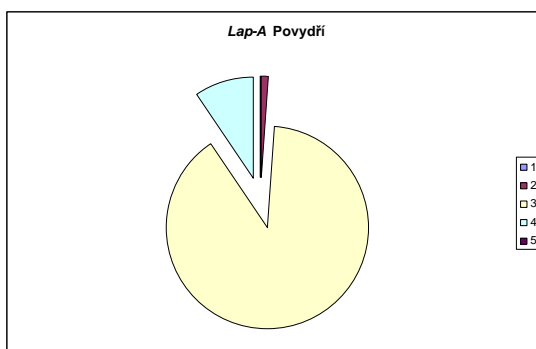
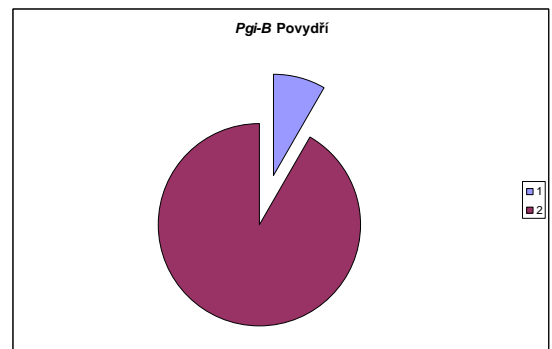
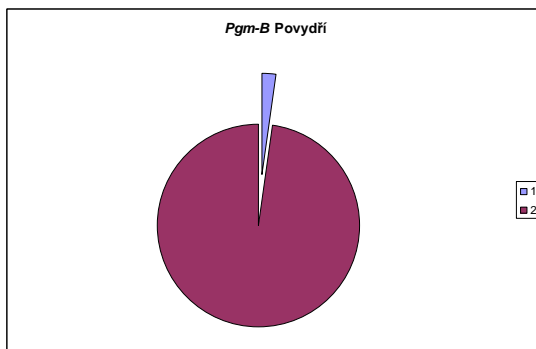
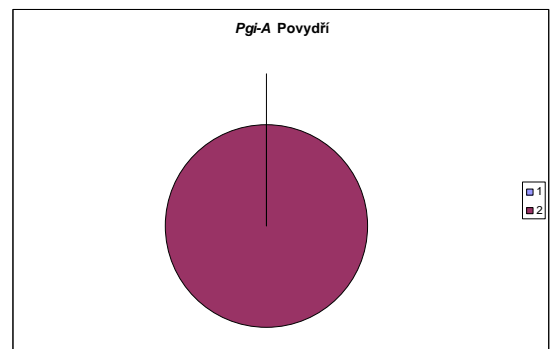
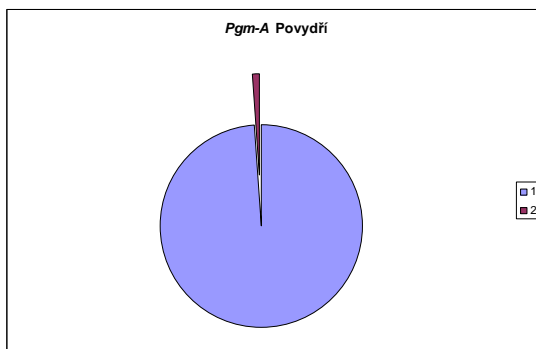
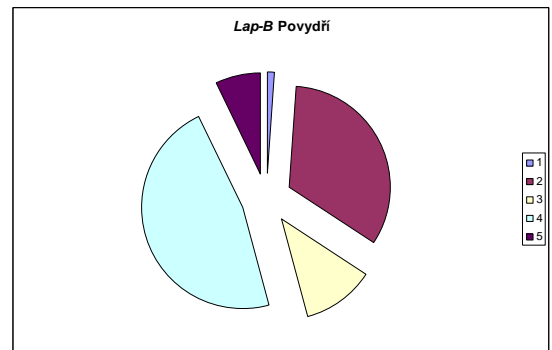
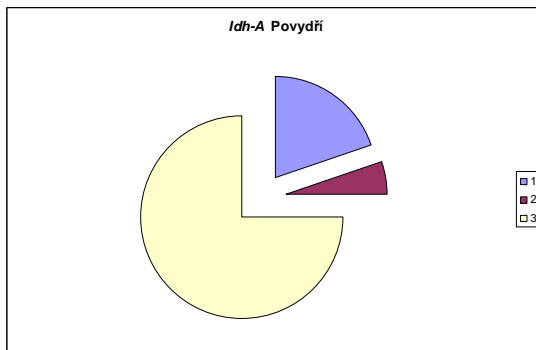


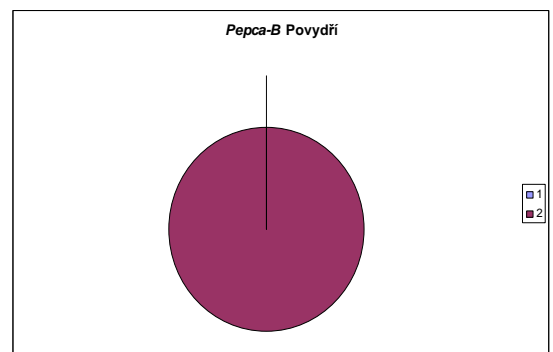
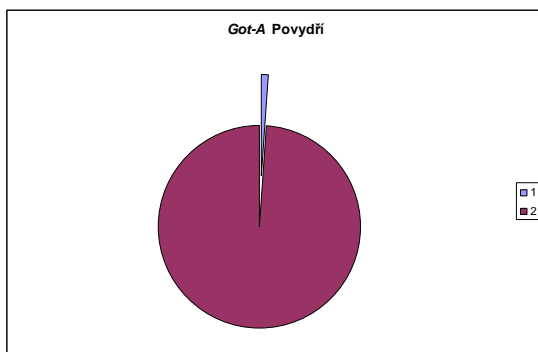
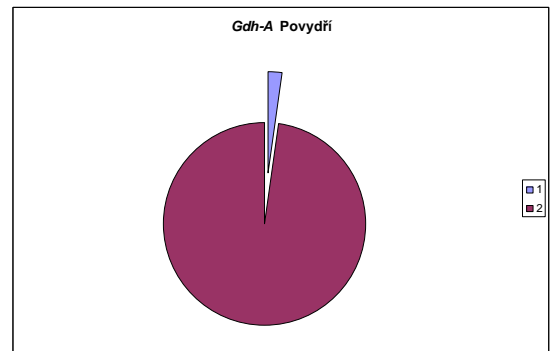
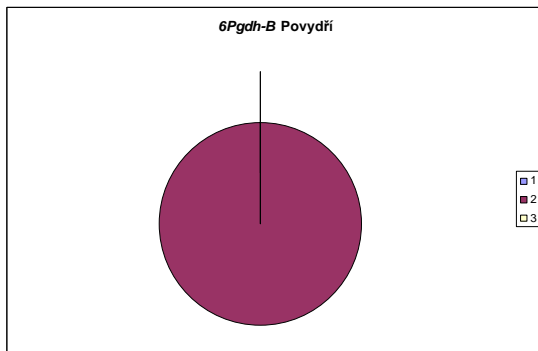
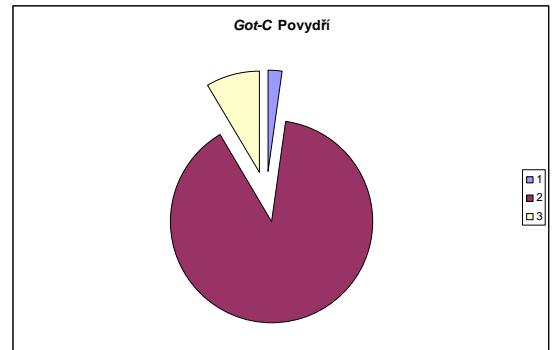
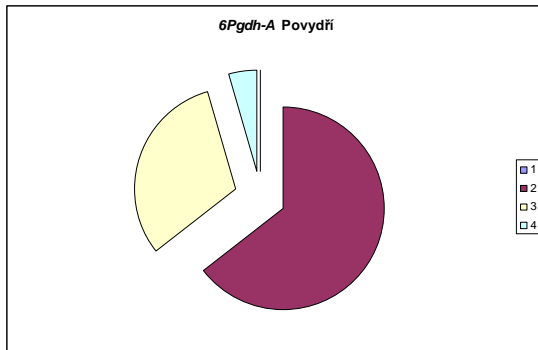
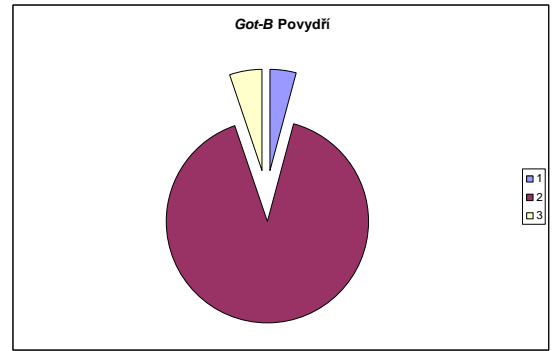
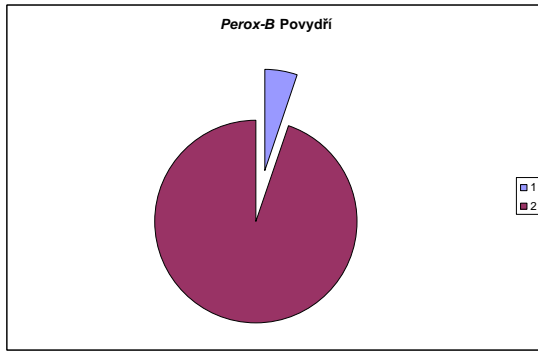
Soubor 1000⁺



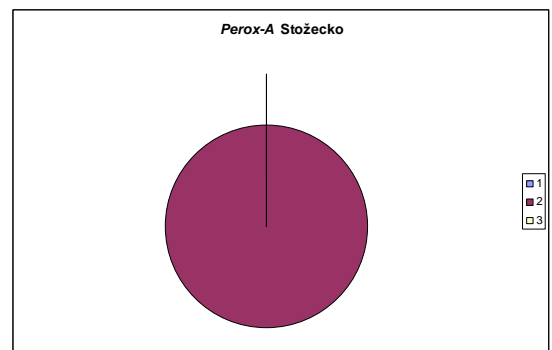
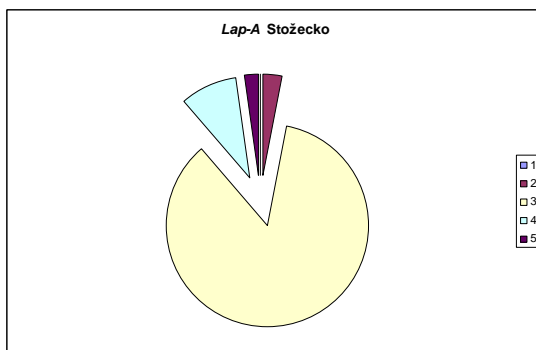
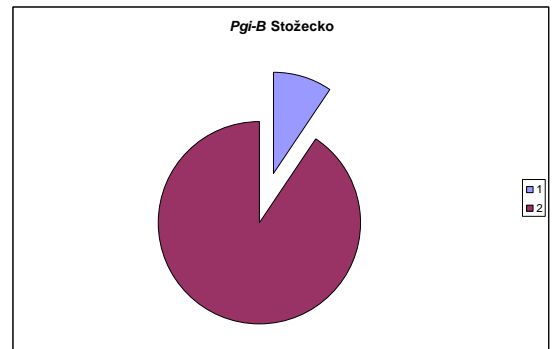
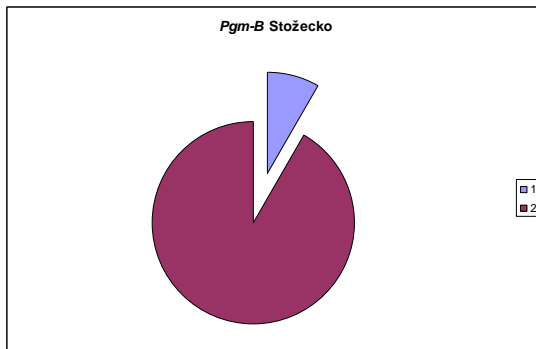
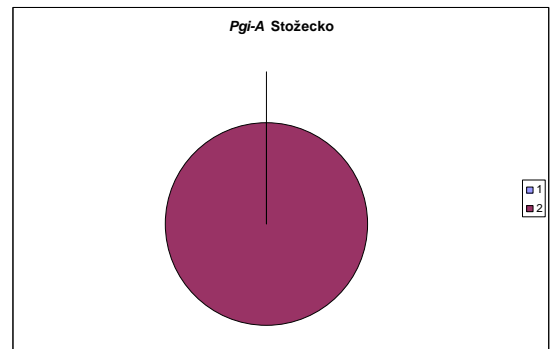
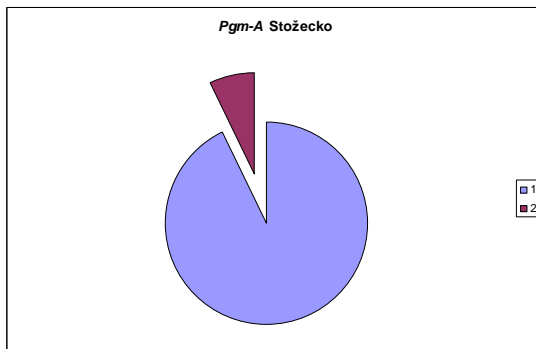
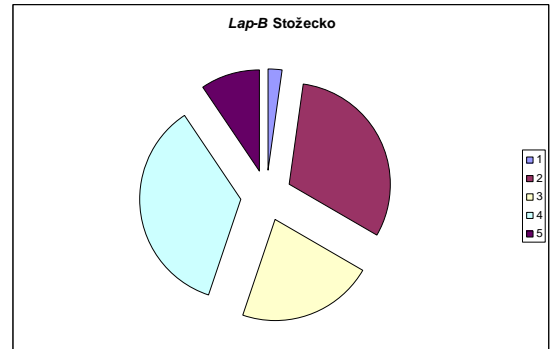
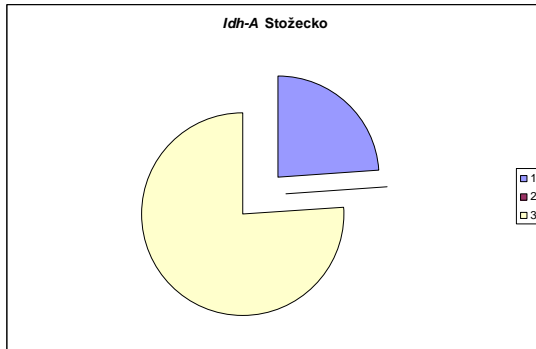


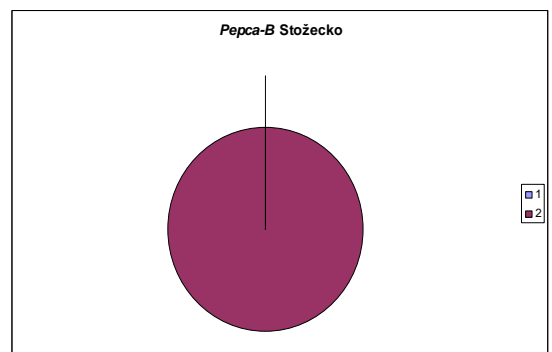
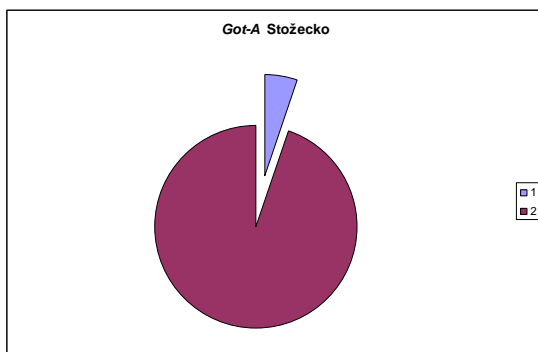
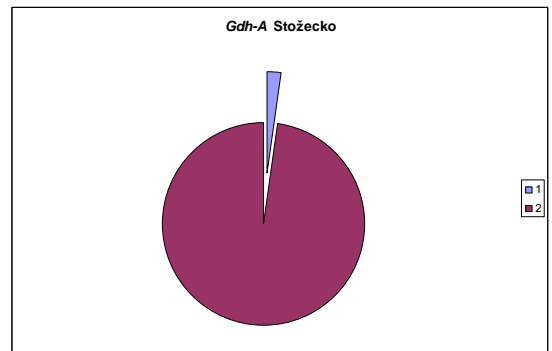
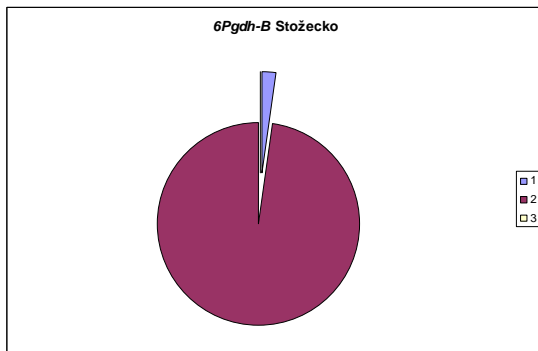
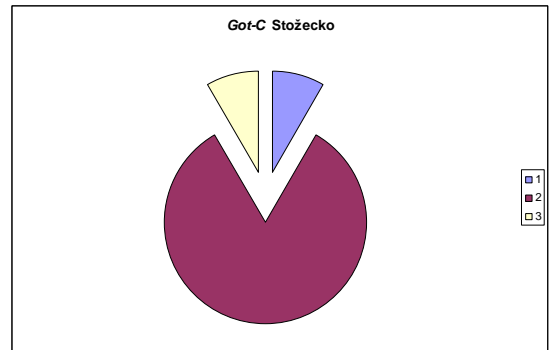
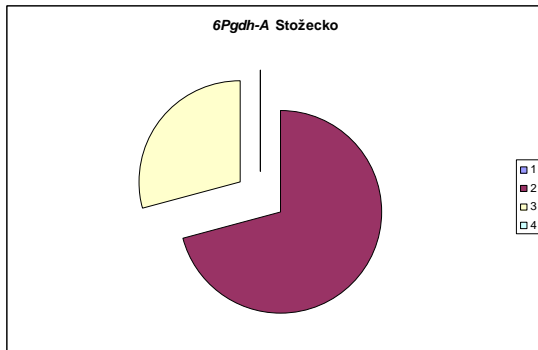
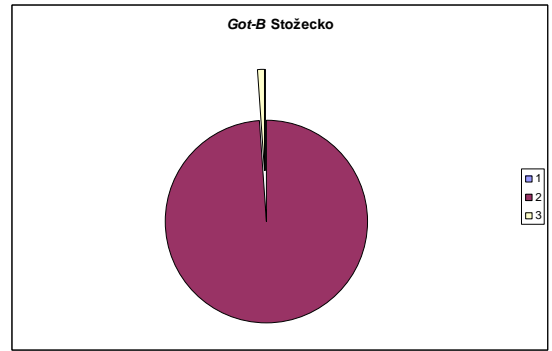
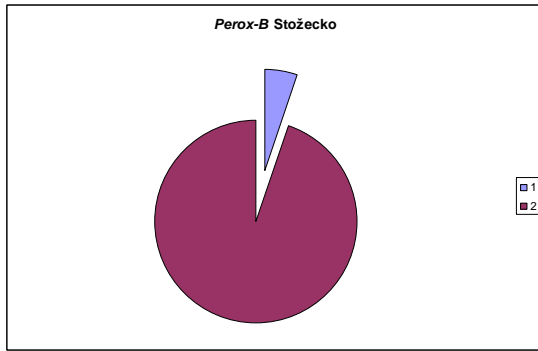
Povyďi





Stožecko

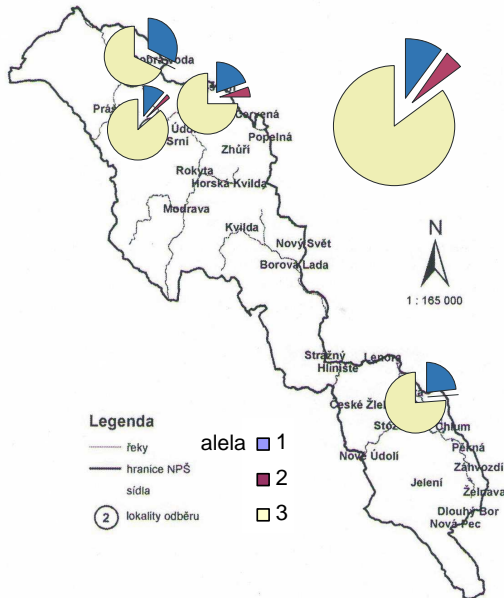




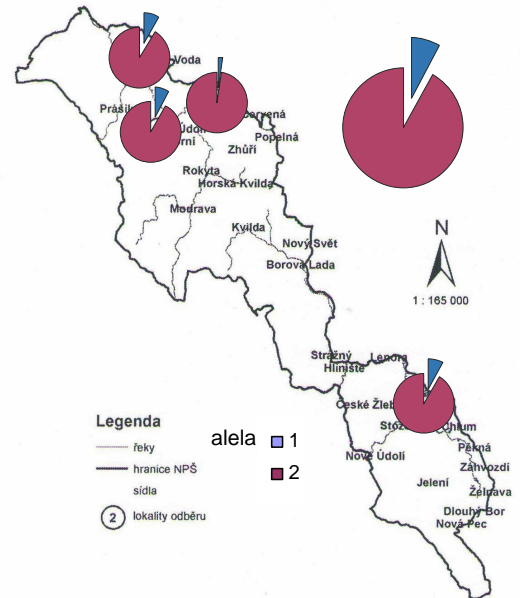
Grafické znázornění zastoupení jednotlivých alel v lokusech a populacích v mapce NP Šumava

(graf mimo oblast NP Šumava znázorňuje populaci Soubor 1000⁺)

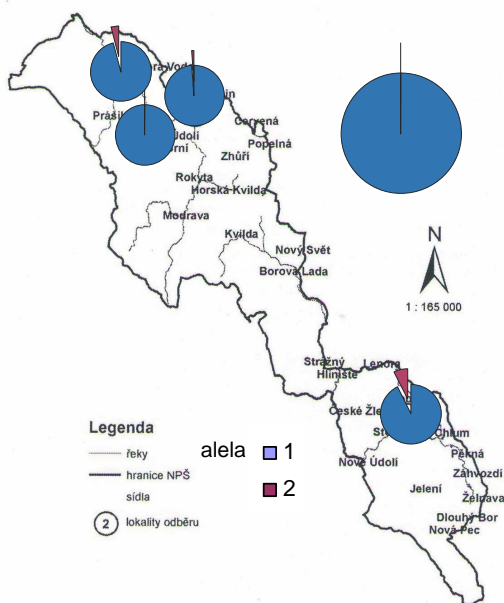
Idh-A



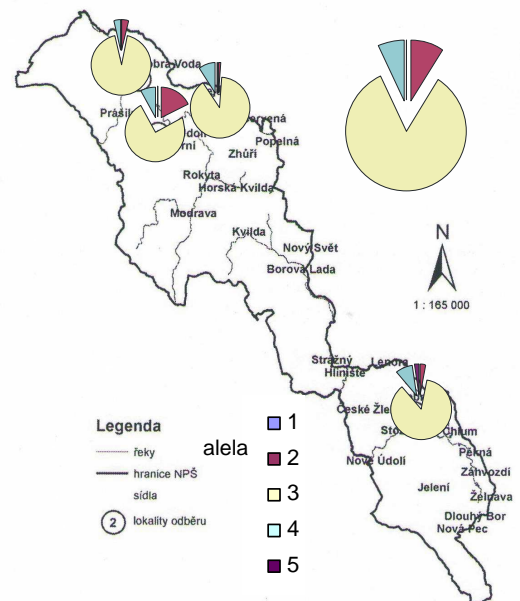
Pgm-B



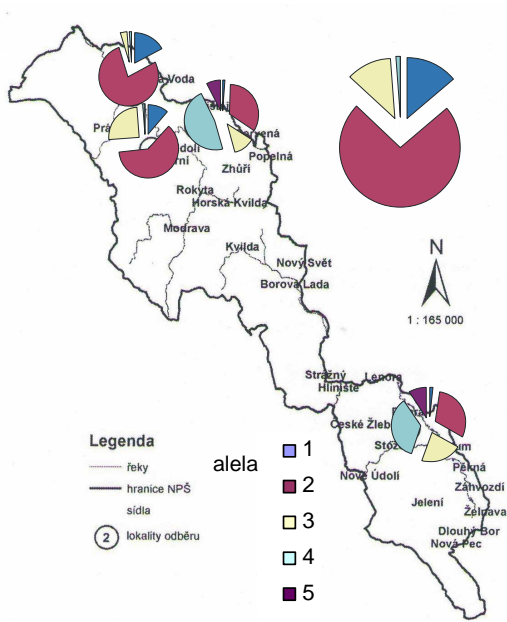
Pgm-A



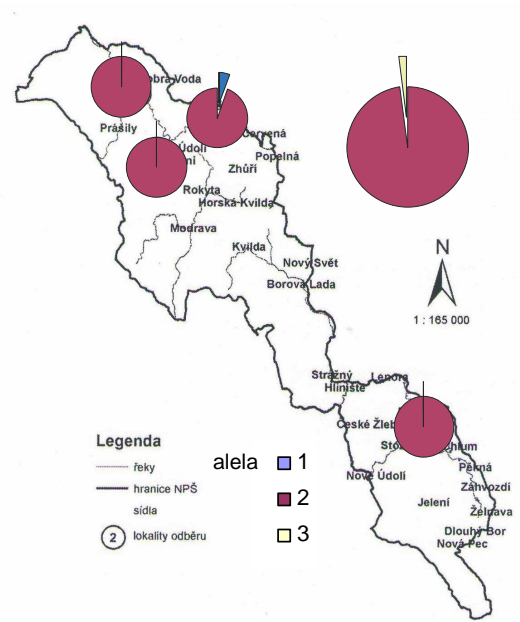
Lap-A



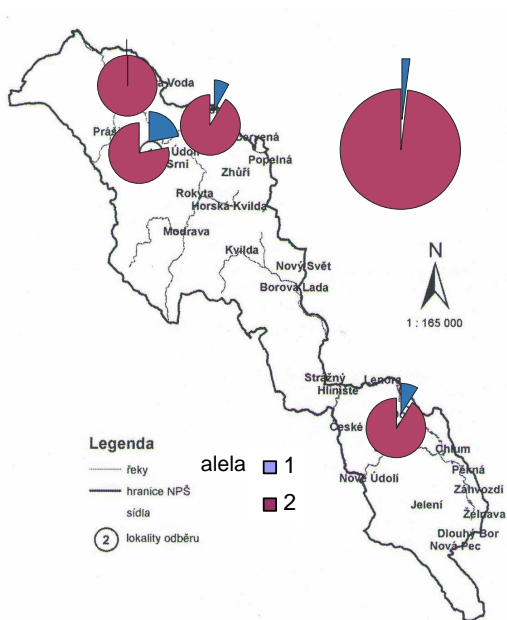
Lap-B



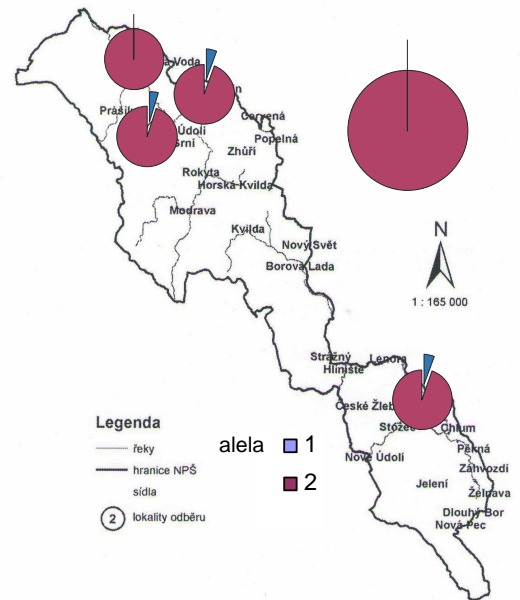
Perox-A



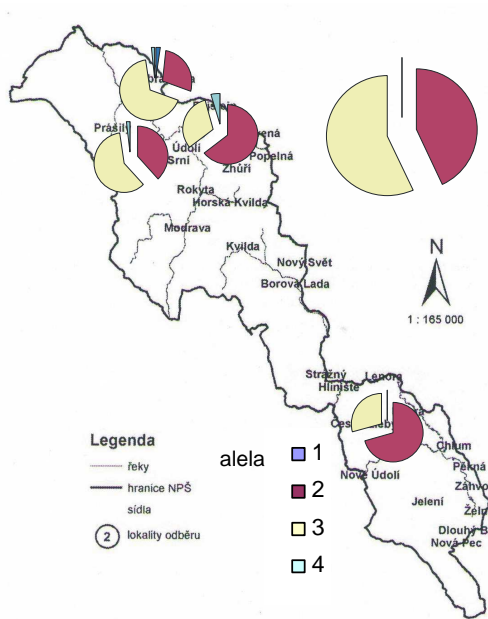
Pgi-B



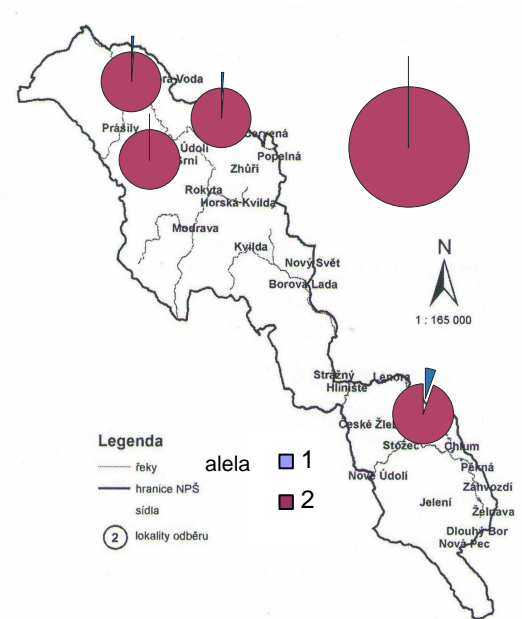
Perox-B



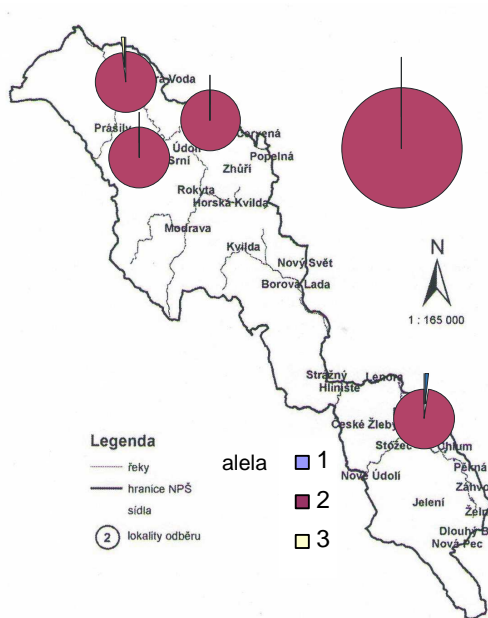
6Pgdh-A



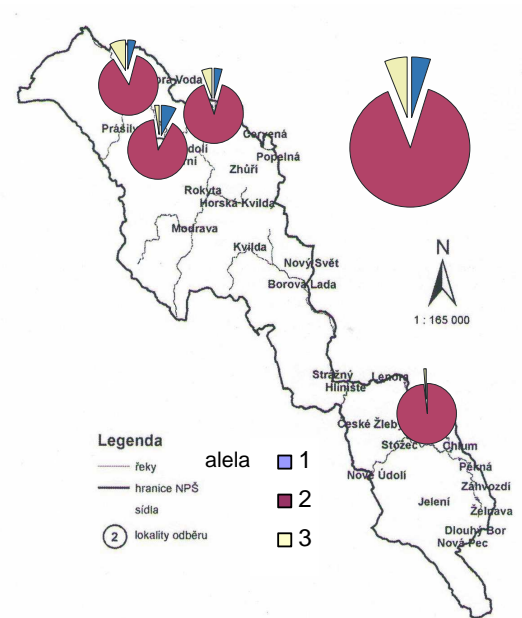
Got-A



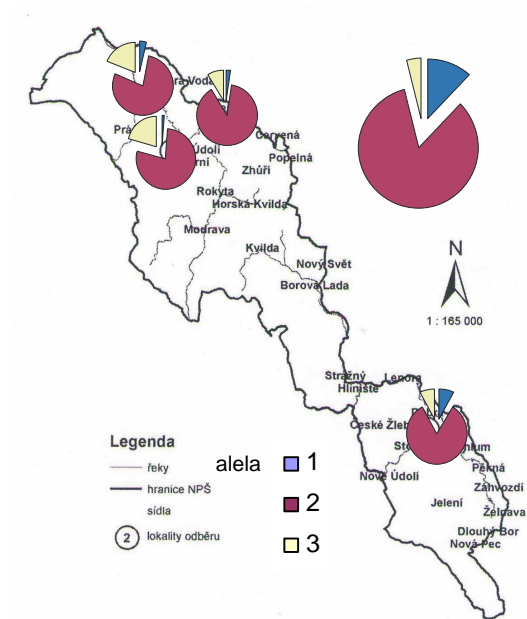
6Pgdh-B



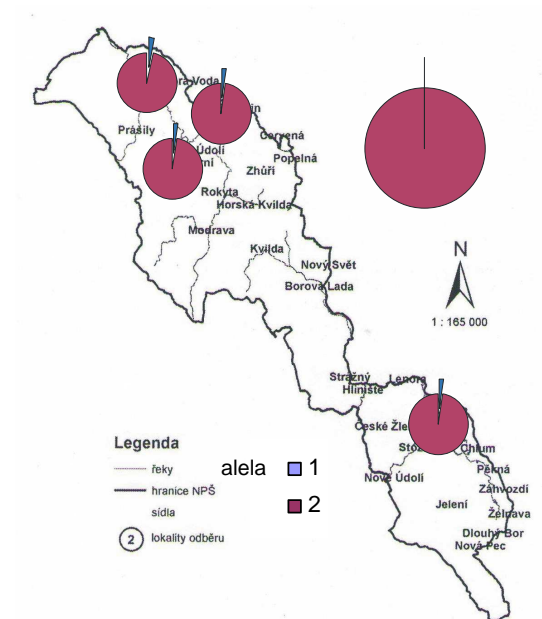
Got-B



Got-C

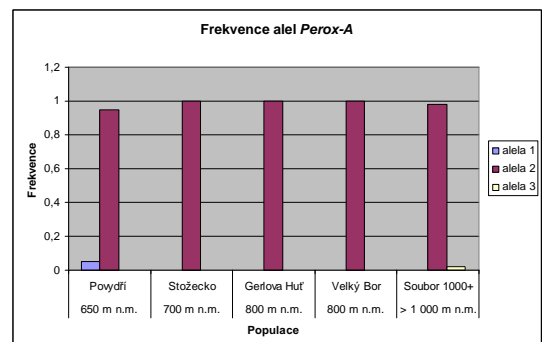
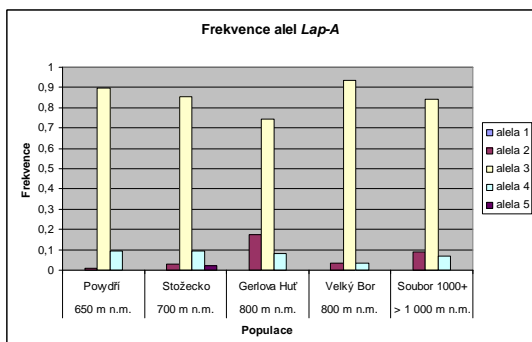
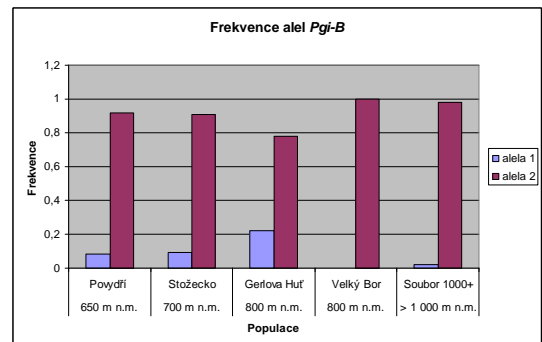
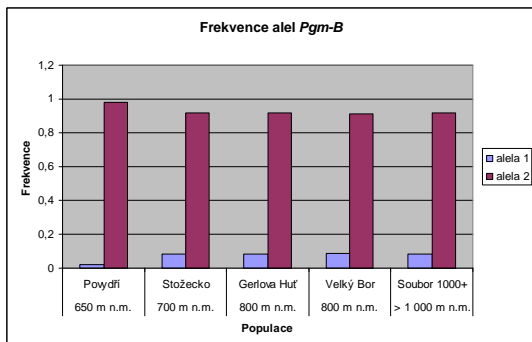
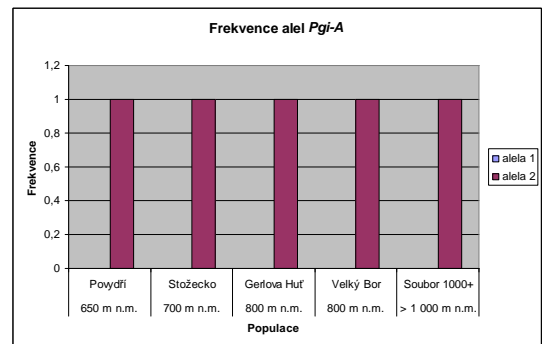
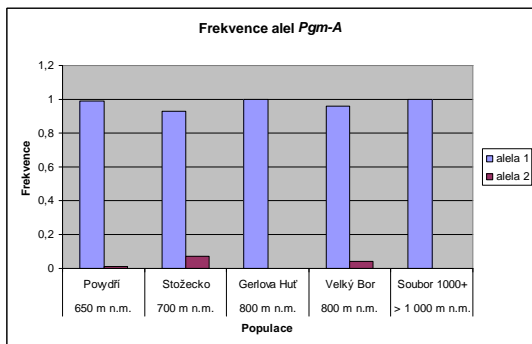
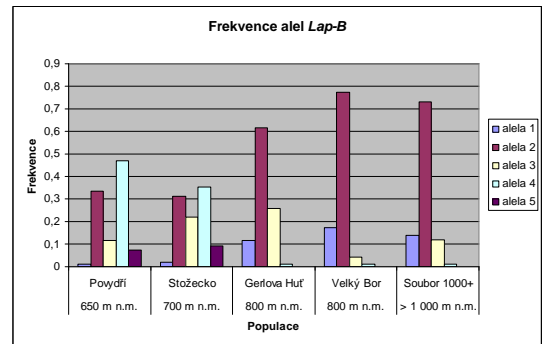
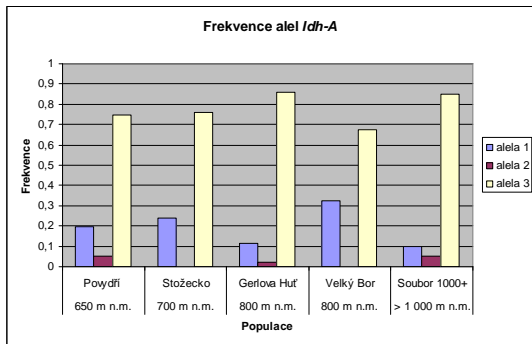


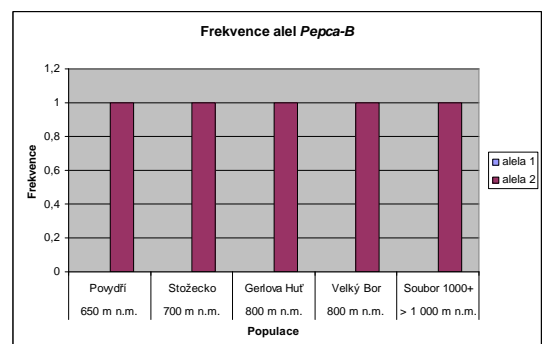
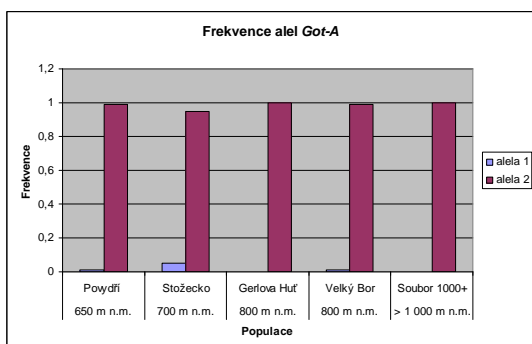
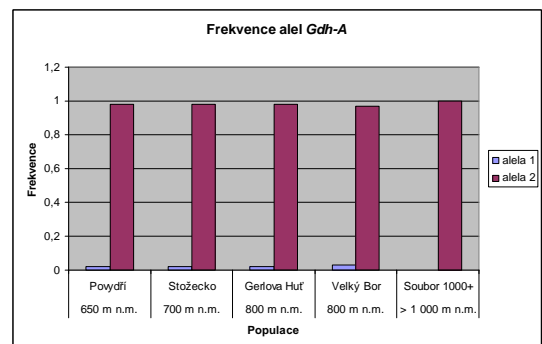
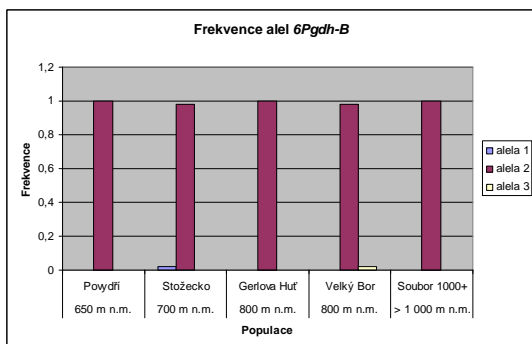
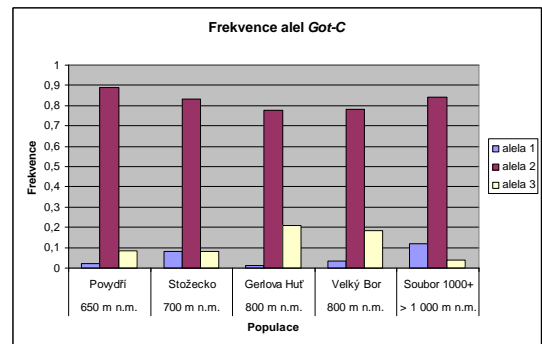
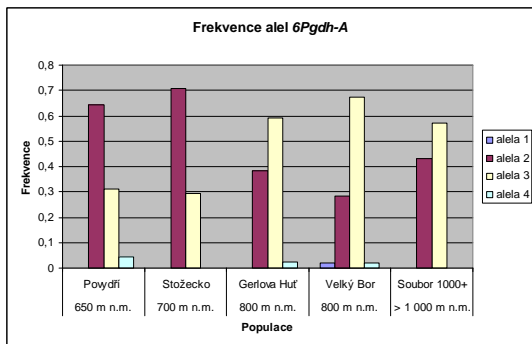
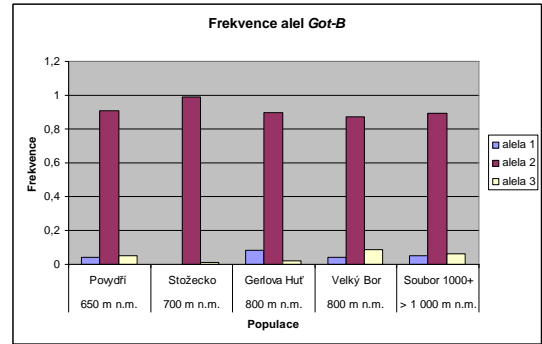
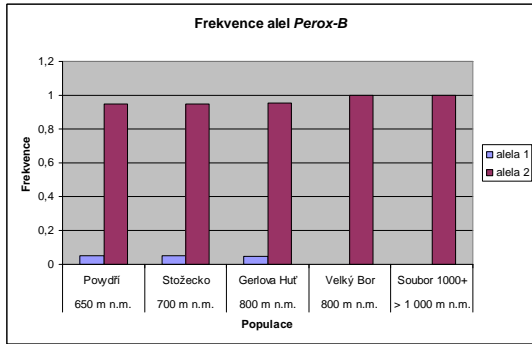
Gdh-A



Příloha 5

Grafické znázornění frekvencí alel v lokusech v jednotlivých populacích





Příloha 6

Testování rozložení genotypů v populaci

Gerlova Hut'

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina pravděpodobnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	47,373	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgm-B</i>	30,666	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-A</i>	24,546	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-B</i>	8,664	6	0,193	nezamítá
<i>Pgi-B</i>	0,948	1	0,330	nezamítá
<i>Perox-A</i>	43,000	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>6Pgdh-A</i>	67,216	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-B</i>	0,587	3	0,899	nezamítá
<i>Got-C</i>	13,028	3	0,005	zamítá
<i>Gdh-A</i>	43,000	1	$<10^{-6}$	zamítá

Velký Bor

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina pravděpodobnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	37,349	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgm-A</i>	10,478	1	0,001	zamítá
<i>Pgm-B</i>	46,000	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-A</i>	39,487	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-B</i>	25,243	6	$<10^{-6}$	zamítá
<i>6Pgdh-A</i>	74,343	6	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-A</i>	0,006	1	0,941	nezamítá
<i>Got-B</i>	35,535	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-C</i>	26,269	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Gdh-A</i>	0,052	1	0,819	nezamítá

Soubor 1000⁺

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina pravděpodobnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	36,879	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgm-B</i>	26,518	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-A</i>	14,739	3	0,002	zamítá
<i>Lap-B</i>	5,323	6	0,503	nezamítá
<i>Pgi-B</i>	0,021	1	0,885	nezamítá
<i>Perox-A</i>	0,021	1	0,885	nezamítá
<i>6Pgdh-A</i>	46,003	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-B</i>	21,033	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-C</i>	0,794	3	0,851	nezamítá

Povydrří

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina pravděpodobnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	25,068	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgm-A</i>	0,005	1	0,941	nezamítá
<i>Pgm-B</i>	0,022	1	0,882	nezamítá
<i>Lap-A</i>	0,527	1	0,468	nezamítá
<i>Lap-B</i>	13,403	6	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgi-B</i>	47,000	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Perox-A</i>	0,051	1	0,821	nezamítá
<i>Perox-B</i>	0,148	1	0,700	nezamítá
<i>6Pgdh-A</i>	44,001	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-A</i>	0,005	1	0,941	nezamítá
<i>Got-B</i>	74,322	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-C</i>	45,450	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Gdh-A</i>	47,000	1	$<10^{-6}$	zamítá

Stožecko

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina pravděpodobnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	6,324	1	0,012	zamítá
<i>Pgm-A</i>	13,551	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Pgm-B</i>	9,666	1	0,002	zamítá
<i>Lap-A</i>	83,076	6	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-B</i>	13,610	6	0,034	zamítá
<i>Pgi-B</i>	36,159	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Perox-B</i>	6,306	1	0,012	zamítá
<i>6Pgdh-A</i>	17,840	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>6Pgdh-B</i>	0,022	1	0,882	nezamítá
<i>Got-A</i>	6,306	1	0,012	zamítá
<i>Got-B</i>	0,005	1	0,941	nezamítá
<i>Got-C</i>	56,463	3	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Gdh-A</i>	47,000	1	$<10^{-6}$	zamítá

Příloha 7

Testování rozložení homozygotních a heterozygotních jedinců v populaci

Gerlova Hut'

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina významnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	7,546	1	0,006	zamítá
<i>Lap-A</i>	6,514	1	0,011	zamítá
<i>Lap-B</i>	2,962	1	0,085	nezamítá
<i>Pgi-A</i>	24,778	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-B</i>	0,587	1	0,443	nezamítá
<i>Got-C</i>	11,947	1	0,001	zamítá

Velký Bor

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina významnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Lap-A</i>	19,043	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-B</i>	21,995	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>6Pgdh-A</i>	22,748	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-B</i>	30,057	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-C</i>	25,493	1	$<10^{-6}$	zamítá

Soubor 1000⁺

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina významnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	18,474	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-A</i>	8,192	1	0,004	zamítá
<i>Lap-B</i>	2,855	1	0,091	nezamítá
<i>Got-B</i>	4,061	1	0,044	zamítá
<i>Got-C</i>	0,087	1	0,768	nezamítá

Povydří

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina významnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Idh-A</i>	10,916	1	0,001	zamítá
<i>Lap-B</i>	1,102	1	0,294	nezamítá
<i>6Pgdh-A</i>	35,969	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-B</i>	36,159	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Got-C</i>	0,450	1	0,502	nezamítá

Stožecko

lokus	χ^2	stupeň volnosti	dosažená hladina významnosti	zhodnocení na $\alpha=0,05$
<i>Lap-A</i>	25,197	1	$<10^{-6}$	zamítá
<i>Lap-B</i>	0,994	1	0,319	nezamítá
<i>Got-C</i>	22,946	1	$<10^{-6}$	zamítá