

Mendelova
univerzita
v Brně



Lesnická
a dřevařská
fakulta

Lesnická genetika

Dušan Gömöry, Roman Longauer

Brno 2014

Tento studijní materiál byl vytvořen v rámci projektu InoBio – Inovace biologických a lesnických disciplín pro vyšší konkurenční schopnost, registrační číslo projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0018 za přispění finančních prostředků Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.



européan
social fund in the
czech republic



EUROPEAN UNION



MINISTRY OF EDUCATION,
YOUTH AND SPORTS



OP Education
for Competitiveness

INVESTMENTS IN EDUCATION DEVELOPMENT

Autorství kapitol:

Prof. Ing. Dušan Gömöry, DrSc.: kapitoly 1, 2, 3, 4, 5, 6

Ing. Roman Longauer, CSc.: kapitoly 7, 8, 9

Rukopis neprošel jazykovou úpravou

OBSAH

Uvod	5
Náplň a klasifikace genetiky	6
1. Základní pojmy a procesy v genetice	8
Vlastnosti živé hmoty	8
Molekulární základy dědičnosti	8
Základy biochemie buňky	9
Struktura nukleových kyselin	12
Replikace DNA	15
Expresce genu, transkripce, tranlace a genetický kód	15
Úpravy DNA	21
Rekombinace molekul DNA	22
Cytologické základy dědičnosti	23
Struktura a buněčný cyklus prokaryotické buňky	23
Struktura a buněčný cyklus eukaryotické buňky, mitóza, meióza	23
2. Dědičnost fenotypových znaků	31
Mendelovy zákony, autozomální dědičnost kvalitativních znaků	31
Gonozomální dědičnost	36
Dědičnost kvantitativních znaků	37
3. Genetika populací	39
Populace a její struktura	39
Příbuzenství a příbuzenské křížení	40
Vývoj genetické struktury panmiktické populace (Hardyho-Weinbergův zákon) ..	42
Vývoj genetické struktury autogamní populace	46
Efektivní velikost populace	48
4. Evoluční mechanismy na úrovni populace	49
Mutace jako zdroj dědičné proměnlivosti	49
Genové mutace	49
Chromozomové mutace	51
Genomové mutace	52
Mikroevoluce	54
Selekce	55
Definice selekce, fitness	55
Mechanismy působení selekce v panmiktické populaci	56
Stabilizační, disruptivní a usměrněný výběr	58
Genetický drift	59
Náhodné procesy v populaci	59
Efekt zahrnutí, efekt zakladatele	61
Migrace a tok genů	61
Mechanismy migrace	61
Modely migrace	62
Reprodukční izolace	63
Mutační, molekulární a meiotický tah	66
Interakce mezi evolučními mechanismy, genetická homeostáza	67
5. Genetická variabilita	69
Genetické a genové markery	69
Metody analýzy DNA	70
Principy sekvenování DNA	75
Genetická multiplicita	77

Genetická diverzita a genotypová struktura	77
Genetická diferenciacce	78
6. Proměnlivost a její komponenty	81
Proměnlivost a její měření	81
Složky fenotypové proměnlivosti	82
Dědivost	86
Odezva na selekci	88
Interakce genotyp × prostředí	90
7. Uplatnění poznatků genetiky v lesním hospodářství	92
Význam kvality zdroje lesního reprodukčního materiálu	92
Dědivost ekologicky a hospodářsky významných znaků lesních dřevin ...	93
Genetický zisk dosahovaný u lesních dřevin sekejcá a škechtěním	95
Role původu, možnosti a limity přenosu reprodukčního materiálu	97
Výsledky provenienčních pokusů	98
Lesní reprodukční materiál	101
Certifikace lesního reprodukčního materiálu OECD a EU	101
Právní předpisy České republiky	103
Opatření k zabezpečení kvality zdroje reprodukčního materiálu	104
Opatření k zaručení pravosti (identity) reprodukčního materiálu	108
8. Genetické zdroje lesních dřevin a jejich zachování	111
Genetický zdroj a genofond	111
Metody zachování genetických zdrojů lesních dřevin	112
Klasifikace genových zdrojů a opatření k jejich zachování	112
Dynamická a statická ochrana	114
Priority s ohledem na druhy dřevin a stav jejich populací	117
Mezinárodní politický a programový rámec	119
Evropský program pro lesní genetické zdroje EUFORGEN	120
Evropský informační systém pro lesní genetické zdroje EUFGIS	121
Minimální požadavky na objekty zřízené k dynamické ochraně genetických zdrojů lesních dřevin v Evropě	123
Legislativní a programový rámec péče o genofond lesních dřevin v České republice	124
Národní program ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin	124
9. Introdukce lesních dřevin	126
Předpoklady úspěšné introdukce	127
Praktické aspekty introdukce lesní dřeviny	128
Příklady introdukce v lesnictví	130
Kulturní a plantážní lesy	132
Problematika invázních druhů	133
Literatura	134

ÚVOD

Učebnice je určena pro studenty bakalářského a inženýrského stupně studia na Lesnické a dřevařské fakultě. Pokrývá problematiku genetiky v rozsahu, který je potřebný pro pochopení mechanismů, jakými se utváří biologická rozmanitost na její nejnižší úrovni, tedy na úrovni variability genomů jedinců v rámci populací živých organismů (s důrazem na lesní dřeviny jako příklad diploidních, pohlavně se rozmnožujících eukaryotických organismů) a pochopení toho, jak lze tuto diverzitu využít v praktickém lesnictví. Podrobněji se věnují populační a kvantitativní genetice, protože tyto odbory genetiky jsou důležité pro chápání evoluce živých systémů a obzvláště mikroevoluce.

Vzhledem na možné mezery v obecném rozhledu z biologie a obzvláště z genetiky, se kterým přicházejí na univerzitu mnozí z absolventů středních škol, zasahuje učebnice i do oblastí, které nejsou bezprostředně náplní genetiky ani šlechtění *sensu stricto*. Základné informace z biochemie a buněčné biologie, týkající se cytologických a molekulárních základů dědičnosti, jsou nutné nejenom pro pochopení analýz genetických markerů jako základních nástrojů hodnocení genetické proměnlivosti, ale i pro chápání fungování dědičnosti fenotypových znaků a procesů na populační úrovni.

Na základy obecné, populační, kvantitativní a evoluční genetiky navazují kapitoly věnovány uplatnění poznatků genetiky v lesním hospodářství. Zaměřují se na význam kvality zdrojů reprodukčního materiálu, roli jeho původu (provenience) a genetické aspekty systému pro získávání a používání lesního reprodukčního materiálu. Samostatný blok se zabývá péčí o genofond a genetické zdroje lesních dřevin. Učebnici uzavírá kapitola zaměřená na genetické aspekty introdukce lesních dřevin.

Účelem učebnice je poskytnout informace k pochopení toho, jak funguje dědičnost živých organismů, jakými mechanismy je utvářen genofond populací a druhů, a tedy i jak funguje evoluce živej přírody - a jak lze tyto mechanismy využít v lesnictví.

NÁPLŇ A KLASIFIKACE GENETIKY

Genetika je věda o dědičnosti a proměnlivosti živých organismů. Proměnlivost je základní vlastností živých systémů. Organismy se navzájem liší svými vlastnostmi, ať už jde o snadno hodnotitelné znaky, jako je velikost a tvar těla, o strukturu jejich těl, projevující se v uspořádání jejich tkání a buněk, nebo o vlastnosti organických makromolekul, z nichž se jejich těla skládají. Tyto vlastnosti jsou částečně určeny podmínkami prostředí, kterým jsou organismy vystaveny, a zčásti jsou determinovány stavebním plánem, který je zabudován ve strukturách organismu. Při pohlavním rozmnožování ho jedinec dědí od rodičů, a představuje tedy kombinaci informací od obou, při nepohlavním množení je obsažen v zárodeční části, ze které jedinec vzniká, a je tedy identický s informací rodičovského organismu, ze kterého se tato část oddělila. V obou případech tento stavební plán ředstavuje informaci zděděnou od předchozí generace, tedy dědičnou (genetickou) informaci.

Jedinec tedy od svých rodičů nedědí znak samotný, ale pouze vlohu pro jeho projevení. Od začátku 20. století se pro tuto dědičnou vlohu používá označení gen. Soubor všech genů jedince označujeme termínem genotyp¹. Soubor všech znaků jedince (kvalitativních i kvantitativních) se nazývá fenotyp. Fenotyp není pouze výsledkem uplatnění genetické informace, ale i vlivu vnějších podmínek, souhrnně označovaných termínem prostředí. Fenotypový pojev konkrétního znaku může být výsledkem společného účinku více genů (polygenní systém), a analogicky jeden gen může současně kontrolovat vícero fenotypových znaků (pleiotropie).

Rozdíly vlastností mezi jedinci mohou být dostatečné na to, aby byli zařazeni do odlišných taxonů různých hierarchických úrovní. Základní taxonomickou kategorií je druh. Navzdory problémům s definicí druhu a z nich vypývajícimu vysokému počtu definicí a koncepcí druhu je tato taxonomická uroveň považována za jedinou, kterou lze definovat na základě nesporných biologických kritérií. Variabilitou se tedy vyznačuje jakýkoliv soubor organismů nezávisle na úrovni organizace. Část této variability spočívá v tom, že soubor sestává z kvalitativně odlišných jedinců“ populace sestává z nositelů odlišných stavebních plánů (resp. jejich částí, genů), společenstvo obsahuje organismy patřící k odlišným druhům nebo vyšším taxonům, ekosystém sestává z organismů s odlišnou funkcí atd. Tento typ proměnlivosti se označuje jako diverzita resp. rozmanitost. Vzhledem ke skutečnosti, že taxonomická příslušnost stejně jako funkce organismu v ekosystému jsou výsledkem realizace dědičné informace, bylo by technicky možno diverzitu na všech úrovních zredukovat na genetickou diverzitu. Z praktického hlediska to však není účelné: pokud by takováto redukce měla zohlednit nejen kvalitativní rozdíly genů různých taxonů, ale i jejich funkce (určující biologickou niku organismu), byla by konstrukce indikátorů diverzity extrémně komplikovaná.

Další základní vlastností živých organismů je dědičnost, kterou rozumíme schopnost organismů produkovat potomstvo, které na stejné podmínky reaguje stejným způsobem, tedy ve stejných podmínkách prostředí se bude vyznačovat podobnými individuálními vlastnostmi (kvalitativními a kvantitativními znaky) jako jeho rodiče.

Přenos dědičné informace souvisí s procesy na všech úrovních organizace živé hmoty. Jednotlivé oblasti genetiky se zabývají právě těmito různými úrovněmi a různými aspekty těchto procesů. Molekulární genetika (jako součást širšího oboru molekulární biologie) řeší otázky účasti jednotlivých typů organických makromolekul na dědičnosti a molekulární podstaty uložení a zmnožování dědičné informace a jejího vztahu k fenotypovým znakům, které ovlivňuje. Řeší tedy otázky vztahu mezi dědičnou informací a strukturou organických

¹ Termín „genotyp“ se používá nejen pro označení souboru všech genů organismu, ale i pro označení konkrétní kombinace rodičovských vloh (alel) v konkrétním genu. Analogicky se termín „fenotyp“ nepoužívá pouze pro soubor všech znaků jedince, ale i pro konkrétní hodnotu konkrétního znaku.

makromolekul, které jsou jejími nositeli, a procesů, které jsou nutné pro tvorbu produktů dědičné informace. Cytogenetika se zabývá buněčnými strukturami a procesy v rámci života buňky, které souvisí s dědičností (jádro a semiautonomní organely s vlastní dědičnou informací, buněčný cyklus včetně různých typů dělení buňky). Předmětem genetiky jedince (genetiky *sensu stricto*, tedy v původním mendelovském chápání) jsou otázky dědičnosti fenotypových znaků, tedy otázka, jak se vnější vlastnosti dědí, přenášejí z rodičů na potomstvo. Mechanismy určující změny zastoupení genů v rámci populací jsou předmětem populační genetiky, jejich odraz v rozdělení a vývoji hodnot fenotypových znaků zkoumá kvantitativní genetiky (někdy jsou oba odbory chápány jako totožné).

I když základní principy dědičnosti jsou společné pro všechny živé organismy, existují obory genetiky zaměřené na konkrétní druhy nebo vyšší taxony (člověka, rostliny atd.). Souvisí to zejména s rozdílným praktickým významem různých aspektů dědičnosti u různých organismů. V humánní genetice je nepochybně důležitá otázka podstaty a přenosu jednotlivých dědičných onemocnění, která je naopak absolutně irelevantní v genetice bakterií nebo genetice lesních dřevin.

Specifické obory genetiky vznikají na rozhraní s jinými vědními obory, především evoluční biologií (evoluční genetiky), ekologií (ekologická genetiky), ochranou přírody (ochranářská resp. „konzervační“ genetiky) apod.

Samostatné odvětví vzniklo na rozhraní molekulární biologie, fyziologie a genetiky, a je označované jako genomika. Předmětem genomiky je zkoumání struktury a funkcí genomu, tedy souboru všech dědičných informací v rámci živé buňky. Předmětem genomiky je zkoumání struktury genomu, tedy „čtení“ dědičné informace (sekvenování DNA), identifikace genů a dalších úseků v genomu (strukturální genomika) a identifikace funkcí genů, tedy jaké molekulární a fyziologické procesy v organismu řídí (funkční genomika). Samostatnou oblastí je epigenomika, která se zabývá zkoumáním chemických modifikací molekul nesoucích dědičnou informaci, které nemění „pořadí písmen“ v jejich rámci a tedy ani kvalitu produktů genů, ale ovlivňují míru a čas ich exprese a tedy i výsledné fenotypové znaky. V ekologických studiích se v poslední době široce uplatňuje metagenomika, analýza vzorků odebraných přímo z prostředí a obsahujících směs genetického materiálu společenstva. I když se primárně zaměřuje na prokaryotická společenstva (např. bakteriální společenstvo půd), je v principu uplatnitelná aj u spoločenstev vyšších organismů.

Jako samostatný odbor se vyvinula bioinformatika, zabývající se zpracováním a interpretací obrovských objemů dat, které v rámci genetického a molekulárně-biologického výzkumu vznikají.

1 ZÁKLADNÍ POJMY A PROCESY V GENETICE

Vlastnosti živé hmoty

Neexistuje žádná jednoznačná a konsenzuálně přijímaná definice života. Ze znaků, kterými se vyznačuje živá hmota, se nejčasteji uvádějí následovně:

- **Organizace.** Živé organismy se vyznačují přísnou strukturou na více úrovních. Na nejnižší, buněčné úrovni se skládají z velkého množství organických látek, které v buňce vykonávají různé funkce, a jsou v závislosti na těchto funkcích prostorově organizovány v rámci různých buněčných kompartmentů. U mnohobuněčných organismů stejně přísná pravidla platí i z hlediska uspořádání buněk na vyšších úrovních, tedy na úrovni tkání nebo orgánů.
- **Metabolismus.** V organismech probíhá neustálá transformace látek a energií, jednak formou konverze organických nebo anorganických látek přijímaných z prostředí na látky buňce vlastní při spotřebě energie (anabolismus), jednak odbouráváním vytvořených složitějších organických látek na jednodušší, resp. až na anorganické látky, čím se energie v celkové bilanci naopak získává (katabolismus).
- **Homeostáza.** Organismy jsou schopné udržovat své vnitřní prostředí v dynamické rovnováze, která vytváří předpoklad pro plnění životních funkcí. V rámci určitých limitů jsou schopné odchylky od tohoto rovnovážného stavu kompenzovat, překročení těchto limitů může vést k nevratným změnám a následně ke smrti organismu.
- **Růst.** V dlouhodobém horizontu musí být organismy schopny udržovat vyšší úroveň anabolismu ve srovnání s katabolismem.
- **Reprodukce.** Vzhledem k variabilitě prostředí se každý organismus (i kdyby neměl inherentní mechanismy vedoucí k jeho smrti) nutně musí setkat s podmínkami, v kterých není schopen udržet homeostázi. Předpokladem udržení života v delší perspektivě je tedy schopnost produkovat nové organismy.
- **Dráždivost.** Organismus musí být schopen přijímat signály z prostředí a reagovat na ně.

Z evolučního hlediska je spíše vlastností živé hmoty jako takové než konkrétního organismu adaptabilita, schopnost přizpůsobování. Organismy musí být schopny měnit své vlastnosti v odezvě na změny prostředí a přenášet tyto změny na potomstvo.

Molekulární základy dědičnosti

Jak bylo zmiňováno, v buňce neustále probíhá množství chemických reakcí, které jsou podstatou života. Aby si buňka mohla zachovat vlastnosti živé hmoty, musí tyto reakce probíhat vysoce uspořádaně. Pro splnění této podmínky je nutné splnění dvou předpokladů: (i) buňka musí být prostorově organizována – oddělená od vnějšího prostředí, případně i rozdělena na uzavřené útvary (kompartmenty), mezi kterými probíhá řízený přenos látek a energie, (ii) většina reakcí nemůže probíhat spontánně, musí být katalyzovány a jejich průběh musí být řízen.

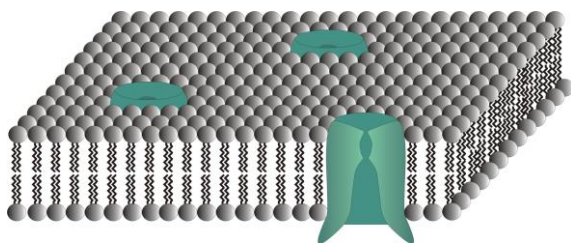
Na zajištění prostorové organizace slouží primárně lipidy. Naopak, obrovskou většinu katalytických funkcí vykonávají specializované proteiny – enzymy. Jejich názvy končí příponou –áza a jsou zpravidla odvozené z typu reakcí, kterou zajišťují, nebo názvu substrátu, který metabolizují.

V důsledku metabolismu samotného vznikají v buňce látky, které jsou schopny poškodit biogenní molekuly a množství dalších takovýchto látek vniká do buňky z vnějšího prostředí. Navíc je vnější prostředí proměnlivé a buňka na něj musí reagovat. V různých situacích tedy potřebuje různé biogenní látky v různých množstvích a musí být schopna nahrazovat poškozené molekuly. Kromě toho buňka musí být schopna reprodukovat své struktury při

buněčném dělení. Vzhledem k tomu, že převážnou většinu katalytických, signálních a transportních funkcí v buňce zajišťují proteiny, kompletní proteinová výbava buňce postačuje na to, aby si dokázala autonomně zesyntetizovat jakékoli další látky potřebné k životu (pokud je v hotové podobě nepřijímá z vnějšího prostředí). Buňka tedy nepotřebuje uchovávat informace o struktuře *všech* látek, ze kterých se skládá, stačí jí uchovávat informaci, na základě které je schopna vytvářet všechny své proteiny. Uchovávání této informace je podstatou dědičnosti.

Box I Základy biochemie buňky

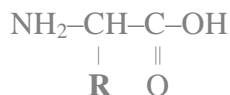
Lipidy jsou estery mastných kyselin. Existuje vícero typů lipidů; jedna jejich skupina, fosfolipidy, má tendenci shlukovat se a vytvářet ploché útvary, které jsou základem buněčných membrán. Membrány jsou tvořeny lipidovou dvouvrstvou, ve které hydrofobní konce fosfolipidových molekul (zbytky mastných kyselin, tvořené dlouhým alkylovým řetězcem) jsou orientovány směrem do vnitra dvouvrstvy a hydrofilní konce (fosforylovaný glycerol a karboxylový zbytek mastné kyseliny) jsou orientovány navenek, tedy směrem do vodního prostředí cytoplazmy (obr. 1). Malé molekuly (voda, CO₂, O₂) jsou schopny přes membrány difundovat, většina iontů a větší molekuly však musí být přes membránu aktivně přenášeny; přenos zpravidla zajišťují proteinové kanály.



Obr. 1 Schéma lipidové dvouvrstvy s proteinovým kanálem

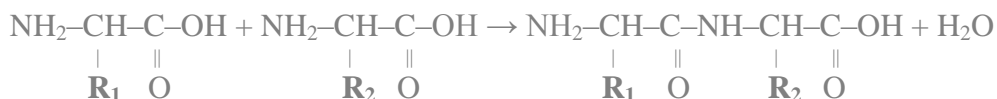
(<http://www.sophion.dk/sophion/Membrane-channels3.jpg>)

Základem proteinů (bílkovin) je vždy polypeptidový řetězec. Někdy mohou obsahovat i další složku – sacharid (glykoproteiny), lipid (lipoproteiny), hém (hemoglobin) apod., ale většina je tvořena jedním polypeptidem (monomerní proteiny) nebo více stejnými neb odlišnými polypeptidovými jednotkami (oligomerní proteiny). Základním stavebním kamenem polypeptidů jsou aminokyseliny, tedy organické kyseliny, které kromě karboxylové skupiny (–COOH) obsahují i aminoskupinu (–NH₂):

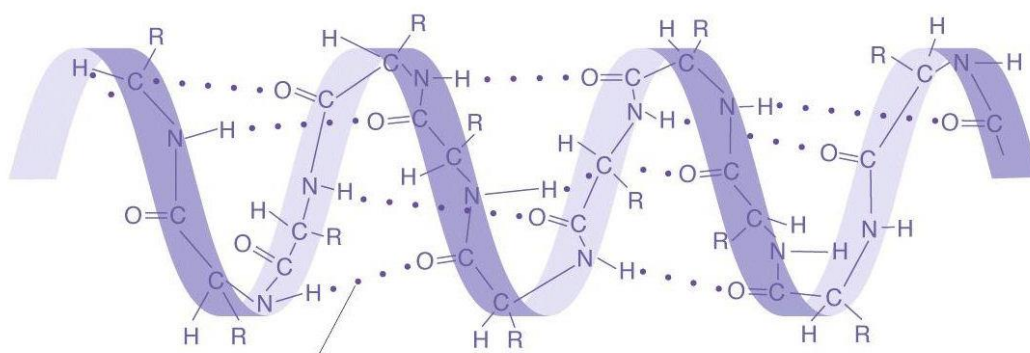


V proteinech se vyskytuje 20 různých (tzv. esenciálních) aminokyselin, které se od sebe odlišují zbytkem (R), který určuje jejich chemické vlastnosti. Při některých je zbytek alifatický řetězec (alanin, leucin, isoleucin, valin) nebo aromatický cyklus (fenylalanin, tyrosin, tryptofan) a je tedy elektricky neutrální a hydrofobní. Úseky proteinů bohaté na tento typ aminokyselin budou vykazovat afinitu k lipidovým membránám. Při jiných je zbytek elektroneutrální, ale hydrofilní, protože obsahují hydroxylový radikál nebo amidovou skupinu (serin, treonin, asparagin, glutamin). Další aminokyseliny se ve vodním roztoku elektricky nabíjejí, buď negativně odštěpením protonu z karboxylové skupiny ve zbytku (kys. glutámová a asparágová), nebo pozitivně navázáním protonu na dodatečnou amino- nebo iminoskupinu (arginin, histidin, lysin). Samostatnou heterogenní skupinu tvoří další aminokyseliny se specifickými vlastnostmi (glycin, cystein resp. selenocystein, prolin). Například cystein obsahuje –SH skupinu, která umožňuje vytvoření velmi pevné kovalentní vazby (disulfidického můstku) mezi dvěma cysteiny v rámci jednoho polypeptidového řetězce.

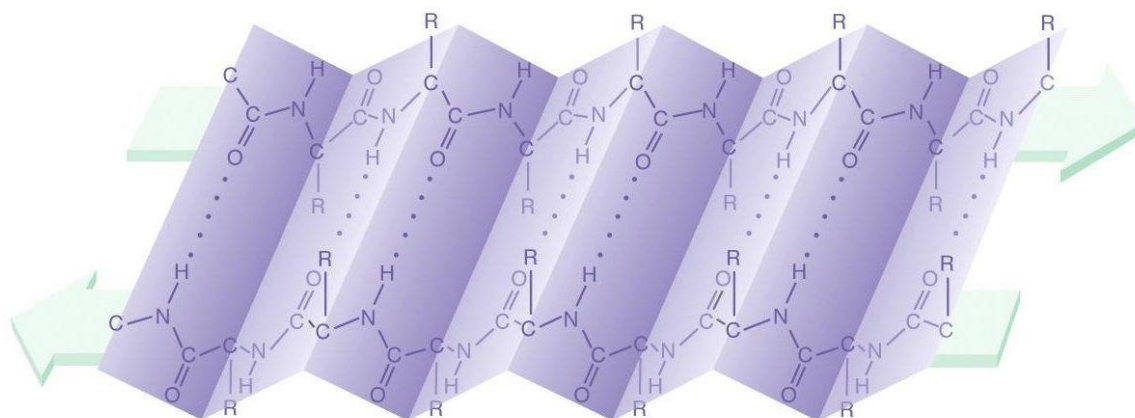
Aminokyseliny se mezi sebou vážou tzv. peptidickou vazbou mezi aminoskupinou jedné a karboxylovou skupinou další aminokyseliny:



(rovnice reakcí je samozřejmě čistě schematická, ve skutečnosti tvorba polypeptidů probíhá podstatně složitěji, viz dále). Řetězec polypeptidu je lineární, nerozvětvený, sestává ze za sebou řazených aminokyselin. Pořadí aminokyselin se označuje jako primární struktura polypeptidu. Řetězec samozřejmě není přímý, jednotlivé jeho části se organizují do více možných typů prostorové struktury (sekundární struktura) – nejčastější je spirálová struktura (α -šroubovice) nebo plochá struktura (β -list), které jsou stabilizovány vodíkovými můstky mezi kyslíky karboxylových zbytků a vodíky -NH- skupin (obr. 2). Nakonec segmenty polypeptidového řetězce zaujmou některou ze stabilních prostorových konformací. Prostorový trojrozměrný tvar proteinu (tercierní struktura) je určující pro jeho funkčnost. Utváří a stabilizuje se střídáním úseků s rozdílnou sekundární strukturou a vytvářením rozličných typů chemických vazeb (vodíkové můstky, méně často kovalentní vazby) mezi zbytky aminokyselin v různých částech řetězce. Některé proteiny jsou schopny zaujímat více stabilních prostorových konformací (alosterické proteiny) a v různých konformacích vykonávat rozdílné funkce. Oligomerní proteiny se skládají z více polypeptidových jednotek, jejich uspořádání se označuje jako kvarterní struktura proteinu (obr. 3).



Hydrogen bonds between amino acids at different locations in polypeptide chain α helix



Pleated sheet

Obr. 2 Sekundární struktura proteinů: α -šroubovice (nahore) a β -list (dolů).

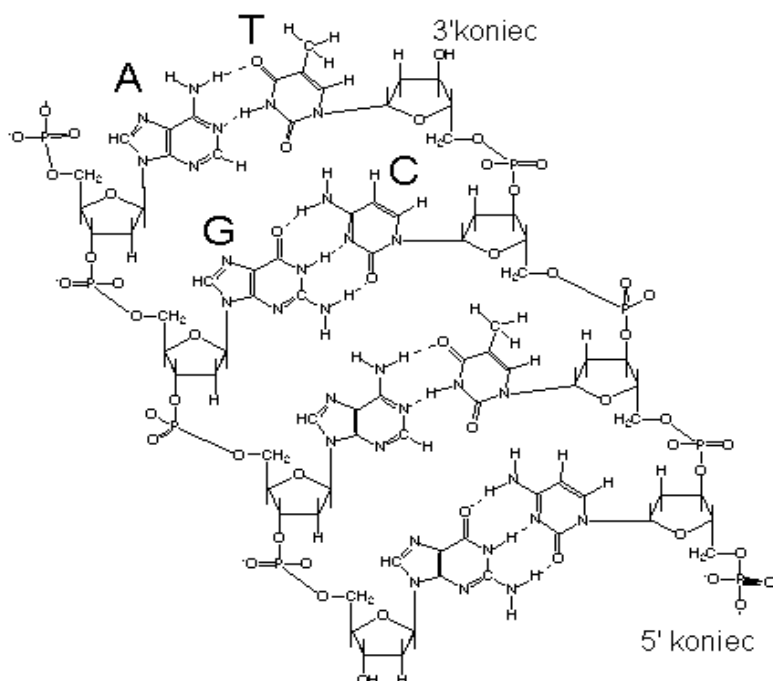
(http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2_03-18b.html)



Obr. 3 Kvartérní struktura proteinů: ribulozo-5-bifosfát-karboxyláza (RuBisCO; enzym vážoucí CO_2 při fotosyntéze, skládající se ze 2 typů polypeptidů: 4 velkých a 8 malých podjednotek). (http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2_03-18b.html)

Nositelem dědičné informace jsou u všech živých organismů molekuly nukleových kyselin. U převážné většiny organismů je to kyselina deoxyribonukleová (DNA), výjimku představují retroviry resp. RNA-viry (je zapotřebí připomenut, že viry nevykazují všechny znaky života, mnozí biologové je nepovažují za živé organismy), ve kterých je nositelem dědičnosti molekula kyseliny ribonukleové (RNA). I v případě retrovirů však dědičná informace musí být nejprve přenesena do molekuly DNA a až následně se může exprimovat do fenotypových znaků.

Nukleové kyseliny jsou organické makromolekuly, neporovnatelně větší než všechny ostatní organické polymery živých organismů. Nejdelší molekula DNA genetické výbavy člověka má celkovou délku 7 cm, celková délka 46 molekul DNA uložených v jádru lidské buňky je cca 1,8 m. DNA a RNA jsou nerozvětvené molekuly, sestávající ze stavebních kamenů označovaných jako nukleotidy (v případě DNA je terminologicky správný název 2-deoxynukleotid). Nukleotid se skládá z fosforylované pentozy (jednoduchý sacharid s 5 atomy uhlíku; u DNA 2-deoxyribóza, u RNA ribóza, na pozici 5' je navázaný fosfátový zbytek PO_4^-) a jedné ze čtyř heterocyklických organických bází (adenin, guanin, cytosin, u DNA thymin, u RNA uracil) (obr. 4). Pentozofosfátové molekuly vytvářejí kostru řetězce, na ně navázané báze představují písmena genetické „abecedy“, jejich pořadí (sekvence) na molekule DNA představuje zápis genetické informace analogicky jako je určený zápis informace v napsaném textu pořadím písmen latinské nebo jiné abecedy.



Obr. 4 Znárodnění chemické struktury úseku molekuly DNA

Box II Struktura nukleových kyselin

Označování nukleotidů v sekvencích je uvedeno v tab. 1. Pozice, které jsou tzv. konzervovány, tj. v dané sekvenci se na nich vyskytuje vždy konkrétní nukleotid, se označují prvními písmeny názvu báze (A, G, C, T, U), pozice variabilní v rámci populace, druhu nebo jinak definované skupiny jedinců jsou označovány jinými písmeny (tab. 1). Ve všeobecnosti společné označení pro báze, které jsou deriváty purinu (dvojitý cyklus: A, G) je Pu, společné označení pro deriváty pyrimidinu (jednoduchý cyklus: C, T, U) je Py. Zápis sekvencí nějakého genu nebo nekódujícího úseku u určité skupiny organismů ve tvaru např. 5'CGGAYTTAGVGGTCNCCTA3', znamená, že kromě tří pozic jsou ostatní konzervovány, na 5. pozici se vyskytuje jeden z pyrimidinových nukleotidů (C, T), na 10. pozici se vyskytuje adenin, cytosin nebo guanin, a na 15. pozici se může vyskytovat kterýkoli nukleotid (nebo nukleotid není možno určit). Délka sekvencí DNA se udává v bázevých párech (bp), tedy počtem dvojic nukleotidů. Sekvence, které jsou navzájem homologické, nemusí být úplně identické, ale mají společný původ, tedy vznikli diverzifikací stejné sekvence v genomu. Může jít o dvě sekvence umístěné ve fyzicky rozdílných molekulách DNA, ale i o sekvence pocházející z duplikace úseku v rámci stejné molekuly DNA.

Tab. 1 Označování nukleotidů v zápisu sekvencí nukleových kyselin

ozn.	Nukleotid	ozn.	Nukleotid	ozn.	nukleotid
A	adenin	R	A/G	B	C/G/T
G	guanin	Y	C/T	D	A/G/T
C	cytosin	K	G/T	H	A/C/T
T	tymin	M	A/C	V	A/C/G
U	uracil	S	G/C	N	A/G/C/T
		W	A/T		

V molekule pentozy je báze navázána na pozici 1', fosfátový zbytek na pozici 5' se navazuje na uhlík v pozici 3' předcházejícího nukleotidu (obr. 4). Molekuly nukleových kyselin jsou tedy prostorově orientovány. Syntéza řetězce probíhá vždy ve směru 5'→3', tj. volné nukleotidy se vždy navazují na hydroxylovou skupinu na 3' uhlíku na konci řetězce nukleové kyseliny. Molekula DNA je tvořena dvěma antiparalelně (protisměrně) probíhajícími řetězci, které jsou vzájemně vázány prostřednictvím vodíkových můstků mezi bázemi. Vzhledem na prostorové uspořádání elektricky nabitých funkčních skupin na molekulách báz se vodíkové můstky vytvářejí vždy mezi konkrétními dvojicemi báz: adenin se váže s thyminem dvěma vodíkovými můstky, cytosin s guaninem třemi (A=T, C≡G). Oba řetězce DNA jsou tedy přísně komplementární, pořadí bází v jednom z nich jednoznačně určuje pořadí bází ve druhém. Molekula RNA je tvořena pouze jedním řetězcem. Pokud se tento řetězec ohne, nukleotidy na něm se též dostávají do protisměrného postavení, což stejně jako u dvouřetězcové DNA umožňuje vytvoření vazeb mezi komplementárními bázemi na různých místech stejného řetězce (A=U, C≡G). Právě tvorbou těchto vazeb se utváří trojrozměrný tvar molekuly RNA, který je následně podmínkou její funkčnosti. Všechny jednořetězcové molekuly nukleových kyselin (RNA, jednořetězcová DNA) mají velmi silnou tendenci k párování nukleotidů – vodíkové vazby se vytvářejí spontánně. Pokud je dvouřetězcová DNA denaturována chemicky nebo vysokou teplotou (vodíkové můstky se naruší a řetězce se oddělí), na opětovnou renaturaci postačuje obnovení normálních podmínek. Pokud komplementární řetězec nebo jeho část není k dispozici, jednořetězcová molekula má silnou tendenci se prohnout a vytvořit vodíkové vazby mezi komplementárními (tedy vzájemně se

doplňujícími) místy v rámci stejného řetězce, co v případě RNA (jak bylo uvedeno) je podmínkou její funkčnosti, naopak v případě DNA její funkčnost (tedy schopnost uskladňovat a následně exprimovat genetickou informaci) naopak narušuje. Mimořádnou schopnost vzájemně komplementárních řetězců nukleových kyselin vyhledávat a párovat se využívají metody molekulární biologie a genetických manipulací.

DNA může existovat ve více prostorových konformacích, v živých buňkách je nejčastěji přítomna jako pravotočivá spirála, ve které jsou molekuly fosforylované deoxyribózy orientovány podél obou vláken, vytvářejících kostru této spirály, a nukleotidy jsou uspořádány v rovině kolmé na os spirály.

Celková genetická informace buňky (kódující i nekódující úseky) se označuje termínem genom. Velikost genomu a počet genů v jeho rámci závisí částečně od komplexnosti organismu, ale částečně je výsledkem evoluce genomu. Organismy se stejnou složitostí stavby těla mohou mít zásadně rozdílné velikosti genomu (tab. 2).

Tab. 2 Velikost genomu vybraných organismů

Organismus	Typ	Velikost genomu (bp)	Odhadovaný počet genů
Virus λ	viry	48500	50
<i>Escherichia coli</i>	bakterie	$4,6 \cdot 10^6$	4 300
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	houby	$1,3 \cdot 10^7$	6 200
<i>Aspergillus fumigatus</i>		$1,58 \cdot 10^7$	14 000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	živočichové	$9,7 \cdot 10^7$	19 000
<i>Drosophila melanogaster</i>		$1,8 \cdot 10^8$	13 600
<i>Mus musculus</i>		$2,7 \cdot 10^9$	22-30 000
<i>Homo sapiens</i>		$2,9 \cdot 10^9$	28-35 000
<i>Protopterus aethiopicus</i> ¹		$1,3 \cdot 10^{11}$	
<i>Arabidopsis thaliana</i>	rostliny	$1,25 \cdot 10^9$	25 500
<i>Populus trichocarpa</i>		$4,85 \cdot 10^8$	45 000
<i>Zea mays</i>		$2,2 \cdot 10^9$	42-56 000
<i>Triticum aestivum</i>		$1,6 \cdot 10^{10}$	107 000
<i>Pinus sylvestris</i>		$2,5 \cdot 10^{10}$	30 000
<i>Psilotum nudum</i> ²		$2,5 \cdot 10^{11}$	

¹největší známý živočišný genom, ²největší známý rostlinný genom

Ně všechny nukleotidy v řetězci DNA mají informační význam. Sekvence, které jsou exprimovány do fenotypových znaků, představují u mnohobuněčných eukaryot jen zlomek z celkové délky DNA (tab. 3). Součástí genomu jsou především různé typy repetitivních sekvencí (sekvencí opakujících se ve velkém počtu kopií). Jejich podstatnou část tvoří transpozibilní elementy (transpozony), které představují „molekulární parazity“, pravděpodobně původně viry (RNA viry u retrotranspozonů, DNA viry u DNA transpozonů), které se v průběhu evoluce zabudovali do genomu hostitele. Jsou schopny přesouvat se na nová místa v genomu a množit se, a obsahují geny, které jim přesun a množování umožňují (počet transpozonových genů často několikanásobně převyšuje počet vlastních genů organismu, viz tab. 3). Známy je například element *mariner*, který se vyskytuje u většiny živočichů včetně člověka (v lidském genomu se počet kopií odhaduje na 14 000 s celkovou délkou 2,6 Mbp) a dokonce i u některých prvků. Další skupinu repetitivních sekvencí představují tandemové opakování krátkých sekvencí (minisatelity a mikrosatelity).

Narozdíl od vodíkových můstků vážoucích navzájem řetězce nukleových kyselin jsou kovalentní vazby v rámci nukleotidů resp. mezi za sebou následujícími nukleotidy podstatně energeticky náročnější a tedy pevnější, není možné je štěpit jinak než enzymaticky. Enzymy štěpící nukleové kyseliny se označují jako nukleázy (DNÁza, RNÁza).

Pro kopírování a expresi dědičné informace potřebuje buňka molekulární aparát. Jeho podstatnou část tvoří dva typy biokatalytických molekul: RNA a proteiny. Komplexy RNA a bílkovin jsou zpravidla obrovské a tvoří často útvary viditelné mikroskopem (např. ribozomy). Zpravidla zajišťují fundamentální funkce jako je sestřih DNA a překlad (viz dále). Dílčí katalytické funkce vykonávají specializované enzymy. S procesy, souvisejícími s dědičností, je spojena zejména aktivita nukleáz (enzymy štěpící DNA), polymeráz (enzymy katalyzující syntézu řetězce nukleových kyselin), ligáz (enzymy spojující přerušena místa řetězců DNA), topoizomeráz (enzymy rušící spirálovou strukturu DNA), helikáz (enzymy štěpící vodíkové můstky mezi řetězci DNA nebo v DNA-RNA komplexech) a dalších. Některé molekuly RNA jsou také schopny vykonávat katalytické funkce (ribozomy).

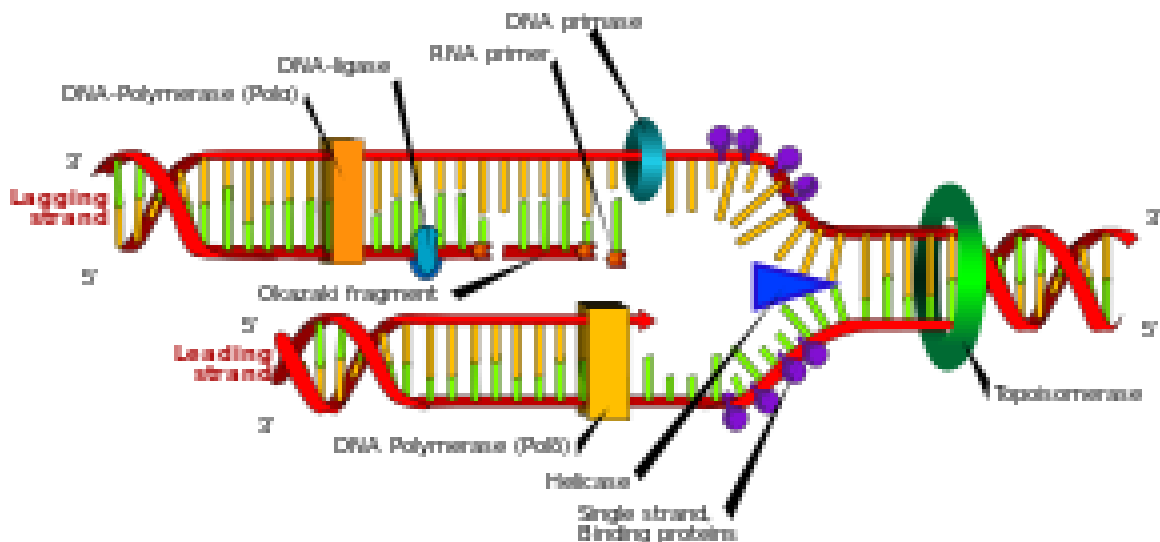
Tab. 3 Charakteristika genomu smrku ztepilého (*Picea abies* KARST.) (NYSTEDT et al. 2013)

Charakteristiky genomu	
Velikost haploidního genomu	19,6 Gbp
Karyotyp	2n = 24
Obsah párů GC	37,9%
Podíl repetitivních sekvencí	
LTR retrotranspozony, z toho	
<i>Gypsy</i>	35%
<i>Copia</i>	16%
ostatné	7%
LINĚ retrotranspozony	1%
DNA transpozony	1%
Ostatní	10%
Podíl sekvencí genů	2,4%
Anotace genomu	
Počet genů	28354
Podíl genů s introny s délkou >5 kbp	8,4%
Průmerná délka exonů	312 bp
Průmerná délka intronů	1017 bp
Průmerná hustota genů	1,418 Mbp ⁻¹
Transpozonové geny	284587
Nekódující lokusy	
dlouhé nekódující RNA (lncRNA)	
specifické	13031
konzervované	9686
mikro RNA (miRNA)	2719

DNA představuje kompletní „návod“ pro všechny buněčné funkce a (v případě mnohobuněčných organismů) z něho vyplývající stavební plán pro organismus. Všechny buňky tedy musí obsahovat jeho identickou verzi. Mnohobuněčné organismy rostou primárně prostřednictvím dělení buněk (a jednobuněčné organismy se touto cestou množí), proto se před rozdělením musí všechny molekuly DNA v mateřské buňce identicky nakopírovat tak, aby dcerské buňky mohly obdržet po jedné kopii. Tento proces kopírování se označuje termínem replikace. Výsledkem replikace DNA není dvojice molekul originál – kopie, ale dvě molekuly tvořené jedním originálním a jedním nověsyntetizovaným řetězcem; tento mechanismus se označuje jako semikonzervativní replikace.

Box III Replikace DNA

Proces replikace začíná na specifickém místě chromozomu, označovaném jako *origin* (u prokaryotů je spravidla jediný, na dlouhých chromozomech eukaryot jsou počátku řádově stovky až tisíce) a řídí ho komplex enzymů (topoizomeráza, helikáza, přimáza, DNA-polymeráza, ligáza), který nejprv odvíjí spirálovou strukturu DNA, přeruší nízkoenergetické vodíkové vazby, spojující oba řetězce původní molekuly DNA, na oba řetězce připojí krátký oligonukleotid RNA označovaný jako primer (do 60 nukleotidů u prokaryotů, cca 10 u eukaryot), který slouží jako východisko syntézy druhého řetězce, a následně syntetizuje druhý řetězec postupným připojováním nukleotidů kovalentní vazbou odštěpením hydroxylové skupiny na 3'-uhlíku posledního nukleotidu nového řetězce. Oba původní řetězce jsou navzájem komplementární (A=T, G≡C) a do novětvářených řetězců se tedy mohou zařadit pouze nukleotidy, které jsou komplementární k původním. Proto tímto způsobem vznikají dvě úplně identické molekuly, ve kterých vždy jeden řetězec je původní a druhý je nově doplněný; obě jsou tedy z poloviny originálem a z poloviny kopií. Syntéza molekuly DNA probíhá vždy ve směru 5'→3', původní řetězce jsou však orientovány protisměrně. Proto může syntéza jednoho z nových řetězců probíhat kontinuálně od jediného primeru (*leading strand*), ale druhý řetězec je syntetizován v krátkých fragmentech (Okazakiho fragmenty) ve směru proti pohybu replikační vidlice od postupně přidávaných RNA primerů. RNA primery jsou následně odbourané exonukleázovou aktivitou DNA polymerázy, nahrazené DNA nukleotidy, a fragmenty jsou následně spojovány ligázou (*lagging strand*).



Obr. 5 Schéma semikonzervativní replikace DNA. Bílý – původní řetězec, černý – nově doplňovaný řetězec (<http://www.genome.gov>, upravené)

Expese genu

Gen představuje jen úsek na molekule DNA. Ještě od časů T.H. Morgana, který formuloval chromozomovou teorii dědičnosti, se tradovala představa, že geny jsou uspořádány za sebou bez vzájemného překryvu. Gen byl tedy považován nejenom za funkční jednotku dědičnosti, ale i za základní strukturální jednotku dědičné materie. Novější výzkum tuto představu zpochybnil: u virů se prokázalo, že geny se mohou překrývat, dokonce jeden gen

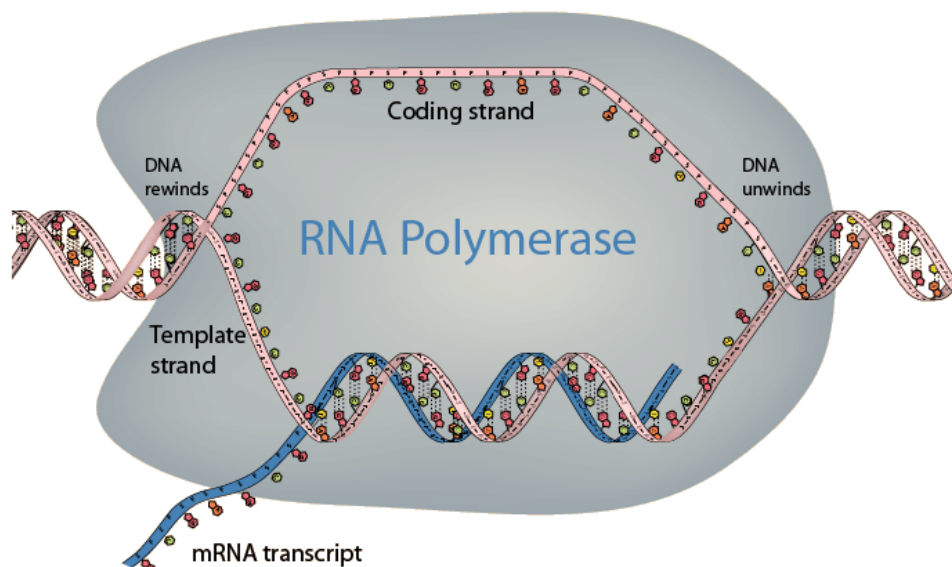
může být umístěn v rámci jiného. U eukaryot (ke kterým patří všechny makroskopické organismy, tedy rostliny, houby a živočichové) geny zpravidla nejsou souvislé. V jejich rámci se střídají kódující úseky (exony), které jsou přestřídány nekódujícími úseky (introny). Součástí genu je i regulační oblast, předřazená před 5' koncem genu, která určuje, kdy se gen má začít exprimovat, a nepřekládaná oblast za 3'-koncem. Mechanismy regulace aktivity genů jsou při vyšších organismech složité, podílejí se na nich např. hormony a jiné látky.

Proces vedoucí od informace uložené v DNA po hotový produkt, který určuje fenotypový znak kontrolovaný genem, se označuje termínem exprese. Exprese genu probíhá přes dvě stadia (obr. 6). Prvním je transkripce (přepis), tj. přenos dědičné informace z DNA do molekuly RNA. Transkripce probíhá tam, kde jsou umístěny molekuly DNA, tj. v jádru, mitochondriích, u rostlin i v chloroplastech. Při tomto procesu se nově syntetizuje řetězec RNA na principu komplementarity s přepisovaným úsekem DNA: nukleotidy jsou za sebou řazeny ve stejném pořadí, v jakém jsou uspořádány v kódujícím řetězci DNA. Transkripční vznikají prekuzory, které jsou následně upravovány na různé typy informačních nebo funkčních molekul RNA: mediátorové RNA (*messenger RNA*; mRNA), transferové (*transfer RNA*; tRNA), ribozomální (*ribosomal RNA*; rRNA) a malé jaderné (*small nuclear RNA*; snRNA). Transkripční vlastní specifických úseků DNA nebo z vystřižených intronů vznikají krátké řetězce, označované jako mikroRNA (*microRNA*; miRNA), které mohou interferovat s DNA i mRNA a sehrávají roli v regulaci aktivity genů.

Box IV Transkripce a posttranskripční úpravy RNA

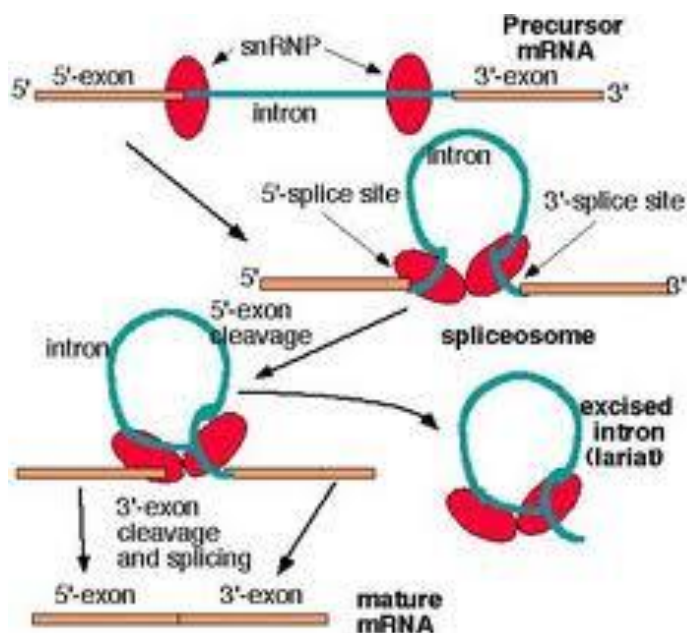
Iniciaci transkripce umožňuje navázání transkripčního faktoru na sekvenci v regulační oblasti genu s průměrnou délkou cca. 10 bp (5–30 bp). Táto délka sekvence vážoucí transkripční faktor je výsledkem optimalizace (*trade-off*) s ohledem na potřebu specifity (transkripční faktor se musí vázat výlučně v regulační oblasti genu, za regulaci kterého odpovídá, jinak by spouštěl expresi jiných genů, než je jeho úkolem) a stability (nízká frekvence mutací). S narůstající délkou vážoucí sekvence narůstá specifita (snižuje se pravděpodobnost, že se stejná sekvence náhodně vyskytne v genomu víckrát), ale klesá stabilita (narůstá možnost změny sekvence v důsledku mutace a tedy znemožnění navázání transkripčního faktoru).

Transkripci zajišťuje enzym RNA-polymeráza, který je komplexem 5 polypeptidů, ze kterých každý má při přepisu jinou funkci. Při transkripci se řetězce DNA od sebe odpojí (jak již bylo zmiňováno, jsou navzájem vázány pouze vodíkovými můstky, takže na jejich rozpojení není zapotřebí velká energie) a k jednému z nich (templátový neboli antikódující řetězec) začne RNA-polymeráza připojovat komplementární nukleotidy. Pořadí nukleotidů v RNA je tedy přesně stejné jako v druhém (kódujícím) řetězci DNA s tím rozdílem, že na místě thyminu v kódujícím řetězci DNA obsahuje řetězec RNA uracil. Produktem transkripce je tzv. primární transkript, který zejména u eukaryot může být předmětem dalších úprav. Primární transkript obsahuje přepsané exony i introny. Směs primárních transkriptů v jádru eukaryotické buňky se označuje jako heterogenní jadrová RNA (*heterogeneous nuclear RNA*; hnRNA).



Obr. 6 Transkripce

Složitým procesem sestřihu jsou introny z primárního transkriptu vystříhnuty a exony pospájeny do jednoho celku. 5'-konec je ukončen molekulou 7-metylguanosu a na 3'-konec se připojuje polyadenylový řetězec (řádově desítky adenosinových nukleotidů), který je „identifikačním znakem“ mediátorové RNA. U prokaryotů (bakterií, archebakterií) DNA zpravidla neobsahuje introny, takže produktem transkripce je přímo mRNA. Sestřih vykonává útvar označovaný jako spliceozom (z angl. *splicing* = sestřih), který je komplexem proteinů a dalšího typu molekul RNA, které se označují jako malá jádrová RNA (snRNA). Tyto ribonukleoproteiny se navážou na prekurzorovou RNA na obou stranách intronu, přeruší řetězec RNA na obou místech, oddělené konce exonů spojí a z vystříženého intronu utvoří smyčkovitý útvar, který je následně odbourán.



Obr. 7 Sestřih

Druhým stadiem exprese genu je translace (překlad), tj. přenos dědičné informace z mRNA do molekuly polypeptidu, která tvoří základ bílkovinné (proteinové) molekuly. Molekula mRNA je přenesená přes póry jádrové membrány do cytoplazmy, kde se na ni navážou ribozomy. U prokaryotů jsou lokalizovány volně v cytoplazmě, u eukaryot je většina navázána na membrány endoplazmatického retikula. Při překlada ribozom funguje analogicky jako čtecí hlavice, která čte a “překládá” genetickou informaci z mRNA, která se přes ni přesouvá, po trojicích nukleotidů. Jedna trojice (kodon nebo triplet) určuje zařazení konkrétní aminokyseliny do vznikajícího polypeptidového řetězce.

Box V Translace

Na procesu translace se účastní tři typy molekul RNA, které při ní zajišťují odlišné funkce. Buněčným útvarem, který translaci vykonává, je ribozom, tvořený z cca 2/3 nukleovou kyselinou (u eukaryot jde o 5 různých molekul rRNA) a z 1/3 proteiny (~50 molekul), se dvěma podjednotkami. Velikost těchto podjednotek je kvantifikována na základě sedimentační rychlosti ve Svedbergových jednotkách ($1S=10^{-13}s^{-1}$); sedimentační rychlost závisí od velikosti a tvaru, tedy Svedbergove jednotky nejsou aditivní (součet velikostí podjednotek nedává velikost ribozomu). Mitochondrie a chloroplasty mají vlastní ribozomy, jejichž velikost je stejná jako u prokaryotů; překlad genů těchto organel probíhá přímo v nich.

Dalším typem RNA molekul je transferová RNA, která vykonává funkci „dodavatele materiálu“ pro syntézu polypeptidu. tRNA má sekundární strukturu podobnou jetelovému trojlístku, terciární (trojrozměrná) struktura je uzavřenější (obr. 8). Na konci akceptorového ramene tRNA je navázána aminokyselina a ve středu antikodonového ramene je umístěna rozeznávací sekvence – antikodon. Spárování správné aminokyseliny se správným antikodonem tRNA zajišťují enzymy, které katalyzují připojení aminokyselinového zbytku (aminoacylu) k tRNA – aminoacyl-tRNA-syntetázy. Pro každou aminokyselinu (s výjimkou selenocysteinu, jenž vzniká následnou chemickou úpravou serylu na selenocysteyl po jeho navázání na tRNA) existuje specifická aminoacyl-tRNA-syntetáza, jejíž vnitřní struktura umožňuje navázání pouze specifických tRNA a jediné specifické aminokyseliny.



Obr. 8 Sekundární (vpravo) a terciární (vlevo) struktura tRNA. Antikodon (rozeznávací sekvence tRNA) se nachází na antikodonovém rameni (střední smyčka ve spodní části obrázku), aminokyselina je vázána na 2- nebo 3-uhlík ribózy posledního nukleotidu v akceptorovém rameni („stonek“ molekuly) (<http://www.explorebio.wikispaces.com>, upraveno)

Posledním, nejdůležitějším typem RNA, účastnícím se na translaci, je mRNA, která nese informaci pro syntézu polypeptidu. V ribozomu jsou tři vazební místa: aminoacylové místo (A-místo), do kterého vstupuje aminoacyl-tRNA (aa-tRNA), peptidylové místo (P-místo), na kterém se aminocylový zbytek odpojuje od tRNA a připojuje k polypeptidovému řetězci, a výstupní místo (E-místo), ze kterého tRNA zbavená aminoacylového zbytku opouští ribozom. Na mRNA se navazuje malá podjednotka ribozomu prostřednictvím specifické sekvence nebo prostřednictvím iniciačních faktorů vázaných na 7-methylguanidinovou čepičku mRNA. Překlad začíná vytvořením iniciačního komplexu, v němž je v peptidylovém místě umístěna iniciační trojice bází 5' AUG, kódující methionin (u bakterií modifikovaného na formylmethionin) a aminoacylovým místem prochází další kodon. Do A-místa vstupuje další aa-tRNA. Na kodon se může připojit pouze taková aa-tRNA, která má přísně komplementární antikodon, pouze v tomto případě dojde k vytvoření vodíkových můstků mezi mRNA a aa-tRNA v A-místě. Následně dojde k odpojení aminoacylového zbytku od tRNA v P-místě a jeho navázání na tRNA-peptidylový komplex v A-místě. Potom se ribozom posune na mRNA o další triplet, čímž se tRNA bez navázaného aminoacylového zbytku přesune z P-místa do výstupního E-místa, tRNA-peptidylový komplex z A-místa do P-místa a A-místo se uvolní pro vstoup další aa-tRNA.

Pořadí trojic nukleotidů (kodonů) v mRNA tedy určuje pořadí aminokyselin v polypeptidu, tzv. primární strukturu vznikající bílkoviny. Znaky genetického kodu jsou čtyři (A, C, G, U) a jejich trojice představuje kodon, genetický kód tedy poskytuje $4^3 = 64$ možných kombinací. Esenciálních aminokyselin je pouze 21. Genetický kód je tedy redundantní, různé triplety mohou kodovat stejnou aminokyselinu, přičemž jejich počet se může pohybovat od 1 (např. UGG – tryptofán) do 6 (UUPu, CUN – leucin). U mnoha tripletů rozhoduje o navázané aminokyselině jen první dvojice bází (od 3'-konce), třetí báze již nemá informační význam (tab. 4). Jak bylo zmíněno, jeden triplet (AUG) je iniciační, tj. signalizuje začátek translace. Překlad u eukaryot vždy začíná od tripletu AUG, který se nachází nejbližší k 5'-konci mRNA, proto polypeptidy vždy začínají methioninem, i když někdy je tato aminokyselina při posttranslačních úpravách z řetězce odštěpena. Tři triplety (UAA, UAG, UGA) jsou terminační (Stop-kodony), signalizují ukončení translace a odpojení produkované molekuly polypeptidu od ribozomu.

Čtení řetězce mRNA je nepřetržitě, pokud tedy dojde ke vsunutí nebo vypadnutí (insece/delece) jednoho nebo několika nukleotidů, změní se od místa mutace všechny triplety a tedy i všechny aminokyseliny zařazené do polypeptidu. Pokud dojde k bodové mutaci (záměně jednoho nukleotidu za jiný), změní se jen jedna zařazená aminokyselina, i to pouze v případě, že mutace není synonymní (tj. že původní a mutovaný triplet kódují různé aminokyseliny). Na jednu molekulu mRNA je navázáno zpravidla několik ribozomů současně, takže paralelně probíhá syntéza více identických polypeptidových molekul, a často (zejména u prokaryotů) současně začíná i degradace mRNA.

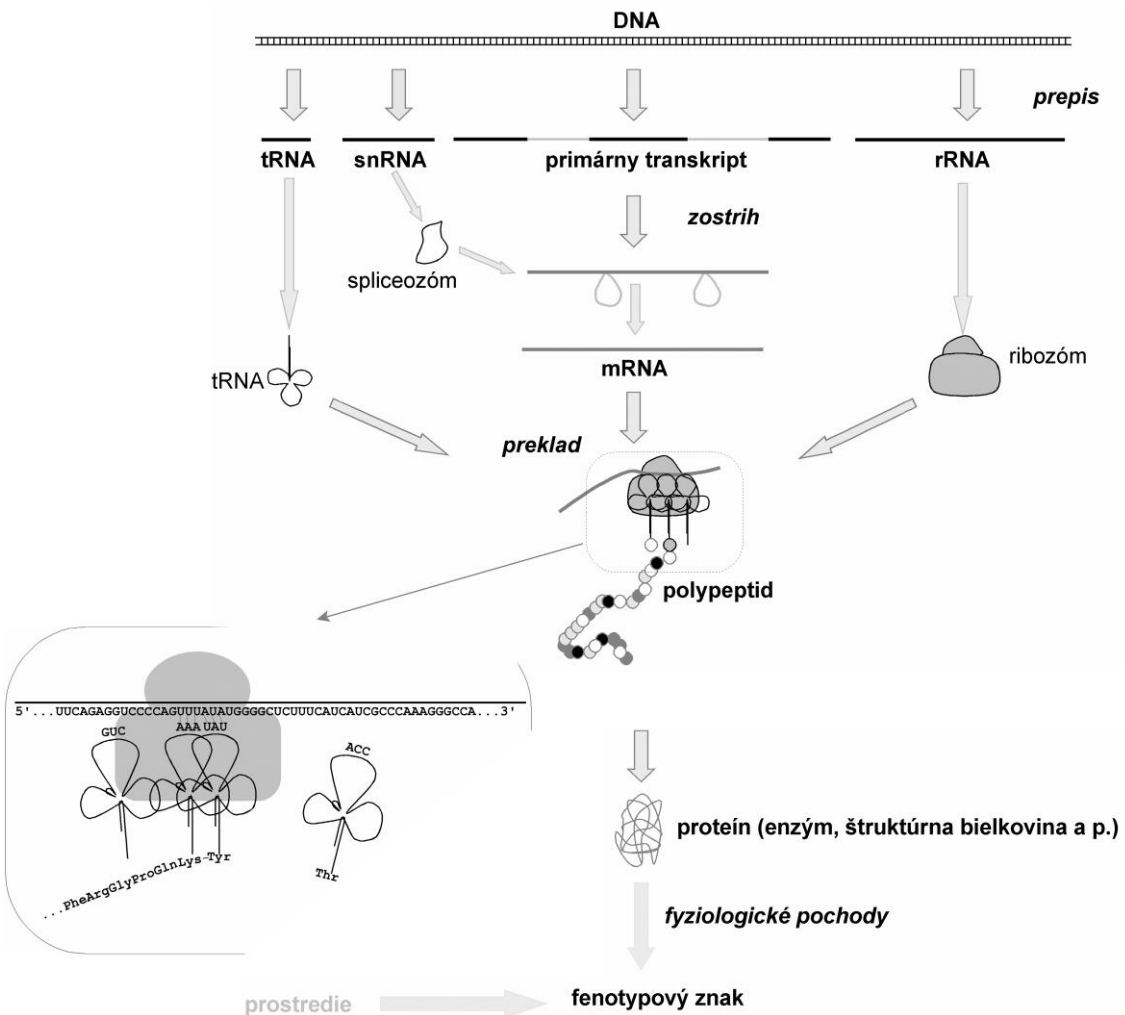
Genetický kód je univerzální, tedy funguje stejně u všech organismů. Bylo sice identifikováno množství výjimek (např. v mitochondriích obratlovců triplet UGA není terminační, ale kóduje tryptofan, naopak triplet AGA a AGG fungují jako stop-kodony), ovšem tyto výjimky platí vždy pro celou taxonomickou skupinu a uplatňují se zákonitě (tedy triplet UGA kóduje Trp v mitochondriích vždy a v jádru nikdy). Na úrovni translace tedy nemohou vznikat ze stejné předlohy rozdílné produkty, sekvence mRNA je vždy překládána stejným způsobem. Variabilita však může vznikat na úrovni sestřihu – ze stejného primárního transkriptu mohou být vytvořeny různé alternativní molekuly mRNA v důsledku zařazení resp. vynechání konkrétních exonů, což vede k vytvoření více rozdílných produktů (polypeptidů), odrážejících se na rozdílném fenotypu buněk.

Tab. 4 Genetický kod (kodony, odpovídající aminokyseliny, jejich třípísmenové a jednopísmenové skratky)

		Báza											
		2.											
1.	U			C			A			G			3.
U	UUU	Fenylalanín	Phe (F)	UCU	Serín	Ser (S)	UAU	Tyrozín	Tyr (Y)	UGU	Cystein	Cys (C)	U
	UUC	Fenylalanín		UCC	Serín		UAC	Tyrozín		UGC	Cystein		C
	UUA	Leucín	Leu (L)	UCA	Serín		UAA	term		UGA	term		A
	UUG	Leucín		UCG	Serín		UAG	term		UGG	Tryptofán		Trp (W)
C	CUU	Leucín	Leu (L)	CCU	Prolín	Pro (P)	CAU	Histidín	His (H)	CGU	Arginín	Arg (R)	U
	CUC	Leucín		CCC	Prolín		CAC	Histidín		CGC	Arginín		C
	CUA	Leucín		CCA	Prolín		CAA	Glutamín		CGA	Arginín		A
	CUG	Leucín		CCG	Prolín		CAG	Glutamín		CGG	Arginín		G
A	AUU	Izoeucín	Ile (I)	ACU	Treonín	Thr (T)	AAU	Asparagín	Asn (N)	AGU	Serín	Ser (S)	U
	AUC	Izoeucín		ACC	Treonín		AAC	Asparagín		AGC	Serín		C
	AUA	Izoeucín		ACA	Treonín		AAA	Lyzín		AGA	Arginín		A
	AUG	Metionín (ini)		Met (M)	ACG		Treonín	AAG		Lyzín	AGG		Arginín
G	GUU	Valín	Val (V)	GCU	Alanín	Ala (A)	GAU	Kys. Asparágová	Asp (D)	GGU	Glycín	Gly (G)	U
	GUC	Valín		GCC	Alanín		GAC	Kys. Asparágová		GCC	Glycín		C
	GUA	Valín		GCA	Alanín		GAA	Kys. Glutámová		GGA	Glycín		A
	GUG	Valín		GCG	Alanín		GAG	Kys. Glutámová		GGG	Glycín		G

ini – iniciačný kodon začína translaci, term – terminačný (STOP) kodon ukončuje translaci

kyslý zbytek
 bázičný zbytek
 polárný zbytek
 nepolárný zbytek
 term terminační kodon



Obr. 9 Schéma procesů spojených s expresí genu eukaryot

Jak bylo zmíněno, genetická informace určuje primární strukturu polypeptidu, tj. pořadí aminokyselin. Mezi aminokyselinami v rámci řetězce se však vytvářejí chemické vazby různých typů, kterými se utváří definitivní trojrozměrný tvar bílkovinné molekuly. Velmi pevná je kovalentní vazba mezi dvěma molekulami cysteinu (disulfidický můstek). Stejně se může vytvářet iontová vazba mezi místy na řetězci nabitými záporně (aminokyseliny s karboxylovým zvyškem $-\text{COOH}$, které ve vodním prostředí odštěpují vodík a jsou tedy nabity záporně $-\text{COO}^-$, např. kyselina glutámová nebo asparagová) a místy nabitými kladně (aminokyseliny s aminoskupinou $-\text{NH}_2$, které ve vodním roztoku přijímají vodík a jsou tedy nabity kladně $-\text{NH}_3^+$, např. arginin, histidin). Dalším typem vazeb jsou hydrofobní interakce mezi aminokyselinami s nepolárním alkylovým zbytkem (např. leucin, alanin, valin, izoleucin, glycin). Možnosti pro tvorbu těchto vazeb jsou určeny právě primární strukturou, která tedy určuje vlastnosti bílkovinné molekuly (tvar, velikost, elektrický náboj ve vodním prostředí) a tím i její funkčnost.

Některé polypeptidy podléhají dalším úpravám, vedoucím k syntéze výsledného proteinu. Mnohé proteiny jsou oligomérní (skladají se ze dvou nebo více polypeptidů, které mohou být produktem stejného genu nebo rozdílných genů), nebo jsou funkční pouze po navázání dalších organických molekul (sacharidů – glykoproteiny, lipidů – lipoproteiny atd.), kationtů kovů apod. Alternativní sestřih, alosterie (schopnost proteinů zaujmout různé stabilní prostorové konformace) a posttranslační úpravy vysvětlují obrovskou rozmanitost proteinů v živých organismech, která výrazně převyšuje počty identifikovaných genů a jejich alel.

Bílkoviny mají v živých organismech různé funkce. Zřejmě nejvýznamnější je funkce enzymatická (biokatalytická) – enzymy řídí všechny biochemické procesy. Proteiny řídí přenos látek přes buněčné membrány, podílejí se na stavbě buněk různých typů, slouží jako zásobní látky apod. Od genotypu jedince tedy závisí jeho proteinová výbava, která přes řízení biochemických procesů a stavbu těla (za spolupůsobení negenetických vlivů – prostředí) určuje utváření fenotypových znaků (obr. 9).

Úpravy DNA

DNA jako nositel dědičné informace může být poškozena jak v důsledku běžných metabolických procesů, tak i v důsledku vnějších faktorů. Většina poškození vzniká v důsledku chemické modifikace bází: oxidace zejména reaktivními formami kyslíka (ozón, peroxidy, superoxid), alkylace (nejčastěji metylace), hydrolýzy (deaminace, depurinace, depyrimidinace), adicí organických skupin atd. Reaktivní formy kyslíku mohou způsobit i zlom řetězce. Část mutací vzniká v důsledku chybného párování bází při replikaci. K vnějším faktorům vyvolávajícím poškození DNA patří krátkovlnné elektromagnetické záření (v principu každé záření s vlnovou délkou kratší než má viditelné světlo, je mutagenní, tedy UV, rtg, γ záření), korpuskulární záření, vysoké teploty, některé rostlinné a houbové alkaloidy, těžké kovy a celá řada uměle vyráběných látek (polycyklické aromatické uhlovodíky, alkylační činidla atd.). Za přirozené biologické „mutageny“ v jistém smyslu možno považovat některé viry.

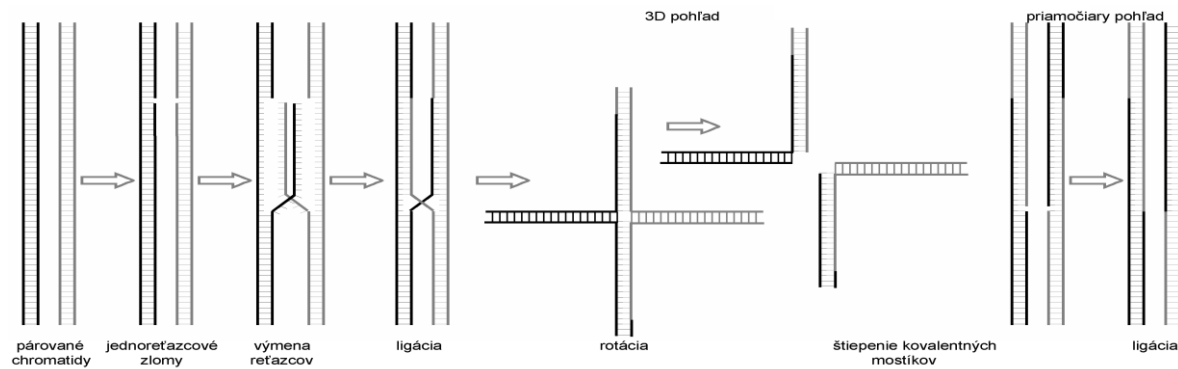
Buňky si vytvářejí reparační mechanismy, schopné vyhledávat a opravovat poškození DNA. Existuje celá řada těchto mechanismů, závisících od typu poškození: excizní mechanismy opravují chybné nebo chybně zařazené báze (vystřihnutí báze, nukleotidu, opravy párování), existují opravy jednořetězcových a dvouřetězcových zlomů apod. (viz podkapitola *Genové mutace*).

Schopnost buňky opravovat poškození DNA samozřejmě není neomezená, takže v buněčných liniích (klonech) vznikajících buněčným dělením se poškození nutně hromadí. Po překročení únosné úrovně buňka vstupuje do senescence (tedy přestává se dělit), je programovaně zlikvidovaná apoptozou (programovaná smrt buňky), nebo, v horším případě, začne se dělit nekontrolovaně a stává se rakovinnou buňkou.

Molekuly DNA tvořící chromatidy homologických chromozomů se při buněčném dělení mohou překřížit a vyměnit si vzájemně své části; tento mechanismus se označuje termínem crossing-over (viz *Struktura a buněčný cyklus eukaryotické buňky*) a díky němu se mohou rekombinovat i geny, umístěné na stejné molekule DNA. Existuje více mechanismů rekombinace, založených na jednořetězcových nebo dvouřetězcových zlomech.

Box VI Rekombinace molekul DNA

Nejčasteji akceptovaným mechanismem crossing-overu je Hollidayův model (obr. 10). Podle něho jsou po spárování homologických nesesterských chromatid nejprve endonukleázami vytvořené jednořetězcové zlomy na obou molekulách DNA. Následně helikázy a proteiny vázající se na jednořetězcovou DNA naruší vodíkové můstky mezi řetězci. Proteiny Rec-A donutí přerušené řetězce vyměnit si vzájemně pozici a spárovat se s příslušným komplementárním řetězcem nesesterské chromatidy. Pokud k přeručení řetězců nedošlo na přesně identických místech v obou nesesterských chromatidách, nukleotidy na nespárovaném úseku jsou vystříženy exonukleázou a řetězce jsou reparovány DNA polymerázou. Vyměněné řetězce jsou následně zaceleny s původnou molekulou DNA ligázou. V tomto stadiu chromatidy vytvářejí útvar ve tvaru X, který je následně rozpojen přeručením kovalentních vazeb v rámci protilehlých templátových řetězců endonukleázou a takto vytvořené zlomy jsou zaceleny ligázou.



Obr. 10 Schéma mechanismu rekombinace založeného na jednořetězcových zlomech

Cytologické základy dědičnosti

Struktura a buněčný cyklus prokaryotické buňky

Buňka prokaryotů (archeí a bakterií) je relativně jednoduchý útvar. Nemá diferencované jádro ani organely (v tom smyslu, jak je má eukaryotická buňka), kruhová molekula DNA (tzv. bakteriální chromozom, nukleoid) je volně uložena v cytoplazmě. Kromě ní se v buňkách prokaryotů často nacházejí malé kruhové molekuly DNA, plazmidy, které jsou také nositeli dědičné informace. Cytoplazma není rozdělena na kompartmenty, je obklopena lipidovou buněčnou membránou a buněčnou stěnou, která je při bakteriích tvořena mureinem (peptidoglykán; komplex polysacharidů a specifických proteinů), u archeí pseudomureinem (také polysacharidovo-proteinový komplex s mírně odlišnou chemickou strukturou).

Buněčný cyklus prokaryotů, kteří jsou zpravidla jednobuněční (i když někteří vytvářejí kolonie, např. cyanobakterie nebo myxobakterie, a u některých dochází v rámci kolonií i k částečné diferenciacii buněk) je relativně jednoduchý. Prokaryotické buňky rostou až do dosažení kritické velikosti. Následně replikují svou DNA: replikace začíná na specifickém místě na chromozomu (lokus *ori*), ve kterém je molekula DNA přichycená na plazmatickou membránu. Syntéza plazmatické membrány probíhá paralelně s replikací, fosfolipidové molekuly doplňované mezi oba lokusy *ori* s postupící replikací odtahují dceřiné molekuly k opačným pólům buňky. Buňka se potom fyzicky rozdělí vytvořením dělicí přepážky (septum; buněčná membrána a buněčná stěna). Cytokinéza začíná vchlípením plazmatické membrány po obvodu buňky, přičemž nově syntetizovaný materiál septa je postupně přidáván v rovině buněčného dělení. Tento proces se označuje jako binární dělení. Druhým mechanismem je pučení: na jednom konci mateřské buňky se vytvoří pupen, který postupně narůstá, a když doroste do velikosti mateřské buňky, oddělí se.

Struktura a buněčný cyklus eukaryotické buňky

Ve srovnání s prokaryotickou buňkou je buňka eukaryot komplikovanější a vysoce organizovaný útvar, charakterizovaný odděleným jádrem, obsahujícím největší část dědičné materie. Je vnitřně rozdělena na kompartmenty a obsahuje množství organel, tedy relativně samostatných vnitrobuněčných útvarů se specializovanými funkcemi. Některé z těchto organel jsou (semi)autonomní, tedy nesou vlastní genetickou informaci (i když v průběhu evoluce se část genů souvisejících s aktivitou organel přesunula do jádra, tj. existence organel je závislá na spolupráci s jádrovými geny) a jsou schopné autoreprodukce: nevznikají *de novo*, ale dělením existujících organel.

Zvenčí je buňka ohraničena plazmatickou membránou, na kterou při některých eukaryotech ještě navazuje buněčná stěna. U rostlin je buněčná stěna tvořena především polysacharidy (celulóza, hemicelulózy, pektin), ve dřevnatých částech rostlin je prostoupena ligninem. U hub je základní složkou buněčné stěny chitin (s výjimkou kvasinek, kde je tvořena polysacharidy). Živočišné buňky nemají buněčnou stěnu, ale často vytvářejí mezibuněčnou hmotu, zpravidla tvořenou proteiny (kolagen, nektiny) a bílkovino-polysacharidovými komplexy (proteoglykány).

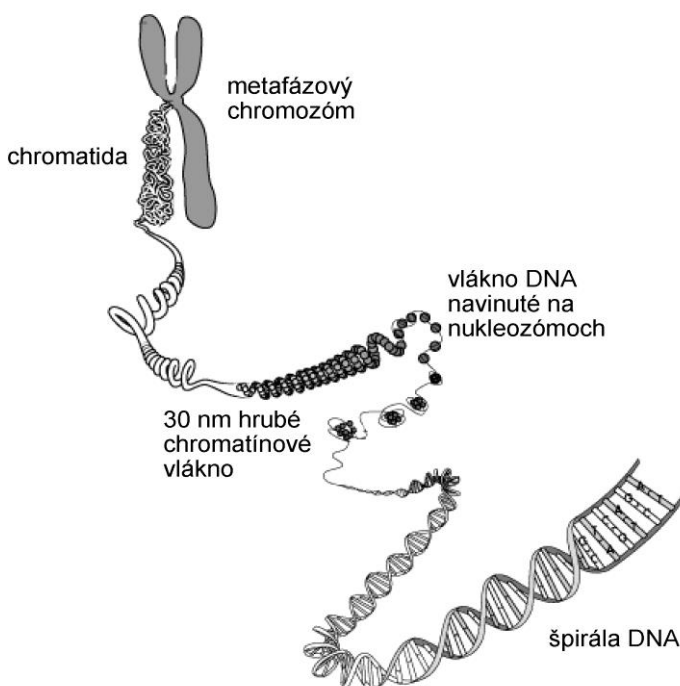
Buněčné membrány (jak vnější plazmatická membrána buňky resp. obal autonomních organel, tak i vnitřní membrány) jsou tvořeny lipidovou dvouvrstvou. Většina látek není přes ně přenášána pasivně, ale přenos zajišťují proteinové kanály, které jsou v nich vbudovány. Vnitřní membrány utvářejí bohatě rozvětvený systém uzavřených útvarů (cisteren), především Golgiho aparát, funkcí kterého je posttranslační úprava proteinů a jiných makromolekul, endoplazmatické retikulum (tzv. drsné, nesoucí ribozomy, a hladké, podílející se na metabolismu lipidů a sacharidů a detoxikaci). Charakteristikou součástí rostlinných

buněk jsou vakuoly, centrální vakuola některých typů buněk vyplňuje většinu jejich obsahu. Z endoplazmatického retikula se odštěpují transportní váčky sloužící na transport proteinů a jiných látek do Golgiho aparátu nebo jejich export přes buněčnou membránu (exocytózu). Buňka obsahuje i orgány sloužící pro odbourávání nadbytečných látek – část těchto procesů probíhá u rostlin v lytických vakuolách, ale část zajišťují lysozomy a peroxizomy. Součástí každé eukaryotické buňky je cytoskelet, tedy vláknité struktury tvořené specifickými proteiny, tvořící vnitřní výstuž buňky a napomáhající při vnitrobuněčném transportu a buněčném dělení.

Mitochondrie jsou autonomní orgány s vlastní dědičnou informací, zajišťující aerobní respiraci a produkující ATP jako hlavní zdroj energie pro biochemické procesy. Další skupinu autonomních organel, která se vyskytuje jen v rostlinných buňkách (a u některých skupin jednobuněčných organismů) tvoří plastidy, především chloroplasty, vykonávající fotosyntézu. Autonomní orgány vznikly v evoluci z prokaryotických endosymbiontů (α -proteobakterií v případě mitochondrií, cyanobakterií v případě chloroplastů). Mají vlastní aparát pro expresi genů (ribozomy, tRNA), ale jsou závislé na proteinech syntetizovaných v jádru (neprodukují vlastní ribozomové proteiny, aa-tRNA syntetázy, iniciační a elongační faktory atd.).

Typickým znakem eukaryotické buňky je přítomnost jádra jako diferencovaného útvaru, odděleného od zbytku buňky jádrovou membránou a obsahujícího genetický materiál. DNA v jádru eukaryotických buněk není uložena volně. V předchozím textu byla zmíněna celková délka DNA tvořící nejdější chromozom člověka 8,5 cm – s takovou obrovskou makromolekulou by buněčný aparát nemohl zacházet. Vlákno DNA je ve skutečnosti prostorově organizováno do vyšších struktur až po úroveň kondenzovaného chromozomu, který lze při buněčném dělení vidět i světelným mikroskopem.

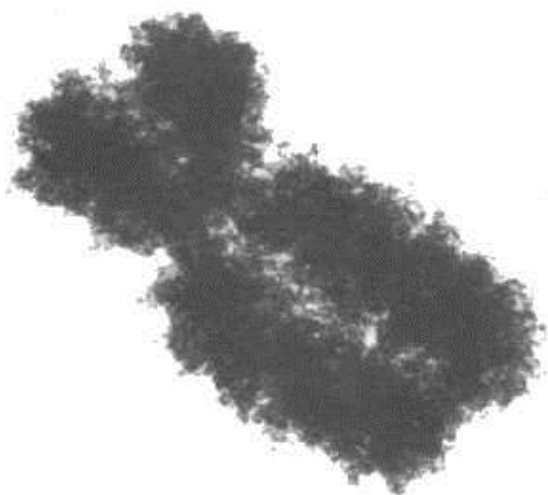
Box VII Struktura chromozomu



Obr. 11 Schematické znázornění úrovní kondenzace genetického materiálu od molekuly DNA po metafázový chromozom (<http://www.accessexcellence.org>, upraveno).

Vlákno DNA je navinuto na malé bílkovinné komplexy (nukleozomy) s průměrem 11 nm (nukleozom je složený z histonů, malých proteinových molekul; 8 molekul histonů vytváří nukleozom). Nukleozomy jsou následně spakovány (hyperspiralizovány) do 30 nm hrubého chromatinového vlákna. Chromatinové vlákno vytváří smyčky s délkou cca 300 nm, v jedné smyčce je cca 1000 nukleozomů. V této struktuře je molekula DNA uložena v jádru v období mezi dělením buněk (interfáze). Při dělení dále kondenzuje a ukládá se do útvaru, který má tloušťku cca 0,7 μm a délku řádově několik mikrometrů (obr. 11), a který označujeme termínem chromozom. Části DNA kódující aktivně přepisované geny jsou spakovány volněji a tvoří tzv. euchromatin, naopak neaktivní části jsou těsněji asociovány s podpůrnými proteiny a tvoří heterochromatin.

Každý chromozom má typickou strukturu, která souvisí i se strukturou DNA tvořící jeho základ. Pro pozorování pod mikroskopem se chromozomy barví Giemsovým barvivem, které se preferenčně váže na páry guanin-cytosin. Úseky bohaté na GC se při pozorování jeví jako tmavší proužky, úseky chudší na GC jsou světlejší. Uspořádání těchto proužků pomáhá při identifikaci chromozomů. Na chromozomu jsou pozorovatelné některé typické útvary. Konce chromozomů (teloméry) jsou tvořeny tandemově opakovanými neexprimovanými sekvencemi a chrání chromozom před postupným odbouráváním při každé replikaci. V rámci chromozomu se nachází úsek označovaný jako centroméra, který se jeví jako zúžené místo (primární konstrikce). Při buněčném dělení se molekula DNA musí replikovat, chromozom se v tomto stadiu skládá ze dvou sesterských chromatid, které zůstávají spojeny v centroméře až do dělení, chromozom má tedy tvar X (obr. 12). Centroméra dělí chromozom na dvě ramena, které mohou být přibližně stejné (metacentrický chromozom) nebo je centroméra umístěna v blízkosti teloméry (akrocentrický chromozom), případně na konci chromozomu (telocentrický chromozom).



Obr. 12 Snímek metafázového chromozomu elektronovým mikroskopem (<http://bioweb.wku.edu/courses/Biol115/wyatt/wku/mitosisa.htm>)

V jádru je rozeznatelný menší útvar označovaný jako jadérko. Je tvořeno tandemovými opakováními genů pro rRNA; v této části jádra dochází k přepisu těchto genů a k formování přepsané rRNA do subjednotek ribozomů, které jsou následně transportovány přes póry jaderné membrány do cytoplazmy, kde se buď uchyťávají na membrány endoplazmatického retikula, nebo jsou volně uloženy v cytoplasmě.

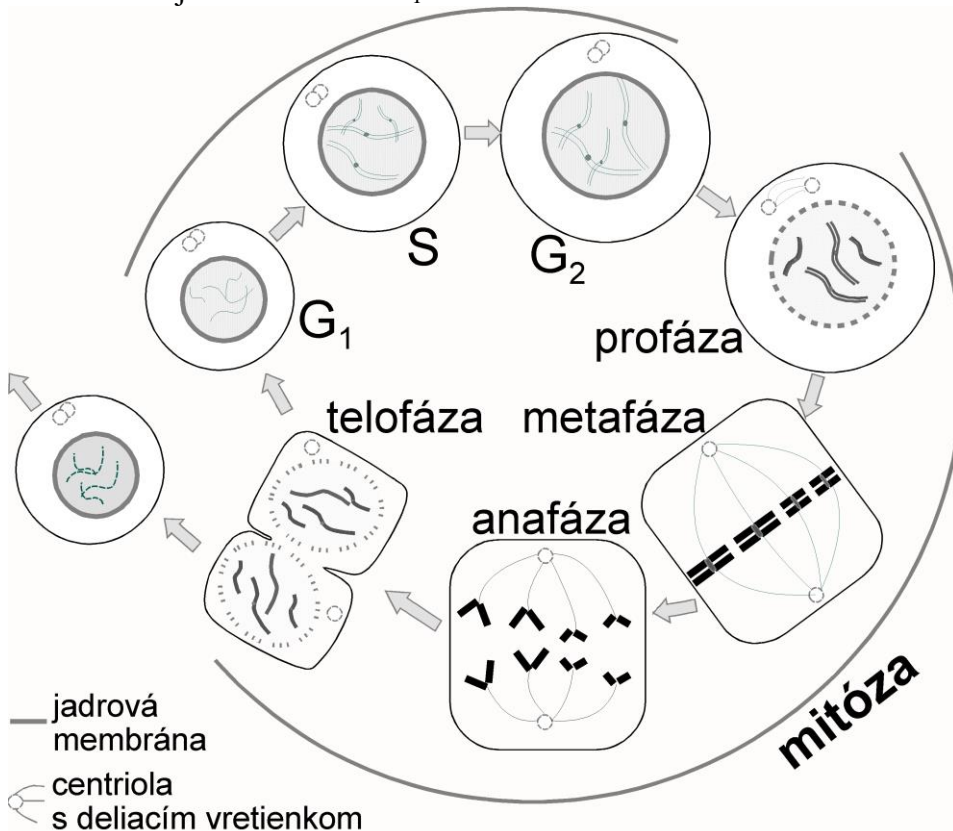
Počet chromozomů v jádru buňky určuje její ploidii. Somatické (tělové) buňky obsahují za normálních okolností dvě sady homologických chromozomů, jsou tzv. diploidní. Pokud kompletní sada obsahuje n chromozomů (tzv. haploidní počet), pak počet chromozomů

interkinetické somatické buňky je $2n$. Některé organismy vykazují odlišné stupně ploidie, podrobněji popsané v kapitole *Mutace*.

Růst organismu je nutně spojen se zvětšováním počtu buněk, což si vyžaduje jejich dělení, při kterém každá novovytvořená dceřiná buňka musí získat celou a nezměněnou dědičnou informaci, která byla obsažena v mateřské buňce. Takovéto rozdělení dědičného materiálu zajišťuje mechanismus dělení, označovaný jako mitóza.

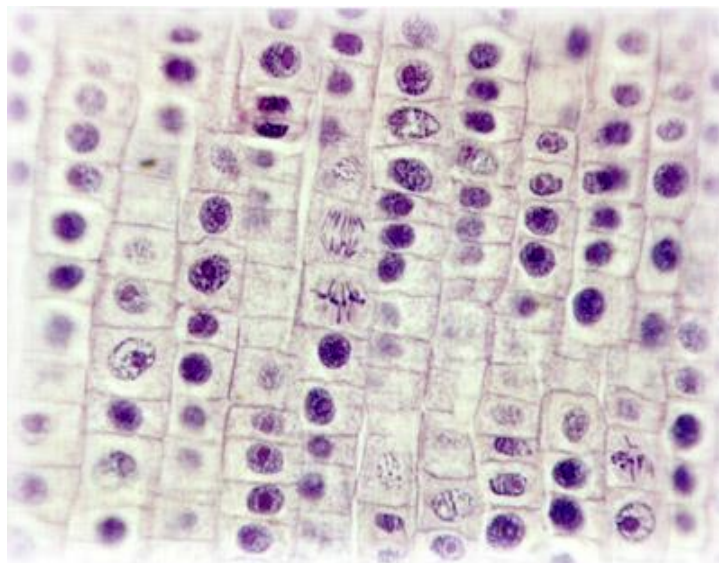
Box VIII Buněčný cyklus eukaryot

Buňka mnohobuněčných eukaryot v průběhu svého života prochází více fázemi (obr. 13). Stadium mezi dvěma mitotickými děleními se označuje jako interfáze nebo interkineze. Nové buňky vzniklé dělením nejprve rostou, tj. zvětšují svůj objem. Toto stadium se označuje jako G_1 (z angl. *gap*, tj. mezera). Během G_1 se v buňce syntetizují nové látky, dochází k expresi genů (především genů kódujících enzymy sloužící při replikaci DNA v následné fázi) a probíhá bouřlivá enzymatická aktivita nutná pro syntézu stavebních a dalších látek nutných pro život buňky. Následně buňka vstupuje do fáze S (*synthesis*), ve které dochází k syntéze nových molekul DNA, tedy k replikaci. Na konci S fáze se každý chromozom skládá ze dvou sesterských chromatid. Exprese genů je utlumená s výjimkou genů pro histony, nutné pro stabilizaci vytvořených dceřiných DNA molekul. Další fází interkinézy je G_2 fáze, v rámci které dále narůstá objem buňky a obnovená exprese genů opět zajišťuje intenzivní enzymatickou aktivitu podmiňující syntézu látek potřebných pro růst buňky. G_2 je ukončena mitózou. Schéma na obr. 13 neodpovídá časovému rozdělení buněčného cyklu – mitóza ve skutečnosti představuje časově krátký úsek, nejdelší část svého života je buňka ve fázi G_1 .



Obr. 13 Schéma průběhu eukaryotického buněčného cyklu. Zobrazení interfázových chromozomů je nutno brát pouze jako ilustrační, ve skutečnosti nejsou v jádru viditelné.

Mitotické dělení probíhá ve čtyřech fázích. Před dělením, v S-fázi, musí dojít k replikaci molekul DNA. Buňka je tedy dočasně tetraploidní, dvě nové dceřiné molekuly DNA tvoří dvě chromatidy, které zůstávají spojeny v oblasti centroméry. V interfázi jsou však chromozomy rozvinuty a není možno je morfologicky rozeznat. V první fázi mitózy, profázi, začínají chromozomy kondenzovat a vytvářejí se z nich identifikovatelné útvary. Zároveň se na pólech buňky začínají prodlužovat vlákna dělicího vřeténka. Na konci profázy se rozpadá jaderná membrána. V metafázi se chromozomy uspořádají do ekvatoriální („rovňkové“) roviny buňky a vlákna dělicího vřeténka se upnou na chromatidy v místě centroméry (zúžené místo na chromozomu, které ho dělí na dvě ramena). V této fázi jsou sesterské chromatidy stále spojeny v místě centroméry a chromozomy (vytvářející útvar v podobě písmena X, viz obr. 14) jsou nejlépe pozorovatelné. Popis struktury chromozomu po histochemickém barvení se zpravidla vztahuje právě na metafázové chromozomy. V anafáze se vlákna dělicího vřeténka začínají zkracovat, čímž táhnou každou ze dvojice sesterských chromatid k opačnému pólu buňky. V telofázi jsou kompletní sady chromozomů nahromaděny každá u opačného pólu buňky. Chromozomy se začínají opět despiralizovat a kolem nich se obnovuje jaderná membrána, čímž je ukončeno dělení jader. Následně během cytokinézy dochází k dělení cytoplazmy zformováním dělicí přepážky mezi jádry (lipidová membrána) a následně případným zformováním buněčné stěny (kromě živočichů). Počet chromozomů v buňce se tedy během buněčného cyklu mění $2n \rightarrow 4n \rightarrow 2n$. Autonomně se množící buněčné organely u rostlin, hub i živočichů se během cytokinézy (rozdělení buněk po ukončení mitotického dělení jader) rozdělí do obou dceřiných buněk náhodně, vzhledem k velkému počtu mitochondrií (v průměru 200) i chloroplastů (20–100) v buňce se prakticky s jistotou dostanou do obou dceřiných buněk. V nich se dále množí stejným způsobem jako jejich prokaryotické předchůdci: binárním dělením nebo pučením. Jednobuněčné eukaryoty často obsahují mitochondrie resp. chloroplasty pouze v jediném exempláři, jehož dělení je synchronizováno s buněčným cyklem. U mnohobuněčných organismů v principu neustále dochází k dělení nebo naopak fúzi mitochondrií, které vytvářejí dynamickou tubulární síť, ve které rovnováha mezi dělením a spojováním závisí od energetických potřeb buňky ve spojení s podmínkami prostředí.



Obr. 14 Snímek buněčného dělení v listovém parenchymu cibule (*Allium cepa*) (<http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artaug99/mitosis.html>)

V některých případech nedojde po dělení jader k cytokinéze, takže vznikají buňky s více jádry. Multinukleární buňky jsou běžné u hub, v některých tkáních živočichů (např. játra obratlovců), ale nachází se i v apikálních meristémech rostlin.

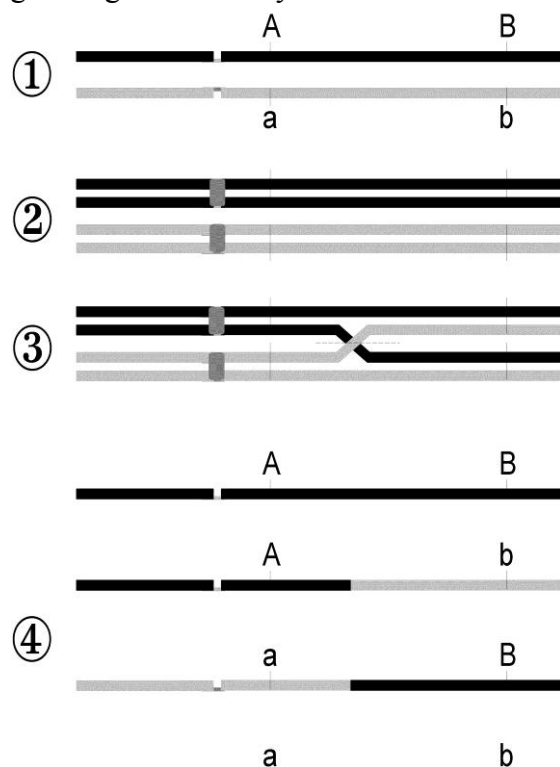
Ne všechny buňky organismu se trvale dělí. S postupnou diferenciací (tedy nabytím specifické funkce, kterou buňka v organismu plní) se schopnost dělení ztrácí a buňka (zpravidla) po ukončení G_1 nepokračuje fází S, ale vstupuje do klidového stavu (G_0). Ten nemusí být trvalý, některé buňky jsou schopny vrátit se do fáze G_1 a následně se opět dělit. Pokud je však buňka plně diferencovaná, přetrvává v senescentním stavu až do ukončení své životnosti apoptózou, tj. programovanou smrtí. Na rozdíl od nekrózy („násilná“ smrt buňky, při které dojde k desorganizovanému rozpadu buňky, přičemž uvolněný buněčný obsah může poškodit sousední buňky), apoptóza je zákonitým, energeticky náročným procesem, při kterém buňka řízeně likviduje vlastní proteiny (včetně enzymů, které by při uvolnění mohli způsobit poškození tkáně) a následně po rozpadu plazmatické membrány jsou její zbytky vstřebávány okolními buňkami.

Při vzniku gamet (pohlavních buněk) se na rozdíl od dělení somatických buněk množství genetického materiálu musí zmenšit. Pokud by gamety byly diploidní stejně jako somatické buňky, počet chromozomů v jádru by se každou reprodukcí exponenciálně zvětšoval ($2n \rightarrow 4n \rightarrow 8n \rightarrow 16n \rightarrow \dots$). Rozdělení dvojice chromozomových sad (diploidního počtu) na dvě haploidní sady v gametach zajišťuje mechanismus dělení buněk nazývaný meióza. Meióza představuje sled dvou dělení jádra s analogickým průběhem fází jako při mitóze. Redukce počtu chromozomů nastává při druhém dělení. Na rozdíl od mitózy, produktem které jsou dvě nové geneticky identické dceřiné buňky (mají stejný genotyp jaký měla mateřská buňka), meiozou se vytvářejí čtyři haploidní buňky, které nejsou geneticky identické (mají rozdílný haplotyp). Dvojice homologických chromozomů, které nesou stejné geny, ale mohou nést rozdílné varianty (alely) těchto genů, se při meioze rozcházejí do různých gamet; tento proces se označuje jako segregace chromozomů resp. genů při gametogenezi (obr. 15).

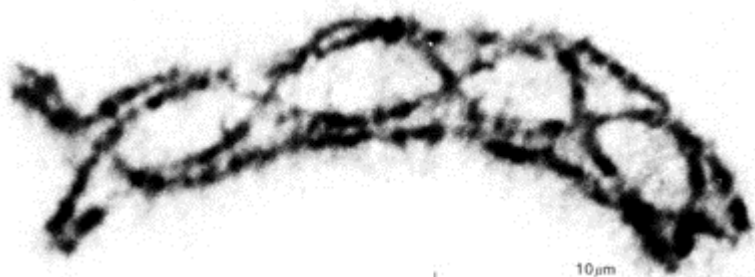
Box IX Meióza

Stejně jako při mitotickém dělení musí ještě v interkinézi dojít k replikaci DNA, opět se vytvoří dvě chromatidy navzájem spojené v centroméře. Profáze I je časově prodloužena a sestává z pěti stadií. V leptotému se chromozomy kondenzují, vytvářejí se z nich útvary viditelné v elektronovém mikroskopu. S pokračující spiralizací chromozomů nastává další stadium, zygotén, ve kterém se homologické chromozomy vzájemně párují. Tento proces spojování chromozomů se označuje jako synapse, a zpravidla ji zajišťuje tvorba proteinového spojovacího komplexu. Během synapse se chromozomy zmršťují do stále kratších a hrubších útvarů, které jsou viditelné v buňce během další fáze, pachytému. V tomto stadiu jsou už spárované chromozomy jasně rozeznatelné i ve světelném mikroskopu, vytvářejí útvar, složený ze dvou dvojic sesterských chromatid (tedy ze dvou homologických chromozomů), označovaný jako bivalent (odvozeno z počtu chromozomů) resp. tetráda (odvozeno z počtu chromatid). Během pachytému (a možná už v zygotému) se mohou nesesterské chromatidy překřížit, spojit, a navzájem si vyměnit části. Tento jev se označuje anglickým termínem *crossing-over* (čes. překřížení) a vede k rekombinaci alel na rozdílných homologických chromozomech (ke *crossing-overu* může dojít i mezi sesterskými chromatidami, ale tam nemá žádné genetické důsledky, protože sesterské chromatidy jsou identické, vznikly kopírováním stejné molekuly DNA). Překřížení je dobře viditelné během dalšího stadia profáze I, diplotému, během kterého se spárované chromozomy od seba trochu oddálí, ale zůstávají spojeny v místech, ve kterých došlo ke *crossing-overu*. Vzniklý útvar se

označuje terminem chiazma (vzhledem k tomu, že připomíná řecké písmeno chí – χ ; obr. 15, 14). V posledním stadiu profáze I, v diakinéze, chromozomy nadále kondenzují a pohybují se k ekvatoriální rovině buňky. Jádrová membrána se rozpadá a začíná se vytvářet dělicí vřeténko. V metafázi I se páry homologických chromozomů uspořádají do ekvatoriální roviny tak, že jejich centroméry směřují každá k opačnému pólu buňky. Tahem vláken dělicího vřeténka se chiazmy postupně od centroméry směrem k telomérům oddělují, k definitivnímu rozdělení dojde během anafáze I. Průběh telofáze I závisí od druhu, u některých organismů dělicí vřeténko zanikne, obnoví se jaderná membrána kolem obou dceřiných jader a chromozomy opět dekondenzují, u jiných se nová jádra nediferencují, chromozomy se despiralizují pouze částečně a dceřiné buňky přímo vstupují do dalšího dělení. V každém případě výsledkem I. meiotického dělení je vznik dvou dceřiných buněk, které jsou sice diploidní v tom smyslu, že obsahují dvě sady molekul DNA, ale jde o dvojice sesterských chromatid, tedy identických molekul DNA. Meióza II má průběh analogický jako mitóza. Během profáze II chromozomy opět kondenzují a připojují se k vláknům nového dělicího vřeténka, v metafázi II se uspořádají do nové ekvatoriální roviny (kolmé na původní), v anafázi II jsou sesterské chromatidy přitahovány každá k opačnému pólu buňky, a v telofázi II se shlukují při opačných pólech, dekondenzují a tvorbou jaderných a následně buněčných membrán se tvoří samostatné dceřiné buňky. Počet chromozomů v buňce během gametogeneze se tedy mění $2n \rightarrow 4n \rightarrow 2n \rightarrow 1n$.



Obr. 15 Schéma segregace a rekombinace genů při meióze. 1) dvojice homologických chromozomů v interkinéze diploidní zárodečné buňky (pylová mateřská buňka PMC nebo mateřská buňka zárodečného vaku ESMC). Jedinec je heterozygotní v genech *A* a *B*, které jsou ve vzájemné vazbě: obě dominantní alely (*AB*) se nacházejí na jednom chromozomu, obě recesivní alely (*ab*) na druhém. Pro názornost jsou homologické chromozomy a jejich části zobrazeny různými barvami. 2) Bivalent tvořený duplikovanými homologickými chromozomy (4 chromatidy) během zygoténu meiozy I. Chromatidy jsou spojeny v místě centroméry. 3) Diplotén meiozy I: dvě nesesterské chromatidy se překřížily mezi geny *A* a *B* a vyměnily si mezi sebou úseky od místa překřížení až po teloméry. 4) Stav po telofázi II: vznikly 4 haploidní buňky, ze kterých dvě mají původní konstelaci alel (*AB* a *ab*) a dvě rekombinovanou konstelaci (*Ab* a *aB*). Alely obou genů segregují do gamet v poměru 1:1, tj. 50% dceřiných buněk obsahuje dominantní alelu, 50% recesivní.



Obr. 16 Snímek spárovaných chromozomů během meiozy - chiazma

<http://www.scilproj.org/IBHbio2knowledge.html>

Chromozom se při meióze tedy nerozdělí na jednotlivé úseky, odpovídající jednotlivým genům, ale chová se jako jeden celek. Geny, které se na něm nacházejí, se proto nemohou volně kombinovat, ale chovají se jako jeden soubor. Tomuto jevu hovoříme vazba genů (angl. *linkage*), a soubor genů, nacházející se na stejném chromozomu se označuje jako vazbová skupina. Jedinou možností, jak se mohou geny na jednom chromozomu rekombinovat, je crossing-over. Dvojice nesesterských chromatid se mezi dvěma geny může překřížit i dvakrát; v tomto případě se obnoví původní (nerekombinovaná) konstelace alel. Stejně může dojít k vícenásobným překřížením mezi různými dvojicemi nesesterských chromatid v rámci tetrády. V každém případě pravděpodobnost, že mezi dvěma geny dojde ke crossing-overu je tím větší, čím dále od sebe se na chromozomu nacházejí. Tato skutečnost se využívá při mapování polohy genů na chromozomech. Místo na chromozomu, kde se konkrétní gen (nebo jiná nukleotidová sekvence) nachází, se označuje termínem lokus.

Chromozomová sada se naopak při dělení buněk jako celek nechová. Heterologické chromozomy se mohou při tvorbě gamet dostat do dceřiných buněk v libovolné kombinaci, proto se geny lokalizované na rozdílných chromozomech rekombinují volně. Při diploidních organismech (ke kterým patří většina hospodářsky významných dřevin i druhů lovné zvěře) je tedy počet možných kombinací chromozomů v gametach 2^n (kde n je velikost haploidní chromozomové sady). U buku nebo smrku, které mají haploidní počet chromozomů $n = 12$, je tedy i při zanedbaní možnosti rekombinace genů crossing-overem možnost vytvoření $2^{12} = 4096$ haplotypových kombinací v gametach, produkovaných jediným jedincem. U jelena, který má haploidní počet chromozomů $n = 34$, je to až $2^{34} = 17$ mld. kombinací.

2 DEDIČNOST FENOTYPOVÝCH ZNAKŮ

Mendelovy zákony, autozomální dědičnost kvalitativních znaků

Skutečnost, že potomstvo je podobné svým rodičům, byla odedávna součástí lidské zkušenosti a předmětem zájmu přírodovědců. Dlouho však nebyli známy nejen mechanismy, kterými se dělení vlastností a znaků uskutečňuje, ale i hypotézy o dědičnosti vycházeli spíše ze zovšeobecnění náhodných pozorování a často i z naivních zjednodušujících představ, nežli z experimentálních údajů. První, kdo vykonal systematické pokusy v tomto směru a postavil je na solidní statistické bázi byl JOHANN GREGOR MENDEL, který tím položil základy genetiky jako vědné disciplíny. Na základě zákonitostí, které popsal ve svém díle *Versuche über die Pflanzenhybriden* (1866), lze na základě proměnlivosti fenotypového znaku a jejího charakteru ve více generacích formulovat závěry o genu resp. genech, které tento znak podmiňují. Předpokladem úspěšné genetické analýzy je malý počet genů, které znak kontrolují, a malý resp. žádný modifikující vliv prostředí (nedědičných faktorů).

Mendel vykonával své pokusy s různými odrodami hrachu. Odrody zemědělských plodin se vytvářejí dlouhodobým systematickým umělým výběrem, při kterém se vybírají nositelé žádoucích vlastností a používají pro další rozmnožování, zatím co jedinci vykazující jakékoliv odchylky od žádoucího fenotypu jsou vyloučeni, čímž jsou z populace vylučovány i geny podmiňující tyto fenotypové odchylky. Variety jsou tedy geneticky značně homogenní. Mendel sledoval celkem 7 fenotypových znaků, a na základě výsledků křížení mezi jedinci rodičovské (parentální) generace a křížení v následních (filiálních) generacích zformuloval pravidla, která popisují dědičnost kvalitativních znaků, kontrolovaných autozomálními geny u diploidních, pohlavně se množících organismů, vztahují se tedy na lesní dřeviny, lovnou zvěř i na člověka samotného v stejné míře, jako na hrách.

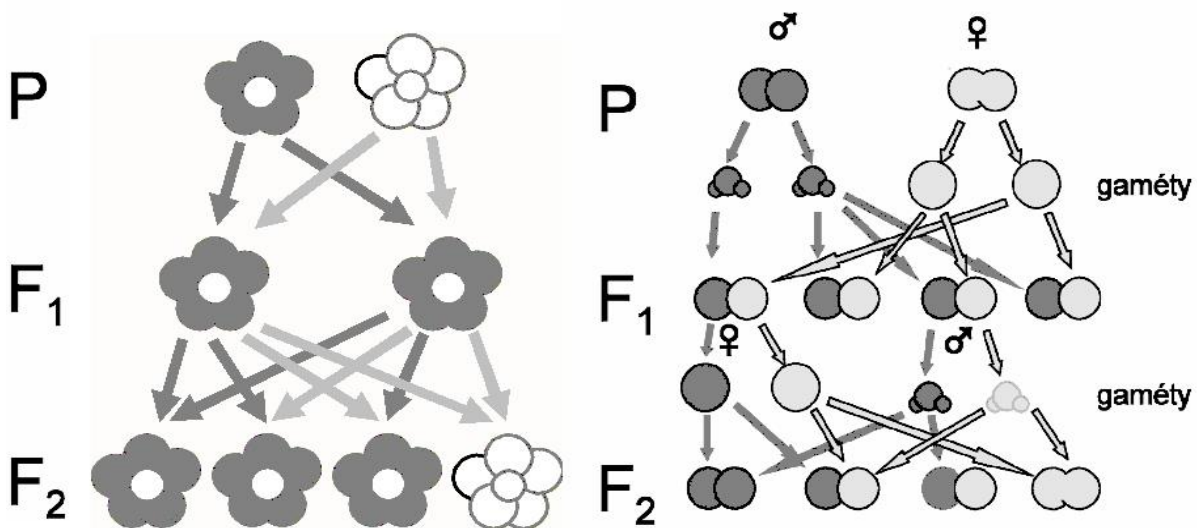
První Mendelovo pozorování se týká chování kříženců (hybridů), tedy 1. filiální generace (F_1). Při křížení rodičů, odlišujících se v konkrétním fenotypovém znaku, např. barvě květů, všechno potomstvo bylo stejné, uniformní, a podobalo se pouze na jednoho z rodičů. Přitom nezáleželo na tom, jakou barvu květů měla mateřská a jakou otcovská rostlina, křížení oběma směry (reciproká křížení) dávala stejný výsledek. Variantu znaku, která se u hybridů projevila, Mendel označil jako dominantní, naopak znak, který se u žádného z jedinců F_1 neobjevil (i když jeden z rodičů byl jeho nositelem) označil jako recesivní (z lat. *recedere* – ústoupit). Pokud například křížil jedince s červenými květy a jedince s bílými květy, všechno potomstvo bylo červenokvěté, nezávisle na tom, zda červenokvětá rostlina byla otcovská nebo mateřská. Následně Mendel sledoval projev daného znaku v potomstvu hybridů, tedy ve 2. filiální generaci (F_2). V ní se recesivní varianta znaku objevila opět. Při velkém počtu uskutečněných křížení a pečlivém kvantitativním vyhodnocení výsledků se ukázalo, že podíl nositelů recesivního znaku v F_2 dosahoval v průměru 25%. Pokud bychom použili stejný příklad, po zkřížení dvou červenokvětých hybridů se v jejich potomstvu vždy objevila čtvrtina jedinců s bílými květy, které neměl ani jeden z rodičů (F_1), ale měl je jeden z prarodičů (P) (viz obr. 17).

Mendel z těchto pozorování odvodil správnou teorii dědičnosti. Na rozdíl od dosavadních představ, podle kterých má dědičnost kontinuální povahu, tedy potomstvo představuje průměr nebo různé typy přechodů mezi vlastnostmi rodičovských jedinců, Mendel došel k závěru, že faktory, podmiňující přenos dědičných vlastností musí být diskrétní (nutno připomenout, že v jeho době nebylo nic známo o chromozomech, DNA a jejich roli v dědičnosti; naopak, až zveřejnění Mendelových výsledků umožnilo klást si otázku, které buněčné struktury a které makromolekuly se chovají ve shodě s nimi). Správně vytušil, že tělové buňky organismu vždy obsahují dva takovéto diskrétní dědičné faktory, zatím co při vzniku pohlavních buněk musí být tento počet redukován na polovinu. Termín „gen“ pro označení těchto dědičných faktorů navrhl až dánský botanik Johanssen v r. 1909. Jedinec, který od obou rodičů získal

stejnou variantu genu (alelu), byl označen jako homozygot, nositel dvou různých alel stejného genu je heterozygot.

Jednotlivé geny a jejich alelické varianty nemusí být z hlediska fenotypu rovnocenné, fenotypový projev závisí nejen od přítomnosti alel v genotypu, ale také od jejich vzájemného vztahu. Shodou okolností se u všech znaků, které Mendel studoval u hrachu, uplatňuje úplná dominance. Alela, která se označuje jako dominantní, se fenotypovo projeví vždy, pokud je v genotypu jedince přítomna v homozygotním nebo v heterozygotním stavu. Fenotypový projev recesivní alely je dominantní alelou u heterozygota potlačen, může se tedy projevit jen v homozygotním stavu. Při úplné dominanci jsou tedy fenotypy dominantního homozygota a heterozygota totožné, odlišuje se pouze fenotyp recesivního homozygota. Při neúplné dominanci leží fenotypová hodnota heterozygota mezi fenotypy obou homozygotů (v případě kvalitativního znaku se používá i termín intermediarita). Specifickým případem neúplné dominance je aditivita – pokud je fenotypová hodnota heterozygota přesně ve středu mezi fenotypovými hodnotami obou homozygotů, nelze rozlišovat dominantní a recesivní alelu, protože žádná z nich ve fenotypu nepřevažuje (nedominuje), ale jedna z alel zvyšuje fenotypovou hodnotu, druhá nikoliv. Účinky alel se sčítávají. Model aditivity se uplatňuje především při kvantitativních znacích. Při superdominanci heterozygot převyšuje svým fenotypovým projevem fenotypové hodnoty obou homozygotů. V případě, že se obě alely heterozygota projeví nezávisle na sobě, hovoříme o kodominanci.









Na obr. 17 je znázorněno křížení mezi dvěma jedinci, kteří se odlišují barvou květů. Křížení, při kterém se rodičovští jedinci odlišují v jednom znaku (resp. při kterém se sleduje odlišnost jen v 1 znaku) se označuje jako monohybridní. V parentální generaci (označované P) křížíme dva (předpokladaně homozygotní) rodičovské jedince s odlišnými variantami znaku (červenou a bílou barvou květu). Potomstvo (hybridy tzv. 1. filiální generace – F₁) však bude vykazovat jen jednu variantu znaku, všichni jedinci nezávisle na jejich počtu budou mít červené květy, potomstvo je tedy uniformní. Obě reciproká křížení (tj. červenokvětý otec × bílokvětá matka i bílokvětý otec × červenokvětá matka) dávají přitom stejný výsledek (pravidlo uniformity a reciprocity). V další generaci však dochází k fenotypovému štěpení, opět se objevují dvě varianty znaku. Pokud zkřížíme dva červenokvěté jedince F₁, v 2. filiální generaci F₂ se bude vyskytovat 75% červených jedinců a 25% bílých jedinců (pravidlo zákonitého štěpení v potomstvu hybridů).














Obr. 17 Ilustrace Mendelových pravidel dědičnosti fenotypových znaků. Vlevo: dědičnost barevných variantů barvy květů při úplné dominanci vlohy pro tmavou barvu, vloha pro bílou barvu je recesivní. Vpravo: schematická ilustrace segregace genů při tvorbě gamet a jejich kombinace do genotypů v jednotlivých generacích.

Mendel formuloval své představy o dědičnosti v polemice s teorií směšování (*blending inheritance*), podle které potomstvo vykazuje vždy průměrnou fenotypovou hodnotu obou rodičů. Mendel došel k správnému názoru, že dědičnost řídí fyzické, samostatné a stále jednotky (vlohy), přičemž každý jedinec má dvě takovéto jednotky, které mohou být stejné nebo rozdílné. Pokud jsou rozdílné, nemísí se, nevstupují do žádných vzájemných interakcí, ale zachovávají si svou integritu. Každá pohlavní buňka (gameta) naopak obsahuje jen jednu čistou, nesmíšenou vlohku pro daný znak (pravidlo čistoty gamet).

Použitím dnešní terminologie lze zformulovat popis mechanismu dědičnosti jednodušeji. Rodičovští jedinci v parentální generaci jsou homozygotní. V příkladě na obr. 17 je otcovský červenokvětý jedinec homozygot v dominantní alele, tj. má genotyp AA . Protože na obou chromozomech má v genu A dominantní vlohku, je schopen produkovat pouze pelová zrna s touto vlohkou, tedy všechny gamety mají haplotyp A . Mateřský bílokvětý jedinec je homozygot v recesivní alele (genotyp aa), analogicky je tedy schopen produkovat jen vajíčkové buňky s haplotypem a . Ať se kterákoliv samčí gameta zkombinuje s kteroukoli samičí, vždy vznikne zygot, která po otci zdědí dominantní vlohku (A) a po matce recesivní (a), tedy genotyp potomstva musí být heterozygotní (Aa). Všechny jedince potomstva jsou tedy genotypově uniformní, a proto musí vykazovat i stejný fenotyp. V tomto případě, kde vlohka pro červenou barvu je dominantní, budou mít všichni jedinci F_1 generace červenou barvu květů.

$F_1 \times F_1$		$\text{♂ } Aa$ 	
		A	a
F_2		\bullet	\circ
		AA 	Aa 
$\text{♀ } Aa$ 	A	AA 	Aa 
	a	Aa 	aa 

$F_1 \times P \text{♂}$		$\text{♂ } AA$ 	
		A	
B_1		\bullet	
		AA 	
$\text{♀ } Aa$ 	A	AA 	
	a	Aa 	

$F_1 \times P \text{♀}$		$\text{♂ } Aa$ 	
		A	a
B_1		\bullet	\circ
		Aa 	Aa 
$\text{♀ } aa$ 	a	Aa 	Aa 




Obr. 18 Kombinační čtverec při monohybridním křížení: generace F_2 (křížení mezi dvěma hybridy F_1 , šedá barva) a dva typy zpětných křížení, tj. generace B_1 (křížení mezi hybridem F_1 a otcovským resp. mateřským jedincem parentální generace).

Pokud zkřížíme dva hybridní jedince (F_1) vzájemně, poměry v další (F_2) generaci se změny. Hybridní jedinci jsou heterozygoti (Aa). Při pravidelné segregaci v poměru 1:1 produkují polovinu gamet (je jedno, zda samčích, nebo samičích) s dominantní vlohkou (A) a polovinu gamet s recesivní vlohkou (a). Pokud se tyto gamety párují náhodně, je pravděpodobnost všech čtyř možných kombinací stejná, tj. 25% ($A_{\text{♂}} + A_{\text{♀}} \rightarrow AA$, $A_{\text{♂}} + a_{\text{♀}} \rightarrow Aa$, $a_{\text{♂}} + A_{\text{♀}} \rightarrow Aa$, $a_{\text{♂}} + a_{\text{♀}} \rightarrow aa$). Vzhledem k tomu, že vlohka pro červenou barvu je dominantní, všichni jedinci, jejichž genotyp obsahuje alespoň jednu dominantní vlohku (tj. $\frac{1}{4} AA + \frac{1}{2} Aa = \frac{3}{4} A_{\text{—}}$) budou mít červené květy, recesivní homozygoti ($\frac{1}{4} aa$) budou mít bílé květy. Při zpětném křížení (*backcross*; generace B_1) s červenokvětým otcovským jedincem parentální generace bude všechno potomstvo červenokvěté, protože všichni jedinci B_1 musí po otci zdědit dominantní vlohku ($AA \times Aa \rightarrow 50\% AA + 50\% Aa$). Zpětné křížení hybridu F_1 s bílokvětým mateřským jedincem generace P naopak vyprodukuje 50% červenokvětých a 50% bílokvětých jedinců (obr. 18). Hybrid F_1 produkuje polovinu gamet s dominantní a polovinu s recesivní vlohkou, recesivně homozygotní matka jen gamety s recesivní vlohkou,



















tedy pouze polovina potomstva zdědí alespoň jednu dominantní vloh (aa × Aa → 50% aa + 50% Aa).

Štěpný poměr 3:1 v generaci F₂ se úplatňuje pouze při úplné dominanci. Pokud jsou heterozygotní jedinci fenotypově rozeznatelní od obou homozygotů (při neúplné dominanci, intermediaritě alel, resp. při superdominanci), je fenotypový štěpný poměr v F₂ generaci totožný s genotypovým, tj. 1:2:1. V potomstvu F₂ se tedy objeví tři fenotypy, 25% jedinců F₂ bude vykazovat fenotyp jednoho z jedinců P generace, 25% bude fenotyp druhého z rodičů P generace, a 50% fenotyp jedinců F₁ generace.

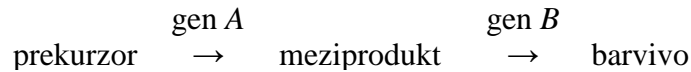
Při dihybridním křížení se sleduje dědičnost dvou fenotypových znaků současně. I v tomto případě platí, že ať jsou fenotypy rodičovských jedinců (P) jakékoli, generace F₁ bude uniformní. V další generaci dochází v případě úplné dominance v obou genech ke štěpení v poměru 9:3:3:1. V příkladu na obr. 19 se jedinci odlišují v barvě a tvaru semen. Vlohy pro žlutou barvu a kulatý tvar semen jsou dominantní, vlohy pro zelená a vrásčitá semena jsou recesivní. Pokud v parentální generaci křížíme jedince, kteří jsou homozygotní v genech kontrolujících oba znaky (v tomto případě otcovský jedinec je dominantní homozygot v genu pro barvu a recesivní homozygot v genu pro tvar semen, mateřský jedinec naopak), potomstvo F₁ bude uniformní a bude vykazovat dominantní variantu v obou znacích (tj. bude mít žlutá kulatá semena, tedy bude se odlišovat od obou rodičů). Po křížení dvou jedinců F₁ mezi sebou se v potomstvu F₂ objeví čtyři fenotypy. 9/16 jedinců bude mít žlutá kulatá semena, stejně jako jedinci F₁ (jedinci s aspoň jednou dominantní alelou v obou genech, tedy A_B_), 3/16 budou mít žltá ale vrásčitá semena, stejně jako otcovský jedinec v parentální generaci (A_bb), 3/16 budou mít zelená kulatá semena, stejně jako mateřský jedinec v parentální generaci (aaB_) a 1/16 bude mít zelená vrásčitá semena (nový fenotyp, který se v přechodných generacích vůbec nevyskytl, genotypu aabb). Vlohy jednoho alelického páru se tedy kombinují nezávisle od vloh druhého alelického páru. Tuto skutečnost vystihuje další z Mendlových pravidel, pravidlo nezávislé kombinovatelnosti vloh. Toto pravidlo pochopitelně neplatí pro dvojice genů, lokalizované na stejném chromozomu. V případě vazby se geny nekombinují volně, ale jen v míře rekombinace umožněné crossing-overem a závislé od jejich vzájemné vzdálenosti na chromozomu.

P	♂ AAbb 	×	♀ aaBB 
	Ab ●□		aB ○■
F ₁	AaBb 		

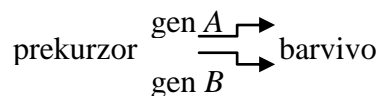
Obr. 19 Dihybridní křížení

F ₁ × F ₁		♂ AaBb 			
		AB ●■	Ab ●□	aB ○■	ab ○□
♀ AaBb 	AB ●■	AABB 	AABb 	AaBB 	AaBb 
	Ab ●□	AABb 	AAbb 	AaBb 	Aabb 
	aB ○■	AaBB 	AaBb 	aaBB 	aaBb 
	ab ○□	AaBb 	Aabb 	aaBb 	aabb 

Štěpný poměr 9:3:3:1 v generaci F₂ při dihybridním křížení však platí pouze v případě komplementárního účinku genů. Účinky genů se však mohou vzájemně ovlivňovat. Tyto mezigenové interakce se označují termínem epistáza. Představme si například případ, že nějaký produkt (např. červené barvivo listu) je syntetizován z prekursoru ve dvou krocích:



Pokud dojde k mutaci, vedoucí ke znefunkčnění genu, v genu A, vůbec se nevytvoří meziprodukt, tedy není z čeho syntetizovat barvivo, pokud dojde k mutaci v genu B, z meziproduktu se nebude vytvářet barvivo. Na syntézu barviva je tedy nutné, aby fungovali oba geny. Defektní alela se bude chovat jako recesivní (u heterozygota je jedna z dvojice alel funkční, tedy průběh reakce zajistí). Ve všech genotypech, kde je přítomná aspoň jedna funkční (tedy dominantní) alela v obou genech (A_B_), mohou probíhat oba kroky syntézy barviva, barvivo tedy v listu bude přítomno, list bude červený. Pokud je jedinec recesivně homozygotní v kteromkoli genu (nebo v obou), je zablokovaný první nebo druhý krok syntézy (nebo oba), syntéza barviva tedy neprobíhá a list zůstane zelený (štěpný poměr 9:7). Opačným příkladem může být, pokud je stejné barvivo vytvářeno z jednoho prekursoru pouze v jednom kroku, který ale může probíhat dvěma nezávislými metabolickými dráhami, řízenými dvěma geny:



V tomto případě bude barvivo syntetizováno u každého genotypu, který obsahuje alespoň jednu dominantní alelu kteréhokoli genu (A_B_, A_bb, aaB_, štěpný poměr 15:1). Různé typy dvougenové epistázy a jim odpovídající štěpné poměry jsou uvedené v tab. 5.

Tab. 5 Štěpné poměry v generaci F₂ při různých typech epistázy ve srovnání s komplementaritou genů

Učinek genů	Genotypy			
	A_B_	A_bb	aaB_	aabb
Komplementarita (absence epistázy)	9	3	3	1
Dominantní epistáze	12		3	1
Recesivní epistáze	9	3	4	
Kumulativní účinek genů	9	6		1
Dvojnásobná dominantní epistáze	15			1
Dvojnásobná recesivní epistáze	9	7		

Dedičnost konkrétního fenotypového znaku u konkrétního druhu se zjišťuje genetickou analýzou. Jejím cílem je identifikovat, kolik genů kontroluje daný znak, jaké alelické varianty se u nich vyskytují, a jakým způsobem ovlivňují fenotyp. Při genetické analýze lze použít více postupů:

- kontrolované křížení
- analýza rodokmene (*pedigree analysis*)
- analýza potomstva z volného opylení známého mateřského jedince (spolehlivá genetická analýza je možná pouze při neúplné dominanci nebo kodominanci)
- paralelní analýza haploidního endospermu a diploidního embrya nahosemenných rostlin (týká se molekulárních nebo biochemických znaků).

Při všech postupech se skutečné fenotypové štěpné poměry v potomstvu nebo v rodokmenu srovnávají s poměry předpokladanými na základě Mendelových zákonů pomocí

statistických testů (χ^2 -test, exaktní binomický test apod.). Vždy se začíná od nejjednodušší hypotézy kontroly znaku jedním genem. Pokud se tuto hypotézu nepodaří potvrdit, tj. existují statisticky významné odchylky pozorovaných štěpných poměrů od očekávaných, tato hypotéza se zamítne a zformuluje se nová hypotéza o kontrole znaku dvěma geny, atd.

Při kontrolovaném křížení mezi sebou křížíme jedince různých nebo stejných fenotypů (u rostlin můžeme vykonávat i umělé samoopylení) a sledujeme, v jakém poměru se jednotlivé fenotypy objeví v potomstvu z křížení. V případě nedomestikovaných organismů zpravidla nemáme k dispozici vysoce homozygotní čisté linie, musíme tedy počítat i s možností, že jedinci parentální generace jsou v genech, kontrolujících znak, heterozygotní.

Opačný problém představuje identifikace genotypu konkrétních jedinců na základě rodokmene. Mnohé dědičné nemoci jsou podmíněny defektními alelami, které mají tendenci chovat se jako recesivní: u heterozygota je v genotypu přítomná i funkční alela, fungující jako záloha, která zpravidla dokáže svůj defektní náprotivek zastoupit. Heterozygot se tedy fenotypově (zdravotním stavem) nijak neodlišuje od homozygota s oběma funkčními alelami. V případě, že jedinec zdědí obě alely defektní, nemá již k dispozici třetí záložní kopii, která by mohla defektní alely zastoupit, dědičná nemoc se tedy projeví. Heterozygotní jedinci jsou tedy přenašeči dědičné nemoci, i když jsou fenotypově zdraví. Jejich identifikace na základě fenotypu není možná, ale lze je vylíčit také na základě fenotypových projevů jejich předků nebo jejich potomstva.

Gonozomální dědičnost

Většina chromozomů se v diploidní buňce vyskytuje v párech, v rámci kterých jsou oba chromozomy plně homologické, tedy nesou tytéž geny (může se ale jednat o různé alely) ve stejném uspořádání. Tyto chromozomy se označují jako autozomy. U mnoha organismů je ovšem pohlaví určeno přítomností specifických pohlavních chromozomů (gonozomů), které jsou na rozdíl od autozomů homologické pouze z malé části. V případě savců a dalších organismů (typ dědičnosti *Drosophila*) se dvojice pohlavních chromozomů označuje jako chromozomy X a Y. Jedinec s konstelací gonozomů XY je samec (heterogametické pohlaví, vytvářející dva různé typy gamet, v tomto případě spermií, určujících tedy pohlaví potomstva), jedinec s konstelací XX je samice (homogametické pohlaví; samice savců tvoří jen jeden typ vajíček). Pohlaví je určeno právě přítomností chromozomu Y, konkrétně je to lokus *SRY* (*sex-determining region Y*), obsahující gen pro kontrolu syntézy testosteronu, který je pro pohlaví určující (tj. při různých aneuploidních konstelacích pohlavních chromozomů právě přítomnost chromozomu Y určuje, že jedinec bude samcem, tj. aneuploidní jedinci s konstelací XXY budou mít samčí pohlaví). Při jiných organismech může být situace odlišná, pohlaví může určovat počet chromozomů X (tj. aneuploid s konstelací XXY bude samice). U ptáků, některých plazů, motýlů a dalších organismů (typ dědičnosti *Abraxas*) se gonozomy označují Z a W; opačně než u savců homogametické pohlaví je samec (ZZ), heterogametické samice (ZW). U více druhů hmyzu (švábi, stejnokřídílí, někteří blanokřídílí) jeden chromozom chybí úplně: jedinec s konstelací XX je samice, jedinec s konstelací X0 samec (autozomy u samce jsou v párech, ale gonozom má jen jeden: 0 znamená chybící gonozom), některé mýry mají konstelaci opačnou, tedy ZZ je samec, Z0 samice. Typické určení pohlaví u sociálních blanokřídílých (včely, vosy, mravenci), ale také u některých mšic, je haplodiploidní určení: z neoplozených vajíček se líhnou haploidní samci (na rozdíl od konstelace X0 mají i autozomy pouze v haploidní sadě), z oplodněných vajíček samice.

V případě savců většina genů na chromozomu X nemá svůj náprotivek na mnohem kratším chromozomu Y. Jedinci jsou tedy v takovémto genu hemizygotní. Tato skutečnost ovlivňuje i mechanismus dědičnosti, která se v tomto případě neřídí Mendelovými pravidly. Potomstvo v F_1 nemusí být uniformní a reciproká křížení neposkytují stejný výsledek.

I v případě pohlavních chromozomů platí, že defektní mutace (označují se X^+) mají tendenci chovat se jako recesivní. Pokud je nositelem takovéto defektní mutace samec, poškození se u něj projeví, protože na chromozomu Y nemůže mít dominantní alelu, která by vliv defektní mutace překryla (genotyp X^+Y). U samice se defektní vloha projeví, pouze pokud je v ní homozygotní (X^+X^+), jinak je jen její přenašečkou (X^+X). V potomstvu F_1 tedy mohou nastat situace, uvedené v tab. 6.

Tab. 6 Fenotypové štěpné poměry v generaci F_1 při recesivně monogenně podmíněném dědičném postižení s gonozomální dědičností

matka		otec		potomek F_1		
Genotyp	fenotyp	genotyp	fenotyp	genotyp	Fenotyp	pravděpodobnost
XX	zdravá	XY	zdravý	XX	♀ zdravá	0,5
				XY	♂ zdravý	0,5
XX ⁺	zdravá	XY	zdravý	XX	♀ zdravá	0,25
				XY	♂ zdravý	0,25
				XX ⁺	♀ zdravá	0,25
				X ⁺ Y	♂ nemocný	0,25
XX	zdravá	X ⁺ Y	nemocný	XX ⁺	♀ zdravá	0,5
				XY	♂ zdravý	0,5
XX ⁺	zdravá	X ⁺ Y	nemocný	XX ⁺	♀ zdravá	0,25
				XY	♂ zdravý	0,25
				X ⁺ X ⁺	♀ nemocná	0,25
				X ⁺ Y	♂ nemocný	0,25
X ⁺ X ⁺	nemocná	XY	zdravý	XX ⁺	♀ zdravá	0,5
				X ⁺ Y	♂ nemocný	0,5
X ⁺ X ⁺	nemocná	X ⁺ Y	nemocný	X ⁺ X ⁺	♀ nemocná	0,5
				X ⁺ Y	♂ nemocný	0,5

Pochopitelně, v případě, že žádný z rodičů není přenašačem postižení ($XX \times XY$), je všechno potomstvo zdravé. Jak je však vidět z tab. 6, křížení zdravé matky a postiženého otce dává jiný výsledek než křížení postižené matky a zdravého otce (tedy reciproká křížení nejsou rovnocenná) a potomstvo ve třech případech není uniformní.

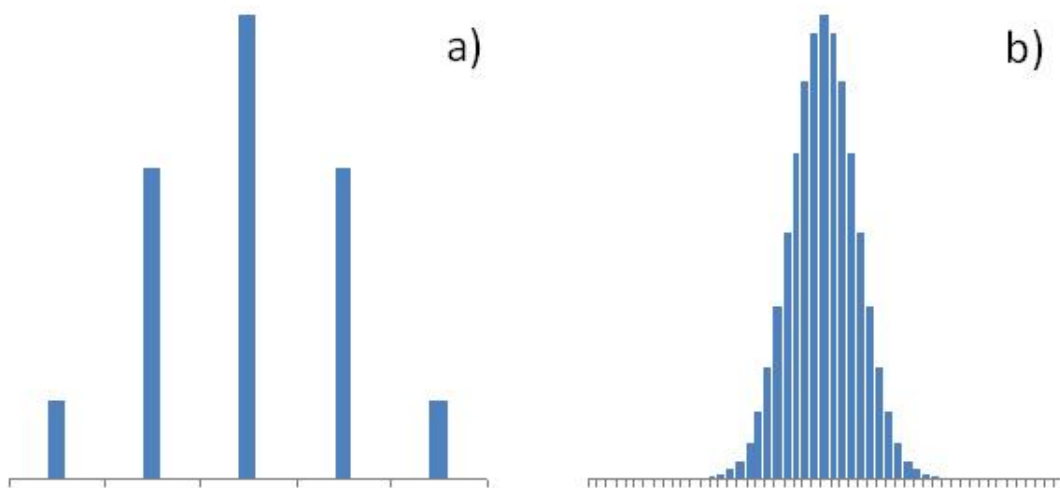
Dědičnost kvantitativních znaků

Názor na vztah mezi genem a znakem se v průběhu vývoje genetiky měnil. Původní náhled z Mendelových dob 1 gen = 1 znak se s rozvojem biochemie změnil na 1 gen = 1 enzym, později 1 gen = 1 polypeptid, a dnes se zdá, že už ani tato hypotéza neplatí (viz informace o alternativním sestřihu mRNA).

Gen může v mnoha případech současně ovlivňovat vícero znaků, což se označuje jako pleiotropní účinek genu. Naopak, jiné znaky mohou být kontrolovány polygenně, tedy na kontrole se podílí více (někdy i několik desítek) genů, ze kterých každý přispívá svou částí (která nemusí být při všech alelách stejně veliká). Typická je tato situace u kvantitativních znaků. Čím vyšší je počet kontrolujících genů, tím vyšší je počet genotypových kombinací a tedy i fenotypových tříd; naopak mezialelické a mezigenové interakce počet fenotypových tříd snižují. Při malém počtu kontrolujících genů se fenotypové třídy zpravidla dají rozeznat, ale s narůstajícím počtem genů jsou jejich hranice stále méně zřetelné a rozdělení

fenotypových tříd se postupně mění z diskrétního na spojitě (obr. 20).

Genetickou analýzu kvantitativních znaků navíc komplikují nestejné účinky různých genů na fenotypový znak, a také mezigenové a mezialelické interakce (epistáza a dominance). Při kontrole znaku víc než třemi geny je už genetická analýza znaku značně obtížná. Při identifikaci genů, řídících kvantitativní znaky se zpravidla vychází z korelací fenotypového projevu s genotypem v konkrétním genu. Často nejsme schopni gen přímo identifikovat, ale jeho hypotetickou existenci postulujeme na základě korelací s markéry ve stejné vazbové skupině. Takovéto hypotetické lokusy se označují jako QTL (*Quantitative Trait Locus*).



Obr. 20 Rozdělení hodnot fenotypového znaku v potomstvu z křížení dvou úplně homozygotných rodičů při kontrole znaku 4 geny (a) a 40 geny (b) při čistě aditivním účinku genů (žádná dominance ani epistáza) a stejném efektu alel každého genu.

3 GENETIKA POPULACÍ

Populace a její struktura

Populace je subor jedinců stejného druhu, obývajících konkrétní biotop v konkrétním čase, kteří jsou schopni se navzájem mezi sebou křížit. Tato definice vypadá jednoduše, ale vymezení populace v terénu je zpravidla složité. I u druhů s fragmentovaným areálem si jednotlivé ostrůvky (demy) do určité míry mohou vyměňovat geny při reprodukci. V praxi se tedy pojem populace zpravidla používá jako operační koncept pro skupinu jedinců stejného druhu, žijící na konkrétní lokalitě nebo v konkrétní oblasti – v tomto smyslu lze hovořit o lokální populaci, regionální populaci atd.

Populaci lze charakterizovat více vlastnostmi, které ovlivňují v značné míře vývoj její genetické struktury. Základním populačním parametrem je velikost, tedy počet jedinců, ze kterých se populace skládá. Z hlediska reprodukce je ale nutno si uvědomit, že ne všichni jedinci přítomní v populaci se aj musí podílet na reprodukci a tedy v stejné míře odevzdávat svou dědičnou informaci generaci potomstva. Proto se v populačně-genetických modelech zohledňuje efektivní velikost, která přepočítává reálný počet jedinců na hypotetický počet jedinců rovnoměrně se podílejících na reprodukci. Dalšími důležitými vlastnostmi jsou hustota populace (měřena počtem jedinců na jednotku délky, plochy nebo objemu), dynamika vývoje (růst, stabilita, pokles početnosti), struktura (pohlavní, věková atd.) a prostorový rozptyl (shlukování, náhodné rozmístění, rovnoměrné odstupy). Všechny tyto vlastnosti jsou jednak závislé od druhu, a jednak se mohou měnit v průběhu ontogeneze (semenáčky dřevin mají v přirozeném porostu tendenci ke shlukování v porastních mezerách, dospělé stromy jsou naopak rozmístěny zpravidla rovnoměrně vzhledem na vzájemnou kompetici; populace larev hmyzu se může chovat úplně odlišně od imag apod.).

Vlastnost, určující v největší míře vývoj zastoupení genů, genotypů a fenotypů v populaci, je systém reprodukce, tj. způsob odevzdávání genetické informace z jedné generace na následující. Z hlediska systému reprodukce lze rozeznávat dva typy párování. Panmixie je náhodné párování, při kterém pravděpodobnost spojení kterýchkoli dvou gamet je nezávislá od jejich původu a jejich haplotypu. Pro vznik zygoty tedy není důležité, jaké geny jsou v gametach zastoupeny. Pro výběr partnera pro párování neexistují žádná kritéria, je úplně náhodný. Při výběrovém párování (angl. *assortative mating*) naopak takováto kritéria existují, jedinci, kteří je splňují, mají větší šanci spojit se při reprodukci než jedinci, kteří je neplní (např. stromy, kvetoucí ve stejném čase, mají vyšší šanci vzájemného opylení nežli stromy, které jsou fenologicky asynchronní). Kritériem výběru může být i příbuzenství, příbuzenské křížení se označuje termínem inbreeding. Extrémním případem příbuzenského křížení je autogamie (samoopylení resp. samooplodnění). V reálních populacích se samozřejmě vyskytují přechody mezi oběma extrémny.

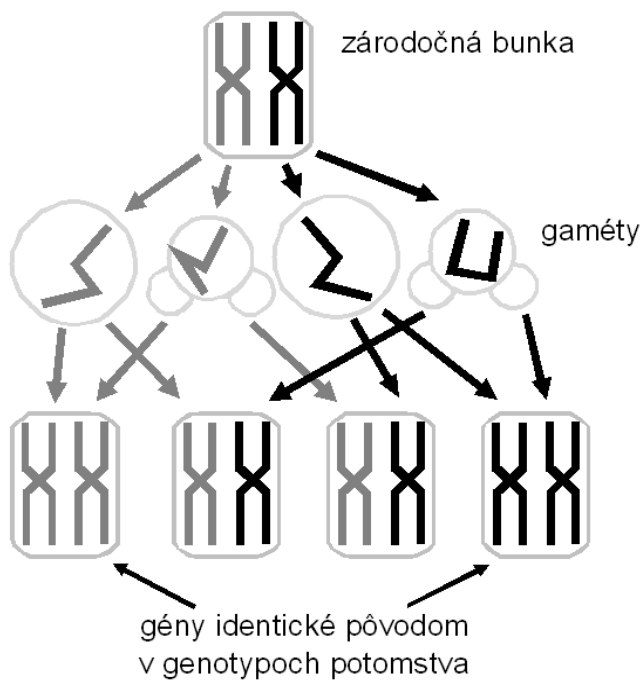
Genetickou strukturu populace definují podíly jednotlivých genotypů (genotypová struktura) a podíly jednotlivých genů resp. jejich varianty – alel (alelická struktura), neboli genotypové a alelické frekvence (relativní četnosti). Frekvence lze vyjádřit libovolným způsobem: při známé malé velikosti populace i absolutní četností, ve velkých populacích je smysluplnější odhadovat jejich relativní podíl, tj. vyjádřovat je procentuálně. Z hlediska jejich použití pro matematické operace je nejjednodušší jejich vyjádření relativním podílem, tj. desetinným číslem (např. četnost genotypu AA je 20 jedinců v populaci s počtem členů 1000, což představuje podíl 2%, frekvence je $P_{AA} = 0,02$). Při konečném a nízkém počtu jedinců v populaci a možnosti ogenotypovat každého z nich (což je v praxi méně častá situace) lze určit frekvence genotypů přesně. Zpravidla se ale odkázání na výběrové postupy a odhad genotypových a alelických frekvencí z výběrového vzorku. Z praktického hlediska se většinou používá bodový odhad, frekvenci genotypu A_{ij} lze odhadnout jako

$P(A_i A_j) = n(A_i A_j) / \sum_k \sum_l n(A_k A_l) = n(A_i A_j) / N$, kde $n(A_{\hat{a}i})$ je počet jedinců genotypu $A_{\hat{a}i}$ ve výběrovém vzorku ($k, l = 1 \dots$ celkový počet alel) a N je celkový rozsah výběru (celková četnost všech genotypů spolu ve výběrovém vzorku). Bodový odhad frekvence i . alely se určí z podílů genotypů, v kterých je daná alela zastoupena: $p(A_i) = P(A_i A_i) + \sum_{j \neq i} 0,5 P(A_i A_j)$ (v genotypu homozygota je zastoupena pouze sledovaná alela, v genotypu heterozygotů je to vždy jedna ze dvou, proto $1/2$). Pro určení střední chyby odhadu se vychází ze skutečnosti, že relativní četnosti mají binomické rozdělení. Variance odhadu proměnné s binomickým rozdělením je obecně $V_p = p(1 - p)/n$, střední chyba je odmocninou variance. Střední chyba odhadu frekvence genotypu $A_{\hat{a}i}$ je tedy $s_{P(A_i A_j)} = \sqrt{P(A_i A_j) \cdot [1 - P(A_i A_j)] / N}$, střední chyba odhadu frekvence alely A_i je $s_{p(A_i)} = \sqrt{p(A_i) \cdot [1 - p(A_i)] / 2N}$ (jedinci jsou diploidní, tedy ve výběrovém suboru N genotypů je zastoupených $2N$ alel jednoho lokusu). Ze středních chyb lze následně určit intervalové odhady frekvencí. Skupina těsně vázaných genů se může z generace na generaci odevzdávat společně, tvoří tzv. haplotyp. To samé platí pro organelární DNA (mitochondriální a chloroplastovu), kde také nedochází k rekombinaci a tedy molekula DNA se při reprodukci odevzdává potomstvu jako celek. Pro odhady haplotypových frekvencí a jejich střední chyby platí stejné vztahy jako pro genotypové frekvence. U dvojic nebo skupin volně se rekombinujících genů (např. lokalizovaných na různých chromozomech) platí pro odhad frekvence kombinace genů zákony pravděpodobnosti: frekvence kombinace genů v gametách nebo kombinace genotypů je součinem frekvencí genů/genotypů: $P(A_i B_k) = P(A_i) \cdot P(B_k)$; $P(A_{\hat{a}i} B_k B_l) = P(A_{\hat{a}i}) \cdot P(B_k B_l)$. Například gen člověka pro systém krevních skupin AB0 je lokalizován na chromozomu 9, gen pro Rh-faktor na chromozomu 1, kombinují se tedy nezávisle na sobě. Pokud je v konkrétní populaci četnost krevní skupiny AB (tedy heterozygotů $A^I B^I$) 8% a frekvence nositelů Rh- (tedy homozygotů rr) je 15%, frekvence kombinace AB- bude $0,08 \times 0,15 = 0,012$, tedy 1,2% (což zhruba odpovídá poměrům střední Evropy).

Box X Příbuzenství a příbuzenské křížení

Příbuzenství je běžný hovorový pojem, kterým se rozumí skutečnost, že dva jedinci sdílejí společného předka nebo předky. Terminologie, kterou používáme ve vztahu k příbuzenským vazbám v lidské populaci, sice popisuje tyto vazby srozumitelnou formou (vlastní sourozenec, nevlastní sourozenec, rodič, potomek, prarodič, strýc atd.), ale není jednoznačná (pojem „strýc“ se používá jak pro matčina/otcova bratra, tedy pokrevního příbuzného, tak i pro manžela matčiny/otcovy sestry, který je se sledovaným jedincem příbuzný v sociálním a kulturním, ale ne v biologickém smyslu) a neumožňuje kvantifikaci míry příbuznosti.

Biologická definice příbuzenství dvou jedinců (angl. *coancestry*) vychází ze stejného základu jako hovorový pojem, tedy ze sdílení společného předka, od kterého jedinci zdědili část své genetické výbavy. Pochopitelně, čím víc takových společných předků dva jedinci sdílejí a čím méně generací je od nich dělí, tím je tento podíl společné dědičné informace vyšší. Exaktně jej lze vyjádřit mírou identity genů původem (angl. *identity by descent*), tedy pravděpodobností, s jakou dvojice homologických genů náhodně vybraných z genomu jedinců představuje dvě kopie toho samého genu, které vznikly replikací úseku na stejné molekule DNA v genomu společného předka. Zohledňuje se pouze autozomální jaderný genom, děděný po obou rodičích; uniparentálně děděné mitochondriální a chloroplastové geny představují pouze zlomek celkové dědičné výbavy a lze je zanedbat. Stejně se neberou v úvahu geny chromozomu Y, děděné pouze po otci.



Obr. 21 Identita genů původem v případě samoopylení na příkladu páru homologických chromozomů. Chromatidy resp. chromozomy, zobrazené stejnou barvou, představují kopie stejné molekuly DNA

Každá somatická buňka (včetně zárodečných buněk, ze kterých se tvoří gamety) obsahuje dvojici autozomů. Pravděpodobnost, že dvě náhodně vybrané gamety budou obsahovat kopie stejného chromozomu, je tedy jen 50%. Koeficient příbuzenství dvou jedinců pocházejících ze samoopylení je tedy jen 0,5, nikoli 1, navzdory tomu, že při samoopylení otec a matka je jeden a ten samý jedinec (obr. 21). Analogicky koeficient příbuzenstva mezi plnosesterskými příbuznými (vlastními sourozenci) nebo mezi rodičem a potomkem je 0,25, mezi polosesterskými příbuznými (nevlastními sourozenci, kteří mají společného jednoho z rodičů), druhostupňovými sourozenci (bratřanci, sestřenicemi) a vztahu prarodič – vnuk je 0,125. Stejně lze kvantifikovat míru jakéhokoli příbuzenského vztahu, vyjádřeného hovorovým pojmem.

Příbuzenské křížení se označuje termínem inbreeding. Míra inbreedingu jedince se měří stejným způsobem jako příbuzenství jeho rodičů: koeficient inbreedingu jedince je roven koeficientu příbuznosti rodičů. Vzhledem k tomu, že v rodokmeni jedince se může vyskytnout více společných předků jeho rodičů a každý z nich přispívá k míře inbreedingu, koeficient inbreedingu lze vypočítat jako sumu jejich příspěvků:

$$F = \sum_i 0.5^{n_i + m_i + 1} \cdot (1 + F_i)$$

kde n_i a m_i je počet generací, které dělí jedince od i . společného předka a F_i je koeficient inbreedingu i . společného předka (pokud už genomy společných předků samy o sobě obsahují geny identické původem, je možnost jejich odevzdání oběma rodičům jedince a tedy zvyšuje se pravděpodobný podíl IBD genů v jeho genomu).

Malá početnost populace logicky vede ke zvýšenému inbreedingu. Ve velké populaci, pokud není prostorově nebo jinak strukturovaná, vede náhodný výběr zpravidla k volbě nepříbuzného partnera (viz lidská populace v současnosti). Pokud je však populace početně omezená, vytvoří se v ní v průběhu generací síť příbuzenských vztahů, takže jedinec v

principu nemá možnost vybrat si partnera, se kterým by nebyl v příbuzenském vztahu (viz populace malých vesnic ještě v nedávné minulosti). Mezi velikostí populace a průměrným koeficientem inbreedingu při náhodném párování existuje funkční vztah. N jedinců obsahuje $2N$ autozomů. Pravděpodobnost, že se v zygotě potomstva náhodně setkají dvě repliky toho samého chromozomu je tedy $1/(2N)$. Ostatních $1 - 1/(2N)$ zygote potomstva tedy obdrží kopie rozdílných chromozomů, ovšem už tyto mohou obsahovat geny identické původem díky inbreedingu v předchozích generacích s pravděpodobností, kterou kvantifikuje koeficient inbreedingu rodičovské generace. Koeficient inbreedingu v t . generaci F_t je tedy součet pravděpodobností obou případů: $F_t = 1/(2N) + [1 - 1/(2N)] \cdot F_{t-1}$ (vztah vychází z velikosti populace N , která se v čase nemění). Přírůst inbreedingu za jednu generaci $\Delta F = F_t - F_{t-1}$ lze tedy vypočítat jako $\Delta F = 1/(2N)$. Čím menší populace (N), tím je nárůst inbreedingu větší, tedy tím rychleji se v ní vytváří příbuzenství a hromadí inbreeding.

Vývoj genetické struktury panmiktické populace (Hardyho-Weinbergův zákon)

Panmixie je definována jako úplně náhodné párování, tedy absence jakýchkoliv kritérií pro výběr partnera pro párování. I v panmiktických populacích dochází k příbuzenskému křížení, ale pouze v míře, která odpovídá „hustotě“ příbuzenských vztahů v populaci, tedy podílu příbuzenských dvojic na všech možných párech jedinců opačného pohlaví v populaci.

Základní zákonitostí, která popisuje přenos genetické informace mezi generacemi v panmiktické populaci, je Hardy-Weinbergův zákon: zastoupení jednotlivých alelických variant (alelické frekvence) zůstává z generace na generaci nezměněné, ak v populaci nepůsobí žádný z faktorů, které tento stav mohou změnit: selekce, mutace, migrace a genetický drift. Zároveň stačí jediná generace náhodného párování, aby se ustanovili i konstantní podíly jednotlivých genotypů, které odpovídají binomickému (při 2 alelách) resp. multinomickému (při více alelách) pravděpodobnostnímu rozdělení, které se už v dalších generacích také nemění. Panmiktická populace je tedy z genetického hlediska v rovnováze, nedochází v ní k žádným změnám genetické struktury na úrovni jednotlivého genu. Jakékoli změny jsou indikátorem působení některého z evolučních faktorů.

Nutno připomenut, že Hardy-Weinbergův zákon popisuje idealizovaný stav populace, vztahuje se na autozomální lokusy, a *sensu stricto* platí pouze v efektivně nekonečně velkých populacích za předpokladu oddělení generací. Drobné odchylky od těchto podmínek (překryv generací, konečné, ale velké populace) zpravidla nevyvolávají měřitelné odchylky od rovnovážného stavu: odchylka způsobená nedodržením podmínek je zpravidla menší než výběrová chyba odhadu alelických nebo genotypových frekvencí.

Hardy-Weinbergův princip platí u všech diploidních, pohlavně se množících organismů, ale realizace náhodného párování se u rostlin odlišuje od většiny živočichů. V případě rostlin se náhodně párují gamety (resp. gametofyty), tedy haploidní generace. Sporofyty kaprad'orostů a cévnatých rostlin jsou nepohyblivé, a s nimi i samičí gamety, vázané na organismus mateřské rostliny. Ať je vektorem přenosu pylu vítr, hmyz, voda, pylová zrna – samčí gametofyty – se pohybují v prostoru; Pokud je výběr mateřské rostliny a tedy i oplodnění samičí gamety náhodný, rostlinná populace se chová jako panmiktická. V nejjednodušším případě, tedy v případě genu se dvěma alelami, lze princip Hardy-Weinbergova zákona popsat následovně:

V generaci t jsou genotypy v populaci v genu A s úplnou dominancí zastoupeny následovně: dominantní homozygoti AA podílem P , heterozygoti Aa podílem Q , recesivní homozygoti aa podílem Q (v případě dvoudomých rostlin se stejným podílem samců a samic ve všech genotypových třídách). Při rozmnožování dominantní homozygoti AA tvoří pouze

gamety s dominantní alelou A . U heterozygotů Aa dochází k segregaci alel v poměru 1:1 (za předpokladu, že jde o autozomální lokus), tedy polovina gamet, které vytvářejí, bude obsahovat dominantní alelu A a druhá polovina recesivní alelu a . Recesivní homozygoti aa tvoří pouze gamety s recesivní vlohou a . Ve smyslu vztahů uvedených v první podkapitole je podíl dominantní alely v gametách $p = P + \frac{1}{2}H$, podíl recesivní alely $q = Q + \frac{1}{2}H$ ($p_{\delta} = p_{\varphi}$, $q_{\delta} = q_{\varphi}$). Očekávané podíly genotypů v generaci $t + 1$ lze při náhodném kombinování gamet (což je z definice podmínka panmixie) určit na základě kombinatoriky (obr. 22). Pravděpodobnost vzniku dominantně homozygotního genotypu AA , tj. případ, že se do zygoty spojí dvě gamety, které jsou obě nositelkami dominantní vlohy A , je $p_{\delta} \times p_{\varphi} = p^2$. Analogicky, pravděpodobnost vzniku recesivně homozygotního genotypu aa je $q_{\delta} \times q_{\varphi} = q^2$. Pravděpodobnost spojení dvou genotypově rozdílných gamet s alelami A a a do heterozygotní zygoty Aa je $p_{\delta} \times q_{\varphi} + p_{\varphi} \times q_{\delta} = 2pq$ (obr. 22). Rozdělení frekvence genotypů v následné generaci ($t + 1$) je tedy binomické: $p^2 AA : 2pq Aa : q^2 aa$.

Když jedinci generace $t + 1$ dorostou do reprodukčního věku, začnou vytvářet haploidní gamety. Podle stejné logiky, jakou jsme uplatnili v generaci t , dominantní homozygoti AA , zastoupení v populaci podílem p^2 , tvoří jen gamety s dominantní alelou A , heterozygoti Aa , kteří jsou v populaci zastoupeni podílem $2pq$, gamety s dominantní a recesivní vlohou v poměru 1:1, recesivní homozygoti pouze gamety s recesivní alelou a . Podíl gamet s dominantní alelou tedy bude $p^2 + \frac{1}{2} \cdot 2pq = p^2 + pq = p(p + q)$ a podíl gamet s recesivní alelou $q^2 + \frac{1}{2} \cdot 2pq = q^2 + pq = q(p + q)$. Pokud jsou v populaci zastoupeny pouze alely A a a , součet jejich frekvencí je 100%, tedy $p + q = 1$, z čeho dostáváme opět frekvence $p \times 1 = p$; $q \times 1 = q$.

		♂	
		$p A$	$q a$
♀	$p A$	$p \times p = p^2$ AA	$p \times q = pq$ Aa
	$q a$	$q \times p = pq$ Aa	$q \times q = q^2$ aa

Obr. 22 Očekávané podíly potomstva při náhodném párování gamet

Tab. 7 Schéma změn alelických a genotypových frekvencí v panmiktické rostlinné populaci

Generace	Genotypové frekvence				Frekvence alel v gametach		
	AA	Aa	aa	Spolu	A	a	Spolu
0	P	H	Q	1			
					$p = P_{(AA)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)}$	$q = \frac{1}{2}H_{(Aa)} + Q_{(aa)}$	1
1 produkovány gamety	p^2 ↓ 100% A	$2pq$ ↓ 50% A + 50% a	q^2 ↓ 100% a	1			
					$P_{(AA)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)} = p^2_{(AA)} + \frac{1}{2} 2pq_{(Aa)} = p^2 + pq = p(p + q) = p$	$Q_{(aa)} + \frac{1}{2}H_{(Aa)} = q^2_{(aa)} + \frac{1}{2} 2pq_{(Aa)} = q^2 + pq = q(p + q) = q$	1
2	p^2	$2pq$	q^2	1	...		

Pře přehladnost lze celý mechanismus popsat tabelární formou (tab. 7). Mechanismus se vztahuje i na populace sedentérních živočichů, uvolňujících gamety do prostředí (třeba mořských láčkovců).

V případě většiny živočichů, kteří jsou předmětem zájmu terestrické ekologie, by byl takovýto popis krajným zjednodušením. V tomto případě pohyblivé stadium představují zpravidla diploidní dospělé organismy, a i když rozmnožování není nutně spojeno s kopulací, k spojení samčích a samičích gamet dochází v místě, které je dáno pozicí samčího a samičího jedince. To, co se páruje, jsou tedy dospělí jedinci s konkrétními genotypy, nikoliv haploidní gamety. I zde však platí, že pravděpodobnost párování dvou genotypů je úměrná jejich zastoupení v populaci (tj. očekávaná frekvence pohlavního spojení dvou genotypů je rovná součinu jejich frekvencí v populaci; obr. 23).

Při popisu panmixie v živočišné populaci a odhadu očekávaných podílů alel a genotypů nutno zohlednit zastoupení genotypů v rodičovské generaci a genotypové štěpné poměry při jednotlivých typech křížení (tab. 8).

Jak při rostlinách (tab. 7), tak aj u živočichů (tab. 8) je zřejmé, že stačí jedna generace náhodného křížení, a v populaci se nezávisle na východiskových frekvencích genotypů

		♂		
		<i>P AA</i>	<i>H Aa</i>	<i>Q aa</i>
♀	<i>P AA</i>	P^2 $AA \times AA$ 1,0 AA	PH $AA \times Aa$ 0,5 AA + 0,5 Aa	PQ $AA \times aa$ 1,0 Aa
	<i>H Aa</i>	PH $Aa \times AA$ 0,5 AA + 0,5 Aa	H^2 $Aa \times Aa$ 0,25 AA + 0,5 Aa + 0,25 aa	QH $Aa \times aa$ 0,5 Aa + 0,5 aa
	<i>Q aa</i>	PQ $aa \times AA$ 1,0 Aa	QH $aa \times Aa$ 0,5 Aa + 0,5 aa	Q^2 $aa \times aa$ 1,0 aa

Obr. 23 Pravděpodobnosti vzniku jednotlivých genotypových rodičovských kombinací a zastoupení genotypů v jejich potomstvu

(*P*, *H*, *Q*) ustálí konstantní genotypová struktura, v případě báleického lokusu podíl p^2 homozygotů *AA*, $2pq$ heterozygotů *Aa* a q^2 homozygotů *aa*. Tuto strukturu však lze rozšířit na gen s libovolným počtem alel: frekvence libovolného homozygota A_{ii} je p_i^2 , frekvence libovolného heterozygota A_{ij} je $2p_i p_j$. Zároveň se v populaci udržuje konstantní alelická struktura, alelické frekvence také zůstávají neměnné. Tato konstantnost alelické a genotypové

struktury je důvodem, proč se panmixie zpravidla bere jako standard, vůči kterému se porovnává genetická struktura reálné populace. Předpokladem absence změn je, že párování v populaci je náhodné (tedy neexistuje žádná preference při výběru partnera), všechny genotypy jsou stejně životaschopné a stejně plodné (tj. v populaci neprobíhá žádná selekce), že nedochází ke změnám identity genů (mutacím), k přenosu genů z jiných populací (migraci) a že populace je dostatečně velká na to, aby odolávala náhodným změnám (genetickému driftu), protože pouze ve velké populaci se skutečné podíly genotypů přibližují očekávaním založeným na binomických (multinomických) pravděpodobnostech.

Komplikovanější je situace v případě gonozomálních genů. Pokud se jedná o gen, lokalizovaný v heterologické části pohlavního chromozomu *Y*, dědí se výlučně po otci (v případě savčího typu dědičnosti pohlaví), a při absenci evolučních mechanismů zůstává jeho frekvence konstantní. Při genu vázaném na chromozom *X* se může dědit od obou rodičů (obr. 24).

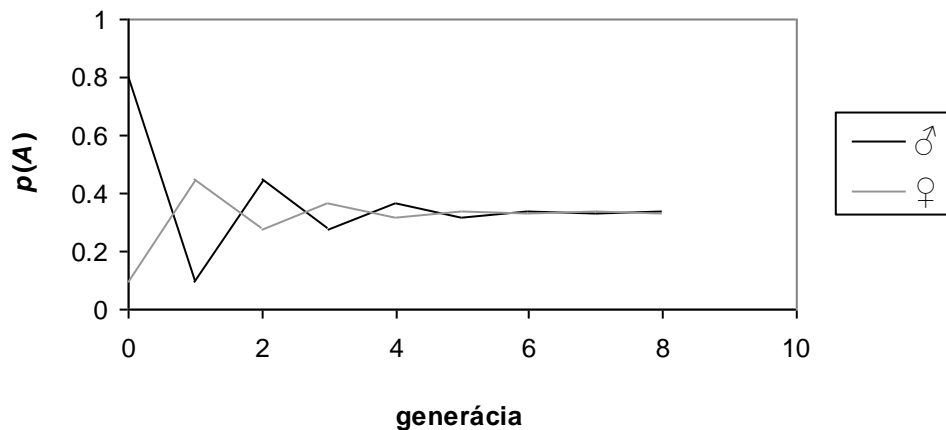
Geny vázané na chromozom *X* se vyskytují u homogametického pohlaví (v případě savců samice) ve dvou exemplářích, zatím co u heterogametického pohlaví jen v jednom, tedy samice přispívají k frekvenci genu v populaci dvěma třetinami, samci jednou třetinou.

Tab. 8 Schéma změn alelických a genotypových frekvencí v panmiktické živočišné populaci

		Genotypové frekvence rodičů			Alelické frekvence		
		AA	Aa	aa	A	a	
Generace 0		<i>P</i>	<i>H</i>	<i>Q</i>	$p=P+H/2$	$q=Q+H/2$	
Křížení	Frekv	Genotypové frekvence potomstva					
AA × AA	P^2	P^2	0	0			
AA × Aa	$2PH$	$\frac{1}{2} 2PH$	$\frac{1}{2} 2PH$	0			
AA × aa	$2PQ$	0	$2PQ$	0			
Aa × Aa	H^2	$\frac{1}{4}H^2$	$\frac{1}{2}H^2$	$\frac{1}{4}H^2$			
Aa × aa	$2QH$	0	$\frac{1}{2} 2QH$	$\frac{1}{2} 2QH$			
aa × aa	Q^2	0	0	Q^2			
Σ		$P^2+PH+\frac{1}{4}H^2$ $=(P+\frac{1}{2}H)^2$ $=p^2$	$PH+2PQ+QH+\frac{1}{2}H^2$ $=2(P+\frac{1}{2}H)(Q+\frac{1}{2}H)$ $=2pq$	$Q^2+QH+\frac{1}{4}H^2$ $=(Q+\frac{1}{2}H)^2$ $=q^2$	$p^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=p^2+pq=p$	$q^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=q^2+pq=q$	
Generace 1							
Křížení	Frekv	Genotypové frekvence potomstva					
AA × AA	$p^2\cdot p^2$	p^4	0	0			
AA × Aa	$2(p^2\cdot 2pq)$	$2p^3q$	$2p^3q$	0			
AA × aa	$2(p^2\cdot q^2)$	0	$2p^2q^2$	0			
Aa × Aa	$2pq\cdot 2pq$	P^2q^2	$2p^2q^2$	p^2q^2			
Aa × aa	$2(2pq\cdot q^2)$	0	$2pq^3$	$2pq^3$			
aa × aa	$q^2\cdot q^2$	0	0	q^4			
Σ		$p^4+2p^3q+p^2q^2$ $=p^2(p^2+2pq+q^2)$ $=p^2\cdot 1$ $=p^2$	$2(p^3q+2p^2q^2+pq^3)$ $=2pq(p^2+2pq+q^2)$ $=2pq\cdot 1$ $=2pq$	$p^2q^2+2pq^3+q^4$ $=q^2(p^2+2pq+q^2)$ $=q^2\cdot 1$ $=q^2$	$p^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=p^2+pq=p$	$q^2+\frac{1}{2}\cdot 2pq$ $=q^2+pq=q$	
Generace 2							
...							

		♂	
		<i>R A0</i>	<i>S a0</i>
♀	<i>P AA</i>	<i>PR</i> ♀ <i>AA</i> × ♂ <i>A0</i> 0,5♀ <i>AA</i> + 0,5♂ <i>A</i> 0	<i>PS</i> ♀ <i>AA</i> × ♂ <i>a0</i> 0,5♀ <i>Aa</i> + 0,5♂ <i>A0</i>
	<i>H Aa</i>	<i>HR</i> ♀ <i>Aa</i> × ♂ <i>A0</i> 0,25♀ <i>AA</i> + 0,25♀ <i>Aa</i> + 0,25♂ <i>A0</i> + 0,25♂ <i>a0</i>	<i>HS</i> ♀ <i>Aa</i> × ♂ <i>a0</i> 0,25♀ <i>Aa</i> + 0,25♀ <i>aa</i> + 0,25♂ <i>A0</i> + 0,25♂ <i>a0</i>
	<i>Q aa</i>	<i>QR</i> ♀ <i>aa</i> × ♂ <i>A0</i> 0,5♀ <i>Aa</i> + 0,5♂ <i>a0</i>	<i>QS</i> ♀ <i>aa</i> × ♂ <i>a0</i> 0,5♀ <i>aa</i> + 0,5♂ <i>a0</i>

Obr. 24 Pravděpodobnosti vzniku jednotlivých genotypových rodičovských kombinací a zastoupení genotypů v jejich potomstvu při gonozomálních genech vázaných na chromozom X.



Obr. 25 Vývoj frekvence alely vázané na X chromozom samců a samic v panmiktické populaci.

Pokud u bíaleického lokusu budou genotypové frekvence u samic *P* homozygotů *AA*, *H* heterozygotů *Aa* a *Q* homozygotů *aa*, zatím co frekvence hemizygotů *A* bude *R* a hemizygotů *a* bude *S*, potom frekvence alely *A* u samic je $p_f = P + H/2$, u samců $p_m = R$ (analogicky $q_f = Q + H/2$; $q_m = S$). Vzhledem k rozdílnému příspěvku samic a samců k alelickým frekvencím bude zastoupení alely *A* v celé populaci

$$p = \frac{2}{3} p_f + \frac{1}{3} p_m = \frac{1}{3}(2p_f + p_m) = \frac{1}{3}(2P + H + R)$$

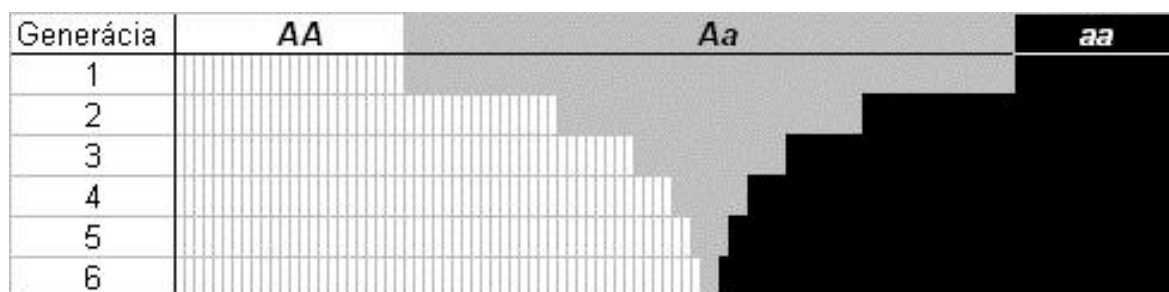
$$\text{(analogicky } q = \frac{1}{3}(2Q + H + S)\text{)}.$$

Samec s chromozomovou konstelací *XY* dědí chromozom *X* od matky a *Y* od otce. Geny vázané na gonozom *X* tedy může zdědit pouze od matky, frekvence alely v samčím potomstvu je proto rovná frekvenci u samic v rodičovské generaci ($p'_m = p_f$; $q'_m = q_f$). Samice (*XX*) získávají jeden chromozom *X* od matky, druhý od otce, tedy nezávisle na poměru pohlaví frekvence alely v samičím potomstvu je průměrem frekvencí v obou pohlavích rodičovské generace ($p'_f = \frac{1}{2}(p_f + p_m)$; $q'_f = \frac{1}{2}(q_f + q_m)$). Průměrná frekvence se tedy nemění, ale frekvence v rámci pohlaví osciluje kolem rovnovážné frekvence a poměrně rychle se k ní přibližuje (obr. 25).

Stejné vztahy samozřejmě platí při nejen při určení pohlaví typu *Drosophila* (XY), ale při všech typech dědičnosti pohlaví, u kterých o pohlaví rozhodují nehomologické pohlavní chromozomy nebo absence pohlavního chromozomu (ZW, X0, Z0, haplodiploidní určení).

Vývoj genetické struktury autogamní populace

Autogamie je extrémním případem příbuzenského křížení, kde se jedinec kříží sám se sebou (pochopitelně, možná je pouze u hermafroditních organismů). Vývoj genetické struktury autogamní populace je odlišný od případu panmixie. Opět, ilustrace na příkladě bialelického lokusu s úplnou dominancí: v první generaci je zastoupených P dominantních homozygotů AA , H heterozygotů Aa a Q recesivních homozygotů aa . V populaci probíhá při rozmnožování výlučně samoopylení, tj. každý jedinec se kříží jen se sebou samým. U homozygotů samoopylení produkuje vždy homozygotní potomstvo stejného genotypu. U heterozygotů však dochází ke štěpení ve smyslu Mendlových zákonů: vzhledem k tomu, že heterozygot produkuje dva typy samčích i samičích gamet (gamety s dominantní a s recesivní vlohou) a gamety se do genotypů potomstva kombinují náhodně, tento typ samoopylení produkuje čtvrtinu dominantních homozygotů, čtvrtinu recesivních homozygotů a jen polovinu heterozygotního potomstva. I když alelická struktura populace zůstává stejná, genotypová struktura se na rozdíl od panmixie mění. Podíl heterozygotů exponenciálně klesá vždy na polovinu podílu v předchozí generaci (obr. 26). Populace se rozpadá na směs homozygotních čistých linií.



Obr. 26 Schéma vývoje genotypové struktury populace obligatorně autogamního organismu

Tab. 9 Vývoj genotypové struktury populace obligatorně autogamního organismu

	Genotypové frekvence		
	AA	Aa	Aa
Generace 0	P	H	Q
Gamety	$1,0 A$	$0,5 A + 0,5 a$	$1,0 a$
Genotypy potomstva	$P AA$	$H/4 AA + H/2 Aa + H/4 aa$	$Q aa$
Generace 1	$P + H/4$	$H/2$	$Q + H/4$
Gamety	$1,0 A$	$0,5 A + 0,5 a$	$1,0 a$
Genotypy potomstva	$P + H/4 AA$	$H/8 AA + H/4 Aa + H/8 aa$	$Q + H/4 aa$
Generace 2	$P + 3/8 H$	$H/4$	$Q + 3/8 H$
Gamety	$1,0 A$	$0,5 A + 0,5 a$	$1,0 a$
Genotypy potomstva	$P + 3/8 H AA$	$H/16 AA + H/8 Aa + H/16 aa$	$Q + 3/8 H aa$
Generace 3	$P + 7/16 H$	$H/8$	$Q + 7/16 H$
...

Efektivní velikost populace

Ve všech modelech vztahů mezi velikostí populace a jinými parametry (např. koeficientem inbreedingu) použití nominální velikosti (tedy skutečného počtu jedinců) předpokládá, že všichni jedinci odevzdávají při reprodukci geny potomstvu v stejné míře. Tento předpoklad odpovídá realitě jen výjimečně. Pokud je podíl na tvorbě potomstva nestejný, je nutné nahradit velikost populace N tzv. efektivní velikostí populace N_e . Koncept efektivní velikosti (efektivního počtu) zahrnuje dva komponenty: koncept idealizované populace (kterou je nejčastěji izolovaná, náhodně se párující populace s oddělenými generacemi, ve které neprobíhá žádný výběr a nedochází v ní k mutacím genů) a koncept parametru, ve kterém se chování reálné populace porovnává s ideální situací. Efektivní velikost tedy určuje početnost panmiktické populace, která by při náhodném křížení vykazovala stejnou míru inbreedingu resp. stejnou varianci alelických frekvencí (tj. stejnou míru genetického driftu, viz níže) jako hodnocená reálná populace. Ve vztazích pro výpočet nárůstu inbreedingu nebo variancí genových frekvencí by tedy po správnosti velikost populace N měla být nahrazena efektivní velikostí N_e .

Odchytky od ideálně panmiktického párování, způsobující posun efektivní velikosti populace ve srovnání se skutečným počtem reprodukcí se jedinců, mohou být důsledkem více faktorů. V populacích s oddělenými pohlavími může být nevyvážen podíl samců a samic. Nutno připomenut, že ať je jejich poměr jakýkoli, ke tvorbě potomstva přispívají obě pohlaví stejnou mírou, tedy jejich příspěvek k varianci alelických frekvencí musí být brán stejnou vahou. Protože nárůst inbreedingu je úměrný polovině převrácené hodnoty velikosti populace ($\Delta F = 1/2N_e$), efektivní četnost se odvozuje z dvounásobku harmonického průměru četností obou pohlaví (za předpokladu stejné reprodukční schopnosti jedinců):

$$N_e = 2 \left[\left(\frac{1}{N_{\sigma}} + \frac{1}{N_{\varphi}} \right) / 2 \right]^{-1} = \frac{4N_{\sigma}N_{\varphi}}{N_{\sigma} + N_{\varphi}}$$

Podobně může docházet ke kolísání četnosti populace v různých generacích. Efektivní velikost je opět odvozena z harmonického průměru velikostí populace v jednotlivých generacích:

$$N_e = \left[\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} + \dots + \frac{1}{N_t} \right) / t \right]^{-1}$$

Nejběžnější příčinou odchylky od idealizovaného stavu populace je nestejná velikost potomstev (způsoběna rozdíly v plodnosti jedinců nebo životaschopnosti jejich potomstev). Pokud se má populace udržovat v konstantní velikosti, v každé generaci musí přežít v průměru dva potomci každého rodičovského páru. Při takovéto velikosti potomstva je efektivní velikost populace rovna

$$N_e = \frac{4N - 2}{\sigma_n^2 + 2}$$

kde σ_n^2 je variance velikostí potomstev.

4 EVOLUČNÍ MECHANISMUSY NA ÚROVNI POPULACE

Mutace jako zdroj dědičné proměnlivosti

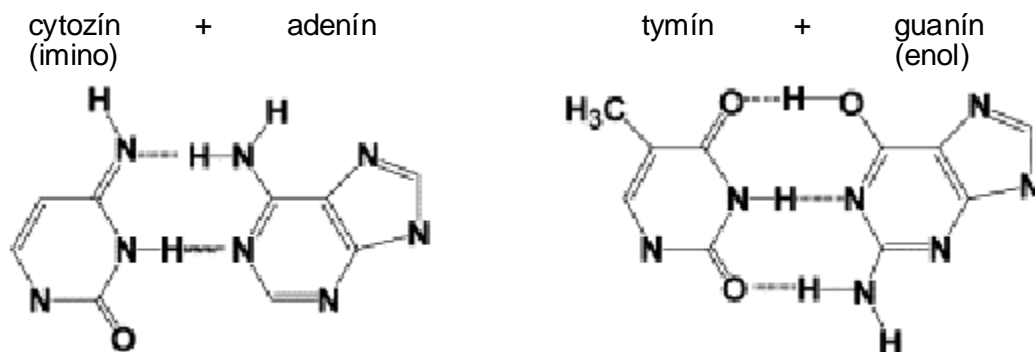
Dedičná proměnlivost vzniká dvěma mechanismy. Jedním z nich je vytváření nových kombinací existujících genů, proces označovaný jako rekombinace. Dochází k němu jednak v důsledku náhodné segregace chromozomů do nověvytvářených gamet v průběhu jejich tvorby meiotickým dělením zárodečných buněk, jednak vytvářením nových kombinací alel v rámci stejného chromozomu, tedy nových haplotypů, procesem crossing over (viz podkap. *Struktura a buněčný cyklus eukaryotické buňky*). Segregace a rekombinace však pouze novým způsobem organizují existující alely. Nejedná se o evoluční procesy: genetická informace se v jejich důsledku ve skutečnosti nemění, jen se při záměně generací vždy uspořádá novým způsobem, který je ovšem náhodný, neumožňuje žádné směřování. Z hlediska evoluce důležitějším zdrojem genetické proměnlivosti je změna genetické informace z hlediska její kvality (vznik nových alel) nebo kvantity (zmnožení nebo úbytek segmentů DNA nebo celých DNA molekul), označovaná termínem mutace.

Mutace mohou ovlivnit genetický materiál v rozdílném rozsahu. Fenotypový efekt mutace nemusí být nutně úměrný jejímu rozsahu. Změna jediného nukleotidu může v závislosti na kontextu genomu ovlivnit fenotypový projev drastičtěji než zmnožení celé chromozomové sady. Míra ovlivnění genetické výbavy je základem pro klasifikaci mutací.

Genové mutace

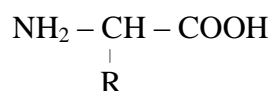
Genové mutace zasahují jeden nebo několik nukleotidů v rámci jednoho genu, mění tedy kvalitu genu. Změna sekvencí může spočívat ve změně kvality jednoho nebo více nukleotidů, nebo ve změně jejich kvantity (zvýšení nebo úbytek počtu nukleotidů, tedy délky sekvence genu).

Záměna jednoho nukleotidu za jiný je označovaná jako bodová mutace nebo substituce. Bodové mutace se rozlišují na tranzice (záměna purinové bázy za purinovou, tedy $A \leftrightarrow G$, nebo pyrimidinové za pyrimidinovou, tedy $C \leftrightarrow T$; tento typ substitucí je častější) a transverze (záměna purinové bázy za pyrimidinovou nebo opačně, tedy $C/T \leftrightarrow A/G$; méně častý typ substitucí). Takováto záměna může nastat i spontánně v důsledku tautomerie, tedy schopnosti organických bází zaujmout různé prostorové konformace spojené s přesunem elektrického náboje a tedy aj párovací schopnosti. Guanin v normální ketoformě (obr. 4) se páruje s cytosinem, zřidkavější enolforma (obr. 27) se páruje s thyminem. Cytosin v zřidkavější iminoformě (obr. 27) se páruje s adeninem. Bodové mutace mohou být způsobeny i mutagenními analogy bází (5-bromouracil, 2-aminopurin) způsobujícími častější tvorbu tautomerních izoform, alkylačními činidly (yperit, alkylsulfáty) způsobujícími alkylation bází a následné chybné párování, nebo dusitany a reaktivními formami kyslíku (peroxydy,



Obr. 27 Zřidkavé tautoméry bází způsobující chybné párování

superoxid, ozon) způsobujícími oxidační deaminaci adeninu, guaninu a cytosinu. Bodové mutace zpravidla zasahují jediný nukleotid a mohou eventuálně vést ke změně jedné aminokyseliny zařazené do polypeptidového řetězce. Jejich dopad na fenotyp je těžko odhadnutelný. Velkou část z nich představují synonymní mutace (angl. *synonymous mutation*), které nemění strukturu produkovaného polypeptidu. Jak bylo uvedeno, genetický kód je degenerovaný, jedna aminokyselina je zpravidla kódována 2–6 triplety. Změna báze na 3. pozici zpravidla nemění smysl kodonu, tedy znamená zařazení stejné aminokyseliny do polypeptidového řetězce. V některých případech mutace mění smysl kodonu (angl. *missense mutation*). Ne vždy takováto mutace mění funkci polypeptidu (viz příklad). Aminokyseliny lze v principu klasifikovat podle zbytku. Všechny esenciální aminokyseliny mají stejný typ struktury (viz kap. *Základy biochemie buňky*):



odlišují se jen zbytkem (R), který může být kyslý (zpravidla obsahuje další karboxylovou skupinu), zásaditý (další aminoskupina), elektricky neutrální, ale polární a tedy hydrofilní (–OH nebo –SH skupina) nebo nepolární a hydrofóbní (alifatický nebo aromatický homocyklický řetězec) (viz kap. *Základy biochemie buňky*). Pokud má zbytek původní aminokyseliny stejné vlastnosti jako zbytek aminokyseliny u mutované alely, zpravidla nedojde k změně funkce polypeptidu. Naopak, pokud se obě aminokyseliny zásadně chemicky odlišují, může se změnit terciární (3D) struktura proteinu, jeho afinita k lipidovým membránám, v případě enzymu optimum jeho fungování (teplota, pH) atd. Mutovaný polypeptid může dokonce nabýt úplně novou funkci. Bodové mutace touto cestou přispívají k tvorbě nové užitečné genetické proměnlivosti. Pochopitelně, efekt může být i opačný, tedy že mutovaný polypeptid ztratí schopnost plnit jakoukoli funkci. Nakonec, dojít může i záměně funkčního tripletu za některý z terminačních kodonů (*nonsense mutation*).

Zatím co bodová mutace postihuje jen jednu aminokyselinu, vsunutí nebo vypadnutí nukleotidů (inzerce nebo delece) způsobují posun čtecího rámce; takovéto mutace se označují jako posunové (angl. *frameshift mutation*). Zpravidla nevíme určit, která z alel je původní (*wildtype*) a která mutovaná, proto se jako zkratka často používá termín indel (*insertion/deletion*). V důsledku posunu čtecího rámce se změní všechny aminokyseliny od místa mutace po konec řetězce, a neočekávaný výskyt terminačního kodonu může řetězec zkrátit (s menší pravděpodobností může zrušení terminačního kodonu řetězec naopak prodloužit). V každém případě je polypeptidový řetězec produkovaný mutovaným genem zpravidla nefunkční. To platí i v případě vypadnutí nebo vsunutí jednoho nebo několika celých tripletů; identita aminokyselin se sice nemění, ale posunutí jejich polohy může změnit výslednou 3D strukturu proteinu.

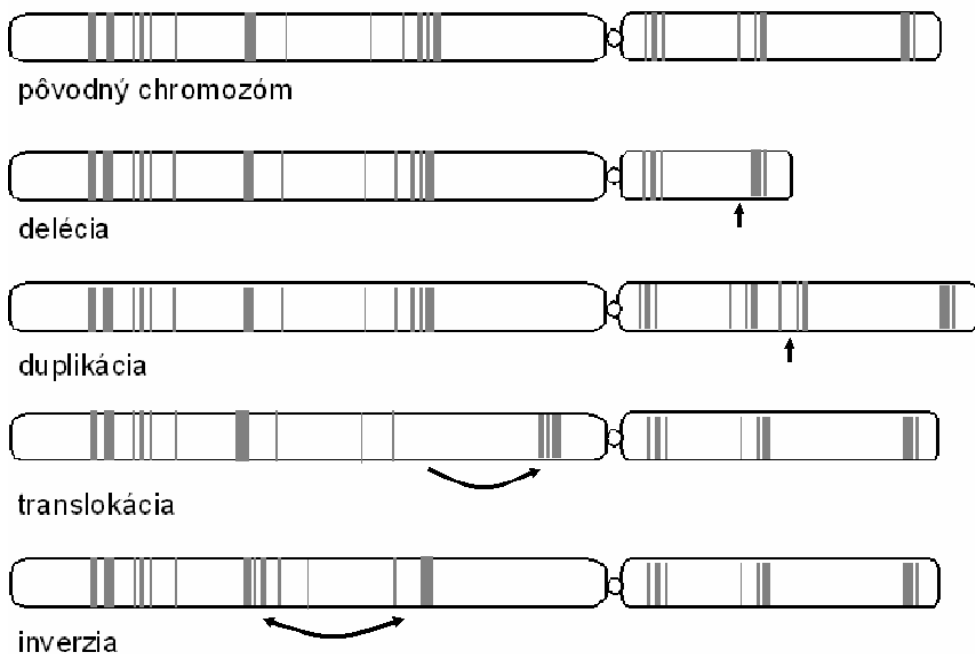
Genové mutace vznikají s vysokou frekvencí i při replikaci, chybovost DNA polymerázy je řádově 1 na 10^4 až 10^5 nukleotidů. Při celkové velikosti genomu řádově miláry až desítky miliard bázových párů (tab. 2) to představuje řádově desetitisíce až statisíce chybných nukleotidů na každé buněčné dělení. Další chyby vznikají působením exogenních faktorů (viz výše). Buňky si proto vytvářejí reparační mechanismy na vyhledávání a odstraňování těchto chyb. Jejich fungování závisí od typu chyby. Část chyb je odstraněna přímo DNA polymerázou díky její aktivitě kontroly správnosti párování (*proofreading*: identita přidaného nukleotidu v nově syntetizovaném řetězci je kontrolována oproti templátovému řetězci jedním z polypeptidů komplexu DNA polymerázy III, v případě chybného párování je nukleotid odstraněn a nahrazen správným). Další mechanismy fungují po ukončení replikace. Pyrimidinové diméry (kovalentní vazby mezi sousedícími cytosiny nebo thyminy) vznikající v důsledku UV-B ozáření jsou odstraňovány fotoreaktivací: specifický enzym aktivovaný

viditelným světlem tyto vazby rozpojí. Další, komplexnější mechanismus představuje excizní reparace. Poškození jednotlivých nukleotidů (například deaminací purinů) se odstraňují vystřížením báze: poškozená báze je rozeznána a odstraněna DNA glykozylázou, nukleotid zbaven purinu nebo pyrimidinu je následně rozeznán AP-endonukleázou, fosforylovaný cukrový zbytek je odstraněn fosfodiesterázou, správný nukleotid je přidán DNA polymerázou, a řetězec je spojen ligázou). Rozsáhlejší lesie, které způsobují deformaci sekundární struktury molekuly DNA (spirály) jsou opravovány nukleotidovou excizní opravou. Metylací řízená postreplicační oprava párování (*mismatch repair*) je založena na rozeznávání templátového řetězce díky metylaci adeninu na něm. Chybně spárované nukleotidy na nověsyntetizovaném (nemetylovaném) řetězci jsou vystříženy a nahrazeny. Posledním typem reparačních mechanismů je rekombinační oprava, podstatou které je výměna poškozených částí mezi dvěma molekulami DNA rekombinací (crossing-overem) tak, že se chybné úseky soustředí jen na jedné z nich, tedy vznikne jedna plně funkční a jedna nefunkční molekula DNA. Reparační mechanismy snižují výslednou frekvenci mutací na úroveň 10^{-10} – 10^{-11} na nukleotid a generaci.

Chromozomové mutace

Chromozomové mutace postihují větší úsek chromozomu, zpravidla obsahující několik genů. V tomto případě se tedy nejedná o změnu kvality, nýbrž o změnu kvantity nebo uspořádání genů. Delší úsek může vypadnout (delece); v tomto případě mohou být některé funkce organismu narušeny ztrátou genů (zejména pokud jde o geny existující v jediné kopii v genomu; některá závažná geneticky podmíněná onemocnění u člověka jsou způsobeny delecí částí chromozomů, např. Willámsův nebo Jacobsenův syndrom). Naopak, část chromozomu může být zduplikovaná, takovýto úsek se potom vyskytuje na tom samém chromozomu dvakrát. Nejjednodušeji se duplikují tandemová opakování genů, tj. pokud se úsek už vyskytuje ve více kopiích, lehce k nim přibude nebo ubude další: v takovýchto segmentech se mohou homologické chromozomy při meióze (synapsi) chybně párovat a následně může dojít k nereciproké translokaci, při které je nespárovaný úsek vystřížen z jednoho chromozomu a vložen do druhého. Opakovanými duplikacemi vznikají genové rodiny (*gene families*). Genová dávka, tedy počet kopií genu v genomu, může spoluurčovat biochemickou funkčnost genu. Genové mutace může poškodit regulační oblast některého z genů genové rodiny – v tomto případě se životaschopnost organismu nemusí vůbec změnit, protože má k dispozici rezervní kopii genu. Takovéto sekvence a chromozomy, které je nesou, nejsou tedy vylučovány přírodním výběrem; strukturální část genu zůstává součástí genomu, i když nefunguje. Tyto úseky se označují jako pseudogeny. Duplikované geny představují taktéž surovinu pro evoluci. Pokud má organismus k dispozici více kopií některého genu a bodová mutace způsobí v jednom z nich změnu funkce nebo nabytí úplně nové funkce (a tedy ztrátu té původní), organismus zůstává životaschopný a nový gen může přispět ke změně jeho fenotypu.

Změna pozice genu nebo jiného segmentu DNA na chromozomu se označuje jako translokace. Jedním z její typů je reciproká translokace, při které si dva chromozomy vymění mezi sebou svoje části. Tento typ mutací lze rozoznat během zygoténu meiozy díky vytvoření synapse ve tvaru kříže, sestávající ze čtyř chromozomů (místo dvou), které jsou spárované ve svých homologických úsecích. Při transpozici je úsek DNA vystřížen ze své pozice a vložen na jinou na stejném chromozomu. Translokace jsou nejčastěji důsledkem aktivity transponibilních elementů (transpozónů), „molekulárních parazitů“, které se v genome často množí v obrovském rozsahu (viz tab. 3). Samy o sobě nemusí ohrožovat životaschopnost organismu, ale představují evoluční balast a zvětšují genom, takže zvětšují nároky na zdroje a energii při každém buněčném dělení.



Obr. 28 Typy chromozomových mutací

Dalším typem chromozomové mutace je inverze, při které je segment chromozomu vystřižen a vložen na stejné místo s opačnou orientací. Rozsáhlou inverzi obsahuje chloroplastový genom: kromě dvou úseků obsahujících neopakované geny (LSC a SSC segment) obsahuje dva proti sobě ležící dlouhé invertované úseky, které představují svůj vzájemný zrcadlový obraz.

Přeuspořádání genomu v důsledku inverze nebo translokace nemusí nutně snižovat životaschopnost organismu ani při velkém rozsahu, ale může vést k reprodukční izolaci mutanta od zbytku populace, protože mění pozici homologických úseků a tím ztěžuje párování chromozomů při meioze. Rekombinace původních a mutovaných chromozomů (pokud je vůbec možná) může navíc vyvolávat rozsáhlé delecce dlouhých úseků a ztrátu genů; takovéto rekombinované chromozomy jsou zpravidla nefunkční a způsobují ztrátu životaschopnosti.

Dvouřetězcové zlomy (tedy přerušení obou řetězců DNA na stejném místě; přerušené úseky nejsou ničím spojeny) vedou ke chromozomovým zlomům (tedy rozpadu chromozomu na dvě samostatné části). Zpravidla vedou k závažným poruchám funkce organismu, protože jen jeden z úseků má centroméru a tedy normálně funguje při buněčném dělení. Homologické chromozomy nebo sesterské chromatidy se mohou i spojit (fúze chromozomů). Takovéto chromozomy dokážou normálně fungovat, pokud si zachovají jen jednu centroméru; dicentrické chromozomy nejsou schopny normální migrace během mitózy. Specifickým typem fúzí chromozomů je Robertsonská translokace, při které se spojují dva akrocentrické chromozomy za vzniku jednoho metacentrického chromozomu.

Genomové mutace

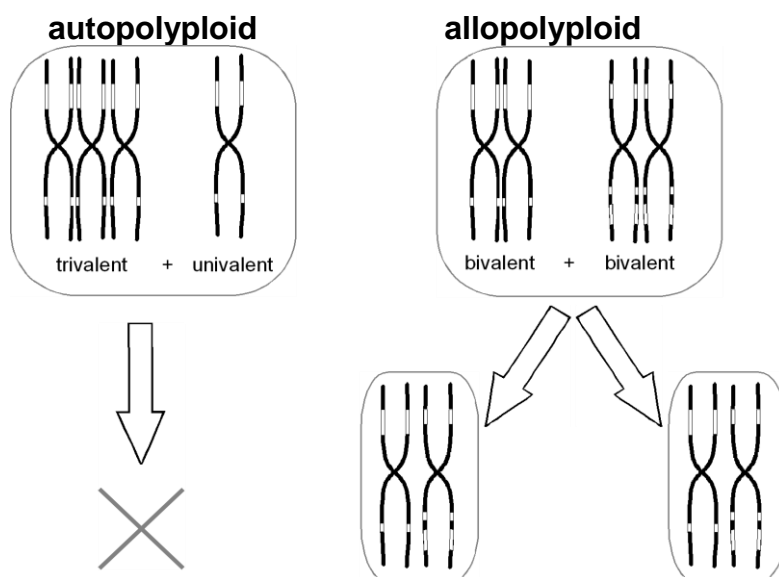
Genomové mutace postihují celé chromozomy resp. celé chromozomové sady, mění jejich počet a tím zásadně mění velikost genomu. Vznikají v důsledku nepravidelnosti buněčného dělení, kdy se chromozomy nerozejdou správně do dceřiných jader. Rozlišuje se aneuploidie, kdy se konkrétní chromozom nachází v buňce v jedné nebo třech kopiích namísto v dvou,

a euploidie (polyploide), při které je znásobena celá chromozomová sada. Poruchy buněčného dělení mohou být například vyvolané kolchicinem nebo nízkými teplotami, které blokují tvorbu dělicího vřeténka. Proto se polyploidie u rostlin častěji vyskytuje ve vysokých zeměpisných šířkách nebo nadmorských výškách, kde teploty často klesají k nízkým hodnotám během období kvitnutí. Na rozdíl od živočichů, kde se linie zárodečných buněk (germinální linie) odděluje od somatických buněk velmi brzy během ontogeneze (ještě v embryonálním stádiu), u rostlin tyto buněčné linie oddělené nejsou. Klon polyploidních buněk tedy může vytvářet reprodukční orgány, které produkují gamety s vyšším než haploidním počtem chromozomů.

Při aneuploidii jedna kopie chromozomu buď chybí (monozomie) nebo je navíc (trizomie). U živočichů je aneuploidie zpravidla letální nebo vede k závažným vývojovým poruchám; mnohé geneticky podmíněné nemoci u člověka souvisí se změnou počtu chromozomů (trizomie má fatální následky už v embryonálním stádiu v případě 16 z 22 autozomů u člověka, při čtyřech má plod výjimečně šanci dožít se porodu, a jen při chromozomech 9 a 21 je jedinec životaschopný, i když postižený – trizomie chromozomu 21 způsobuje Downův syndrom; monozomie je vždy letální). Rostliny tolerují aneuploidii podstatně lépe, ne vždy má změna počtu chromozomů i dopad na fenotyp.

Polyploidie je u živočichů výjimečná, u rostlin naopak poměrně běžná, mnohé rostlinné rody obsahují sérii druhů s rozdílnými stupni ploidie. Podobně vysoký počet chromozomů některých rodů (*Tilia*, $n = 81$) naznačuje jejich polyploidní původ. Chromozomové sady polyploidů nemusí být identické původem. Při autopolyploidii buňky obsahují nadbytečné sady plně homologických chromozomů, zpravidla v důsledku absence dělení jádra nebo absence cytokinézy. Autopolyploidi jsou zpravidla sterilní v důsledku nepravidelného párování chromozomů během meiózy: místo bivalentů se vytvářejí trivalenty a univalenty (tedy trojice homologických chromozomů a jeden zbývající) a chromozomy nesegregují pravidelně do gamet. Pokud se rozmnožují nepohlavní cestou (apomikticky), může akumulace mutací (zejména reorganizace chromozomů translokacemi a inverzemi) snížit stupeň homologie a tím eliminovat problémy s párováním chromozomů. V tomto případě se může obnovit schopnost pohlavního rozmnožování.

Allopolyploidie (alloplodie) je spojena s hybridizací. Homoploidní hybridy (vznikající spojením párů gamet, pocházejících od rodičů patřících k rozdílným druhům, do diploidní zygoty) jsou často sterilní, mimo případu, kdy chromozomy všech párů jsou dostatečně homologické (což se může stát, pokud jsou si rodičovské druhy fylogeneticky dostatečně blízké). Diploidizace prostřednictvím mitózy, za kterou nenásleduje cytokinéza, vede v tomto případě k přítomnosti dvou sad perfektně homologických chromozomů (každá dvojice je tvořena replikovanými molekulami DNA, jsou tedy absolutně shodné), což umožňuje jejich pravidelnou segregaci do gamet. Druhou, méně častou možností je, že rodičovské druhy produkují neredukované diploidní gamety, které se spojují do tetraploidní zygoty. Vzhledem k tomu, že chromozomy pocházející od různých rodičů nejsou plně homologické a mají rozdílnou strukturu, z funkčního hlediska se takovíto jedinci chovají jako diploidi (jsou označováni jako amfidiploidi) a jsou zpravidla plně fertillní. Tento proces se může opakovat i vícekrát a může se na něm zúčastňovat i víc rodičovských druhů než dva. Trojití hybridy byli identifikováni např. v rodu *Sorbus* a jiných rodech čeledi růžovitých. Nejlepším příkladem je však pšenice (*Triticum aestivum*): současné nejběžněji používané kultivary jsou hexaploidní a obsahují tři různé genomy, vznikli nejdříve spontánní hybridizací *Triticum urartu* × *Aegilops speltoides* (= *Triticum durum*) a tento tetraploid se následně spontánně křížil s *Aegilops tauschii*.



Obr. 29 Schéma párování chromozomů autopolyploida a allopolyploida při meioze a tvorbě gamet. Světlou barvou jsou označeny úseky na chromozomu, které u různých rodičovských druhů nejsou homologické. Allopolyploid se chová jako funkční diploid.

Mikroevoluce

Genetická struktura populací (alelická, genotypová, haplotypová) se z generace na generaci může měnit. Pokud jsou dvě populace navzájem reprodukčně izolovány, tedy nevyměňují si při reprodukci navzájem geny, jejich genetické struktury budou s postupem času divergovat. V důsledku toho se postupně bude měnit i jejich fenotypová struktura až natolik, že je botanik nebo zoolog zařadí k rozdílným taxonům. Rychlost procesu akumulace změn nemusí být v čase konstantní. V jeho rámci může dojít k nárazové reorganizaci genomu například masivním zvýšením frekvence mutací po přírodní katastrofě, změnou ploidie, změnou chromozomové struktury, u eukaryot hybridizací, u prokaryotů horizontálním transferem genů, inkorporací genomu endosymbiontů (cyanobakterie změněné na chloroplasty, α -proteobakterie změněné na mitochondrie) nebo endoparazitů (*Wolbachia*) apod. Nic to nemění na skutečnosti, že je tento proces zpravidla postupný, a proto je označován jako evoluce.

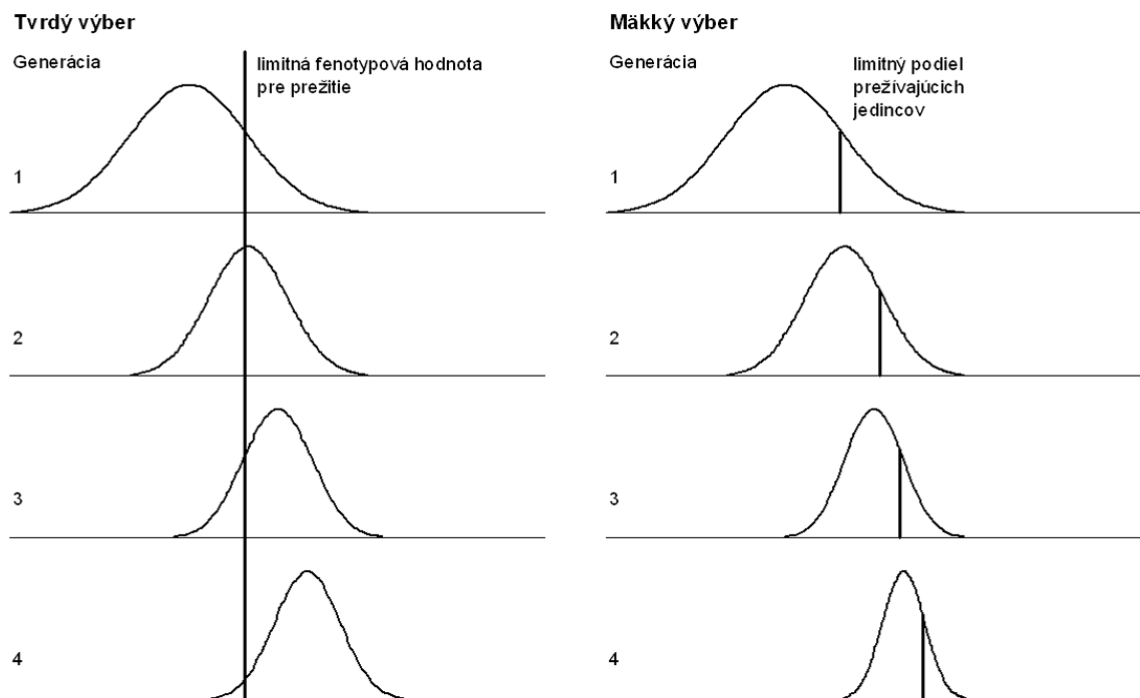
Evoluční biologie zpravidla rozlišuje mezi mikroevolucí, tedy procesem postupných změn zastoupení genů (alelických frekvencí) v rámci populace, vedoucím ke vzniku nových linií, variet až druhů, a makroevolucí, jako procesem zásadních změn dědičného materiálu, provázených změnou stavebních plánů těla a vedoucích ke vzniku vyšších taxonů. Rozdílná je i časová míra obou procesů (i když v případě evoluce lze spíše hovořit o komplexech procesů): mikroevoluce uvažuje v míře generací, makroevoluce v míře geologických období.

Biologická realita je zpravidla příliš komplexní na to, aby byli synteticky popsány všechny její aspekty. Populační genetika proto staví na modelech popisujících chování populace pod vlivem konkrétních evolučních procesů. I když tyto modely zjednodušují biologickou skutečnost, umožňují pochopit, jak rozdílné evoluční mechanismy a faktory ovlivňují genetickou a následně fenotypovou strukturu. V tomto smyslu poskytují referenční standard, vůči kterému se srovnává chování konkrétní reálné populace nebo souboru populací.

Selekce

Definice selekce, fitness

Alely polymorfního genu přítomné v populaci nemusí být při reprodukci odevzdávány generaci potomstva ve stejné míře. Nositelé různých genotypů se mohou odlišovat šancí dožít se věku dospělosti (definovaného jako věk, kdy nabydou schopnost rozmnožování), nebo pokud se jim podaří tento věk dosáhnout, svou reprodukční schopností. Ta nemusí být definována pouze schopností produkovat gamety jako takovou, ale i schopností gamet spojovat se do zygot, načasováním jejich tvorby ve srovnání se zbytkem populace atd. Oba tyto faktory, tedy životaschopnost a plodnost genotypu, určují jeho schopnost odevzdávat geny generaci potomstva, která se označuje jako biologická zdatnost (ang. *fitness*). Rozdíly v biologické zdatnosti jsou základem přírodního výběru (selekce). Na rozdíl od obecného laického chápání výběru, který definuje výběr jako rozdílné přežívání jedinců, přírodní výběr se vztahuje na gen, a spočívá v rozdílné míře resp. rozdílné pravděpodobnosti, s jakou je konkrétní varianta genu (alela) odovzdáváva při reprodukci do následné generace. Předmětem selekce může být v principu jakýkoli znak, který souvisí s biologickou zdatností. Jejím důsledkem je, že průměrná hodnota takového znaku se z generace na generaci posouvá směrem k příznivějším hodnotám. Tento proces se označuje jako adaptace.



Obr. 30 Schéma působení tvrdého a měkkého výběru

Z hlediska mechanismu výběru, jeho biologického a ekologického základu, nutno rozlišovat dva typy výběru. Při tvrdé selekci (*hard selection*) je pro přežití jedince resp. jeho uplatnění v reprodukci nutné dosáhnout určitou kritickou hodnotu znaku souvisejícího s biologickou zdatností. Pokud jedinec tuto hodnotu nedosáhne nebo překročí (v závislosti na tom, zda jde o minimum nebo maximum daného znaku), znemožní mu to dožití se dospělosti nebo reprodukci. Měkký výběr (*soft selection*) nezohledňuje konkrétní hodnotu znaku, ale eliminuje z populace konkrétní konstantní podíl jedinců s nejhorsími hodnotami znaku. V tomto případě o přežití nebo reprodukci nerozhoduje absolutní hodnota znaku, ale hodnota

relativní vůči populačnímu průměru. Měkký výběr (navzdory svému označení) je obecně efektivnějším selekčním mechanismem, protože neumožňuje populaci vyhnout se selekci. Pokud se v důsledku tvrdého výběru hodnota znaku v populaci posune nad kritickou hranici, výběr v populaci přestává působit, protože všichni jedinci v ní splňují selekční kritérium (obr. 30; tvrdý výběr po 4. generaci v principu přestává působit). Měkký výběr však nezná žádný limit ani žádnou cílovou hodnotu, z populace trvale vylučuje „nejhorší“ genotypy a teoreticky působí až do úplného vyčerpání genetické proměnlivosti. Obr. 30 je nutno samozřejmě chápat jako schematický; proces výběru je deterministický jen do jisté míry, limit jak při tvrdém, tak i při měkkém výběru není ve skutečnosti pevná hranice rozhodující o přežití nebo nepřežití, přiblížení se k tomuto limitu pouze zásadně mění pravděpodobnost přežití.

Biologická zdatnost však může záviset od zastoupení alely resp. genotypu v populaci (*frequency-dependent selection*). Škůdci nebo patogenní organismy, které se adaptují na genotyp hostitelské rostliny (genotypy se mohou odlišovat chemickým složením, obrannými mechanismy a množstvím dalších vlastností, kterým se patogeny musí přizpůsobovat), mohou preferovat nejčastější genotyp v populaci, protože poskytuje nejpřístupnější zdroj; pokud se populace škůdce adaptuje na tento zdroj, nejčastější genotyp začne být jejím působením potlačován, tedy jeho frekvence bude postupně klesat a v populaci převládne jiný genotyp, který si časem přitáhne pozornost škůdce. Frekvence genotypů tedy oscilují okolo rovnovážné hodnoty; tento mechanismus se označuje jako negativní spatná vazba. V jiném případě mohou například opylovače preferovat nejčastější barvu nebo vůni květů a tedy zvyšovat frekvenci genotypů, které ji určují. V tomto případě frekvence nejčastějšího genotypu dále narůstá, jde o mechanismus pozitivní spatné vazby.

Mechanismy selekce v panmiktické populaci

Dopady selekce na alelickou a genotypovou strukturu populace byli tradičně studovány ve velkých panmiktických populacích s oddělenými generacemi, vystavených tvrdé selekci.

Průměrná biologická zdatnost populace se dá odvodit od frekvence a fitness genotypů, které jsou v ní zastoupeny: pokud je v populaci alela A_i zastoupena podílem $p(A_i)$ a fitness genotypu A_iA_j je $W(A_iA_j)$, průměrná biologická zdatnost populace se dá odvodit jako

$$\bar{W} = \sum_i p(A_i)^2 W(A_iA_i) + 2 \sum_i \sum_{j < i} p(A_i) p(A_j) \cdot W(A_iA_j)$$

z čeho vyplývá, že očekávaná frekvence genu A_i v potomstvu po náhodném párování v rodičovské generaci bude

$$p'(A_i) = \left(p(A_i)^2 W(A_iA_i) + 0.5 \cdot 2 \sum_{j \neq i} p(A_i) p(A_j) \cdot W(A_iA_j) \right) / \bar{W}$$

$$= p(A_i) \left(p(A_i) W(A_iA_i) + \sum_{j \neq i} p(A_j) \cdot W(A_iA_j) \right) / \bar{W}$$

Pro zjednodušení výpočtů se biologická zdatnost nahrazuje selekčním koeficientem, který vyjadřuje sílu selekčního tlaku vůči jednotlivým genotypům ve srovnání s genotypem s nejvyšší biologickou zdatností (který tedy selekci vystaven není):

$$s(A_iA_j) = 1 - W(A_iA_j) / W_{max}$$

Selekční koeficient genotypu se tedy pohybuje v intervalu $\langle 0,1 \rangle$ a vyjadřuje podíl jedinců genotypu, který za jednu generaci z populace vypadne (tedy nedožije se dospělosti nebo se nezúčastní reprodukce). Pro nejzdatnější genotyp nabývá hodnotu 0, pro úplně neplodný nebo neživotaschopný genotyp nabývá hodnotu 1.

Výsledek selekce lze měřit změnou zastoupení genu za 1 generaci. Směr a rychlost vývoje frekvence alely vystavené selekci pochopitelně závisí od fenotypového účinku genu (úplná, neúplná dominance, superdominance, aditivita) a od alelické struktury rodičovské generace. V principu lze odvodit změny frekvence selektovaného genu i pro multialelický lokus, ale jednodušším řešením je sledovat selektovanou alelu ve srovnání s celým

komplementem (tj. všechny zůstávající varianty brát jako jednu alelu s jednou průměrnou biologickou zdatností). Rychlost změn je ve všech modelech funkcí východiskové frekvence genu vystaveného selekčnímu tlaku q a selekčního koeficientu jednotlivých genotypů s .

Škodlivé geny (včetně letálních genů, tedy genů způsobujících smrt svého nositele) obecně mají tendenci chovat se jako recesivní. Diploidní buňka obsahuje dvě kopie každého autozomálního genu. Pokud je jedna z těchto kopií poškozena (neexprimuje se, nebo vytváří nefunkční protein), buňka má stále k dispozici „rezervní“ kopii, která se exprimuje do žádaného produktu. Nositel jedné defektní kopie se tedy fenotypově (ani zdatností) nemusí nijak lišit od jedince s oběma funkčními alelami. Postižen je jen jedinec, který má obě alely defektní. V takovém genu se tedy uplatňuje úplná dominance: přežívajícího (tedy dominantního) homozygota nelze fenotypově odlišit od heterozygota (jejich selekční koeficienty jsou tedy nulové: $s_{AA} = s_{Aa} = 0$), pouze postižený (recesivní) homozygot je fenotypově odlišný (snížená nebo nulová životaschopnost nebo plodnost; $s_{aa} = s > 0$). Změna frekvence recesivního škodlivého genu se jednu generaci je

$$\Delta q = -s(1-q)q^2/(1-sq^2).$$

V případě letálního genu jsou recesivní homozygoti v každé generaci úplně eliminováni; pro $s_{aa} = 1$ se tento vztah zjednoduší na $\Delta q = -q^2/(1+q)$.

Jak vyplývá z těchto vztahů, silná selekce při vysoké východiskové frekvenci nevýhodného genu vyvolávají jeho rychlý úbytek z populace. Recesivní geny podmiňují celou řadu dědičných nemocí (u člověka cystická fibróza, spinální svalová atrofie, G6PDH deficiencie atd.), často podmiňují odumření organismu už v embryonálním stadiu (u člověka jsou považovány za hlavní příčinu spontánních potratů v prvním trimestru, u rostlin za hlavní příčinu výskytu prázdných semen).

I když méně často, nevýhodné geny mohou být i dominantní. Pokud mutace způsobí, že produkt nové alely naruší fungování organismu, tak k tomuto narušení dojde i v případě, že je v genotypu přítomna jen jedna kopie nové alely – heterozygot i homozygot v nové alele trpí postižením ve stejné míře, a naopak recesivní homozygot (nevytvářející škodlivý produkt) má vyšší fitness ($s_{AA} = s_{Aa} = s > 0$, $s_{aa} = 0$). Pokud je dominantní gen letální, je z populace eliminován hned v následující generaci, protože žádný z jeho nositelů (heterozygot ani homozygot) se dospělosti nedožije. Pokud letální není, jeho zastoupení klesá resp. frekvence výhodné recesivní alely stoupá rychlostí $\Delta q = s(1-q)q^2/(1-s+sq^2)$ za generaci. Opět existuje řada příkladů dědičných nemocí člověka s tímto pozadím (neurofibromatóza, Huntingtonova chorea atd.).

V případě aditivity se fenotypové účinky alel sečítají, z čeho vyplývá, že heterozygotní nositel jedné nevýhodné alely je z populace vylučován s poloviční pravděpodobností ve srovnání s homozygotním nositelem dvou nevýhodných alel: $s_{AA} = 0$, $s_{Aa} = s/2$, $s_{aa} = s$. Frekvence nevýhodného genu v tomto případě klesá rychlostí $\Delta q = -sq(1-q)/[2(1-sq)]$ za generaci.

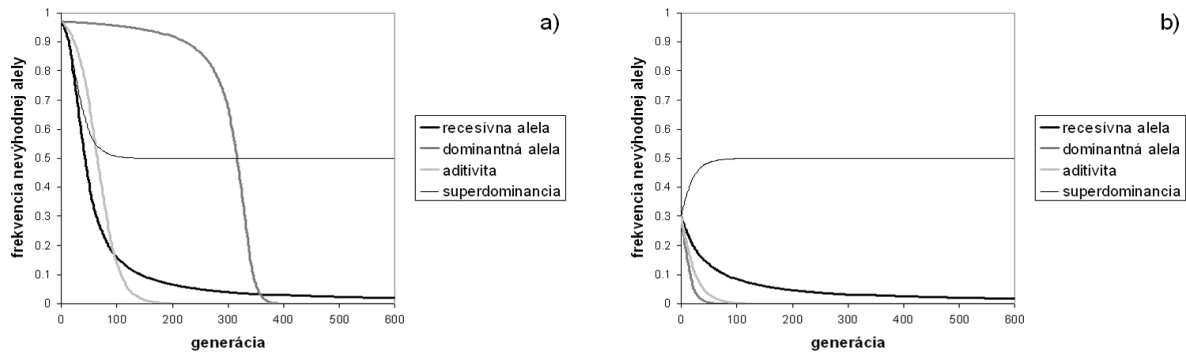
Poslední možností je superdominance, při které zdatnost heterozygota převyšuje fitness obou homozygotů: $s_{Aa} = 0$, $s_{AA} = s_1$, $s_{aa} = s_2$. Vývoj alelické frekvence závisí od vzájemného poměru selekčních tlaků oproti oběma homozygotům:

$$\Delta q = q(1-q)[s_1(1-q) - s_2q]/[1 - s_1(1-q)^2 - s_2q^2]$$

Při všech ostatních mechanismech selekce vede v konečném důsledku k eliminaci jedné alely a fixaci druhé. Selekcce v prospěch heterozygotů je výjimkou, vede k ustavení rovnovážné frekvence $q_{eq} = s_1/(s_1 + s_2)$. Dobrým příkladem tohoto typu selekce je výskyt recesivně letální srpkovité anemie. Jde o dědičné onemocnění člověka, způsobené bodovou mutací v β -globinovém řetězci hemoglobinu. Homozygoti trpí těžkou anemií s vysokou mortalitou. Heterozygoti jsou rezistentní vůči malárii a klinické projevy anemie jsou u nich velmi mírné; ve srovnání se zdravými jedinci jsou jimi mírně znevýhodněni, ale rezistence vůči potenciálně fatální parazitární nemoci (kterou malárie nepochybně je) jim v oblastech

s vysokým výskytem malárie poskytuje nespochybnitelnou výhodu, mají tedy nejvyšší výslednou biologickou zdatnost ve srovnání s homozygotními genotypy.

Heterozygoti mohou být samozřejmě i znevýhodněni proti oběma homozygotům. Matematický model v tomto případě předpokládá ustavení stejné rovnovážné frekvence, jako při zvýhodnění heterozygotů. Táto rovnováha je však extrémně labilní, jakékoli náhodné výchýlení v prospěch jednoho z homozygotů způsobí, že druhý je z populace rychle eliminován.



Obr. 31 Změna frekvence znevýhodněné alely v závislosti na východiskové frekvenci a módu dědičnosti. a) $q=0,97$, b) $q=0,3$.

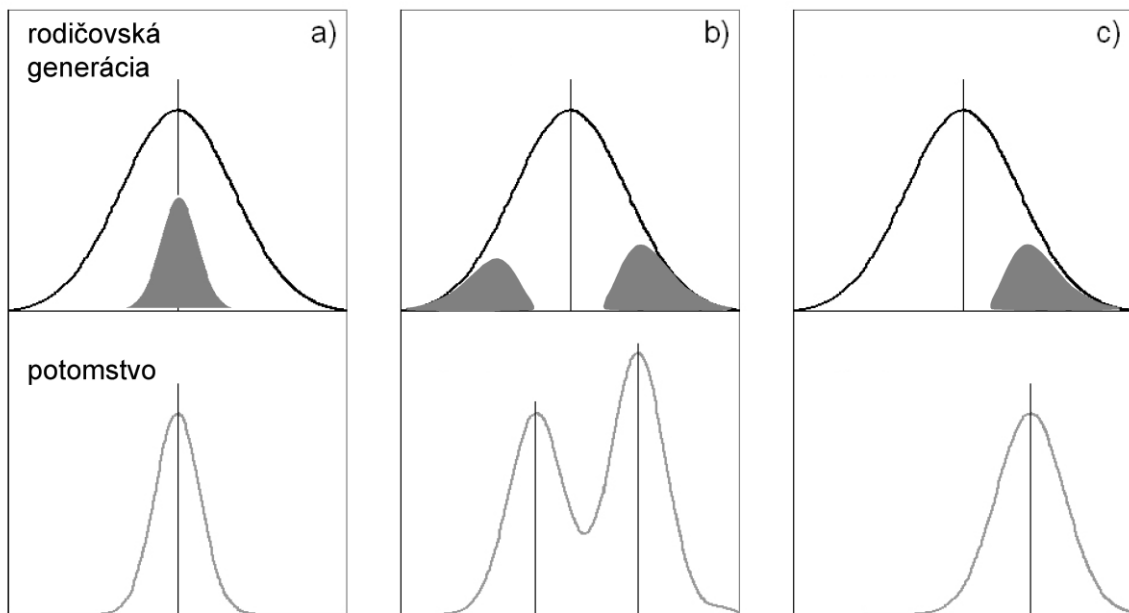
Jak je vidět z obr. 31, osud alely vystavené selekci závisí od její východiskové frekvence. Teoreticky je nevýhodný gen z populace vytlačen v každém případě (s výjimkou superdominance). Pokud je východiskové zastoupení nízké, nejrychleji z populace vymizí dominantní alela, při vysoké východiskové frekvenci je alela nejrychleji vytlačena při čisté aditivitě. V případě, že nevýhodný gen je recesivní, úbytek je nejprve rapidní, ale později se výrazně zpomalí a nevýhodná alela se v dostatečně velké populaci může udržet po mnoho generací. To platí dokonce i pro recesivně letální geny, díky čemu se geny vedoucí k tomuto typu dědičných poruch v lidské populaci udržují prakticky permanentně (což samozřejmě platí i pro dědičné poruchy u jiných organismů, zmapovány v podstatně menším rozsahu).

Stabilizační, disruptivní, usměrněný výběr

Předmětem výběru je vždy fenotyp jedince, ne jeho geny. I v případě letálních genů jedince nezabíjí dědičná informace v jeho genomu, ale klinické projevy nemoci, kterou gen způsobuje. Je důležité uvědomit si, že selekce proti genům je vždy zprostředkována fenotypem, protože biologická zdatnost je komplexní fenomén (fitness jako takovou nelze považovat za znak, ale je založena na množství morfologických nebo fyziologických znaků, ze kterých každý může mít vlastní dědičný základ), z čeho vyplývá, že je z principu polygenní. Selektce díky svému dopadu na rozdělení jakéhokoli znaku podílejícího se na biologické zdatnosti může tedy mít dopad na více genů současně.

V populaci může přírodní výběr preferovat či naopak potlačovat nositele různých fenotypů v závislosti na biologickém mechanismu, kterým působí. V principu lze z tohoto hlediska rozlišovat tři typy selekce. Při stabilizačním výběru (obr. 32) mají vyšší šanci na přežití a reprodukci jedinci s hodnotami znaku blízko průměru populace. Alely podmiňující extrémní hodnoty znaku (vysoké nebo nízké) jsou z populace odstraňovány, v důsledku čeho proměnlivost z generace na generaci klesá, i když populační průměr zůstává stejný. Příkladem může být selekce na porodní hmotnost u savců: příliš malá mláďata v přírodě uhynou, porod příliš velikých mláďat nepřežije jejich matka. Naopak, při disruptivním (divergentním) výběru jsou potlačováni průměrní jedinci a vyšší šanci na přežití

a rozmnožení mají oba extrémny, čímž jsou preferovány i geny, které extrémní projevy podmiňují. Šířka proměnlivosti v takovéto populaci z generace na generaci narůstá, může se dokonce vytvořit dvouvrcholové rozdělení znaku. Nejčastější příčinou je heterogenní prostředí, ve kterém jsou různé segmenty populace vystaveny různým (někdy až opačným) selekčním tlakům. Pokud tok genů nedokáže efektivně působit proti disruptivní selekci, různé segmenty populace mohou dále divergovat a vyvinout se na samostatné taxony. Posledním typem je usměrněný výběr, při kterém je vysoká biologická zdatnost podmíněna jedním z extrémů, tedy vysokou (nebo naopak nízkou) hodnotou znaku. Při tomto typu selekce se průměrná hodnota znaku v populaci postupně posouvá směrem k preferovaným hodnotám, proměnlivost postupně klesá.



Obr. 32 Změna rozdělení fenotypového znaku, podléhajícího selekci, při stabilizačním (a), disruptivním (b) a usměrněném (c) výběru. Šedou barvou jsou znázorněny přežívající a množící se jedinci.

Genetický drift

Náhodné procesy v populaci

Osudem většiny nových alel v populaci je vymizení, nezávisle na jejich adaptivní hodnotě. Příčinou jsou zákony pravděpodobnosti. Pokud heterozygot, který je nositelem nové mutace, produkuje k úspěšných (realizovaných) gamet (tedy gamet, které se uplatnili v genotypoch potomstva), pravděpodobnost, že v potomstvu se nová mutace neobjeví (tedy že jedinec svému potomstvu odevzdá vždy druhou alelu) vyplývá z binomického rozdělení a je $(1/2)^k$. V nekonečné populaci se pravděpodobnost, že počet nositelů nové alely klesne na nulu, řídí

Poissonovým rozdělením a bude $P_k = \left(\frac{2^k}{k!}\right) e^{-2} \left(\frac{1}{2}\right)^k$ pro počet potomků k . Celková

pravděpodobnost, že nová mutace v průběhu jedné generace vypadne je dána sumou pravděpodobností pro všechny možné počty potomků od 0 po nekonečno:

$$P = \sum_0^{\infty} P_k = \sum_{k=0}^{\infty} \left(\frac{2^k}{k!} \right) e^{-2} \left(\frac{1}{2} \right)^k .$$

Bolo by možné dokázat, že tento výraz po úpravě dává $P = e^{-1} = 0.368$. Kumulatívni pravděpodobnost ztráty alely v generaci t je $P_t = e^{P_{t-1}-1}$, co se pro vysoký počet generací blíží k hodnotě 1 (po 18 generacích tato pravděpodobnost přesáhne 90%). Nutno připomenout, že pokud alela jednou z populace vypadne, může se v ní opět objevit jen díky nové náhodné mutaci, což je málo pravděpodobný jev. Tato úvaha nutně vede k závěru, že po dostatečném počtu generací z populace vypadne jakákoli nověvytvořená alela. Pochopitelně, uvedené hodnoty se vztahují pouze na neutrální alely, které nepodléhají přírodnímu výběru; selekce preferující nebo naopak odstraňující novou alelu tento proces brzdí nebo naopak urychluje.

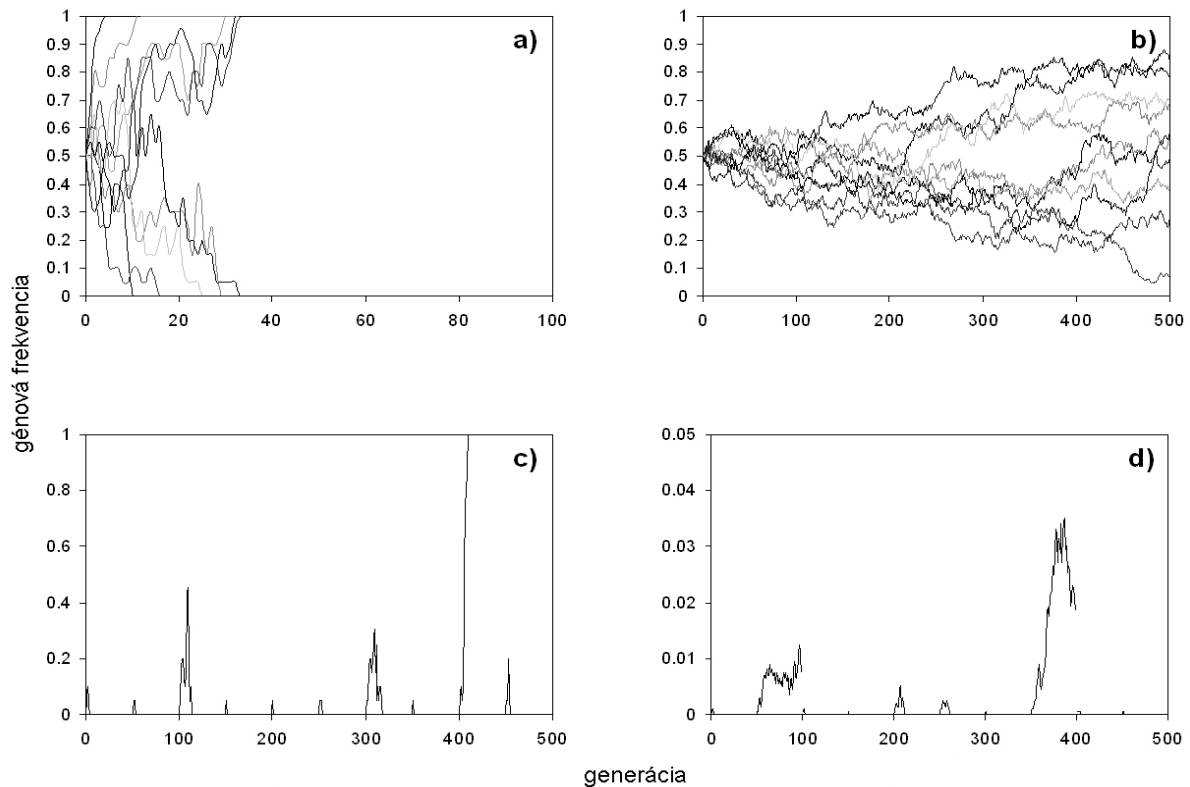
Realita není až natolik tristní, a to i s ohledem na skutečnost, že reálné populace nejsou nekonečné. Stochastický element v určení změn genových frekvencí je tím výraznější, čím je populace menší.

V diploidní populaci s konečnou velikostí N (obsahující $2N$ kopií každého genu) je binomická pravděpodobnost, že alela obsažená v podílu p , se v potomstvu objeví v n kopiích je

$$P(n) = \binom{2N}{n} p^n (1-p)^{2N-n}$$

Jeden extrémní příklad pro ilustraci, co z tohoto vztahu vyplývá: v populaci sestávající ze dvou jedinců ($2N=4$), má alela zastoupana 2 kopiemi ($p=0.5$; jeden z rodičů je homozygot v této alele nebo jsou oba heterozygoti) pravděpodobnost 6.25%, že v potomstvu nebude zastoupana, pravděpodobnost 25%, že se v potomstvu objeví v jedné nebo ve třech kopiích, pravděpodobnost 37.5%, že se její zastoupení nezmění, a pravděpodobnost 6.25, že bude v populaci fixována (tj. že se její zastoupení zvýší na 100%). Znamená to, že pravděpodobnost zachování původní alelické struktury (0.375) je menší, než pravděpodobnost změny (celkově 0.625). Tento proces náhodných fluktuací v zastoupení genů, který v konečném důsledku nutně vede k vymizení nebo fixaci alely, se označuje jako genetický drift. Variance změn alelických frekvence závisí od východiskového zastoupení genu a velikosti populace: $\sigma_{\Delta p}^2 = p(1-p)/N$; k největším změnám dochází v malých populacích se zastoupením genu okolo 0,5.

Dopady driftu na alelickou strukturu ilustruje obr. 33. V malých populacích jsou i alely s frekvencí blízkou 50% dotlačeny k fixaci nebo vymizení během několika málo generací. Nové mutace zpravidla vymizí z genofonu populace rychle. Samozřejmě, občas se může stát, že zastoupení nové alely náhodně stoupne a alela se stane normální součástí genofonu, dokonce může být i fixována. Ve velké populaci se alely s intermediárními frekvencemi zpravidla v populaci udrží, ale časem jejich zastoupení kolíše a v rozdílných subpopulacích se může vyvinout rozdílnými směry. Naopak, nové mutace ve velké populaci mají minimální šanci na udržení. Pravděpodobnost vymizení nové mutace hned po 1 generaci (odvozená z binomického rozdělení) v populaci s 1000 jedinci je až 36,8%. Dokonce i v případě výhodné dominantní alely, selekce zpravidla nestačí na zvýšení její frekvence. Většina mutací je tedy z genofonu vytlačena během několika generací, nezávisle na tom, zda jsou výhodné, neutrální nebo škodlivé.



Obr. 33 Simulace změn zastoupení alely v populaci v důsledku genetického driftu. Etablovaná alela s intermediární frekvencí $q_0 = 0,5$: a) velikost populace $N_e = 10$, b) velikost populace $N_e = 1000$. Nověvznikající mutace (jednou za 50 generací): c) velikost populace $N_e = 10$, d) velikost populace $N_e = 1000$.

Efekt zahrnutí, efekt zakladatele

Náhodné posuny alelické struktury jsou v principu spojeny se dvěma mechanismy. První se označuje jako zahrnutí (angl. *bottleneck*): četnost původně velké populace poklesne v důsledku přírodní katastrofy nebo činnosti člověka. Druhou možností je vznik nové subpopulace z malé skupiny kolonistů (v extrémním případě z jediného oboupohlavního a autokompatibilního jedince) během expanze areálu druhu. Vzhledem k tomu, že kolonisti obsahují pouze malý náhodný vzorek genofondu původní populace, alelické frekvence nové subpopulace se mohou od zdroje zásadně odlišovat; tento mechanismus se označuje jako efekt zakladatele (angl. *founder effect*). Oba procesy ovlivňují rozdělení alelických frekvencí v populaci: tzv. minorpolymorfismy (zřidkavé alely) se zpravidla ztrácejí, protože mají menší šanci být zastoupeny v genotypech přežívajících resp. zakladajících jedinců. Naopak majorpolymorfismy (časté alely) nejsou zpravidla driftem zásadněji postiženy, zejména pokud se v důsledku obsazení uvolněné ekologické niky původní velikost populace rychle obnoví. Zahrnutí i efekt zakladatele tedy primárně redukuje počet alel v populaci, ale nepostihují genovou diverzitu.

Migrace a tok genů

Mechanismy migrace

Migrace jako přenos genů v širokém slova smyslu zahrnuje dva procesy: kolonizaci, tedy expanzi areálu spojenou se šířením druhu na lokality, na kterých se předtím nevyskytoval, a tok genů, tedy přenos genů mezi již existujícími, etablovanými populacemi. Geny se pochopitelně nedokáží šířit samotné, jejich šíření probíhá díky pohybu jejich nositelů. K toku genů tedy dochází jen tehdy, když se migranti kříží s jedinci lokální populace.

Rostliny mohou migrovat ve všech stádiích životního cyklu, tedy jako gametofyty i jako sporofyty. U cévnatých rostlin je gametofyt redukován na útvar sestávající z několika málo buněk. Pylová zrna, představující samčí gametofyt, jsou zpravidla vysoce pohyblivá a mohou být přenášena různými vektory. Většina dřevin a velká část bylinných druhů (především trávy) je opylována větrem. Opylování hmyzem je u dřevin zřídkaější, ale je běžné u bylin. Víceré druhy kombinují oba mechanismy (např. rody *Salix*, *Tilia*). Opylování vodou je podstatně zřídkaější, ve střední Evropě omezené na některé vodní rostliny, např. rod *Potamogeton*. Sporofyt může být přenášen v embryonálním stadiu (migrace semen), ale i v dospělém stadiu vegetativním šířením. Semena využívají širší spektrum vektorů přenosu ve srovnání s pylem. Druhy s malými a lehkými semeny jsou zpravidla anemochorní, tedy šířené větrem. Semena vodních rostlin a rostlin v blízkosti toků mohou být šířeny vodou. Mnohé rostliny jsou závislé na šíření semen živočichy. Při několika druzích jsou plody konzumovány ptáky a po přechodu trávicím traktem vyloučeny s trusem. Ptáci a hlodavci semena přenášejí a někdy skladují (sojka, ořešník atd.). Semena nebo plody mohou být adaptovány na přichycení se o kožešinu zvířat. Při vegetativním (asexuálním) šíření se geny rostlin přenášejí částmi spojenými nebo oddělenými od mateřské rostliny. Dřeviny se mohou šířit koreňovými výmladky (osika, třešeň), u bylinných druhů (zejména klonálních trav) se mohou tvořit rizomy, nadzemní poplasy, u dřevin mohou zakořenit větve, dotýkající se povrchu půdy (kry, smrk). Zakořenit může i oddělená větev, transportovaná například řekou, pokud je schopna utvářet adventivní kořeny (topoly). Hlízy, cibulky a podobné orgány mohou teoreticky přežít přenos v trávicím traktu živočichů, i když takovýto mechanismus zřejmě nebude častý.

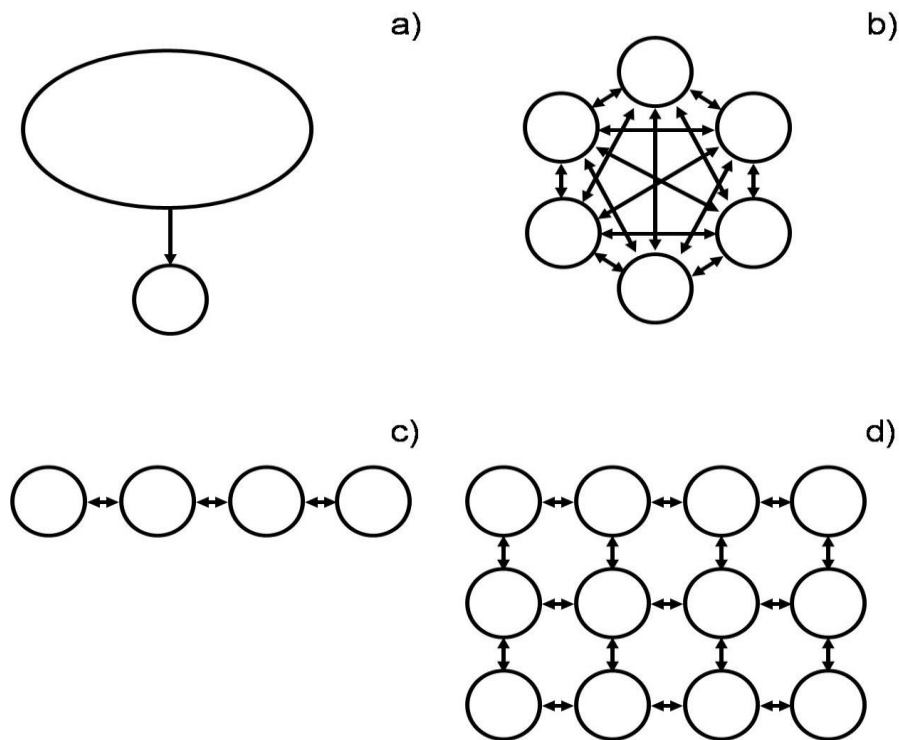
Tok genů prostřednictvím pylu je při rostlinách nejběžnějším a nejefektivnějším mechanismem, protože pylová zrna jsou produkována zpravidla ve velkém množství a přenášena často na velké vzdálenosti, zejména při větroopylivých druzích. Rozptyl semen je efektivním mechanismem kolonizace, ale k toku genů mezi existujícími populacemi zpravidla přispívá v podstatně menší míře. Pravděpodobnost, že přenesené semeno vzklíčí, etabluje se a doroste do dospělosti v už existující populaci, v které je jedinec vystaven silné kompetici místních jedinců, je poměrně nízká, zejména u druhů tvořících velké populace s vysokou hustotou. Vegetativní šíření v dospělém stadiu se obvykle uskutečňuje na malé vzdálenosti, i když při některých druzích může být masivní a rozsahem převyšovat pohlavní rozmnožování (např. klonální trávy).

Při většině živočichů je pořadí efektivnosti mechanismů toku genů přesně opačné. Nejběžnější mechanismus, a zároveň uplatňující se na největší vzdálenosti, je přechod dospělých jedinců z jedné populace o druhé (jde současně o mechanismus kolonizace). Migrace v embryonálním stadiu je zřídkaější, může se uplatnit jen u skupin živočichů, kde jsou vajíčka samostatným organismem a jsou schopna přinejmenším krátkodobě přežít přenos transport (jikry ryb, vajíčka hmyzu apod.). Přenos v haploidním stadiu (spermie) s výjimkou nejprimitivnějších skupin živočichů prakticky nepřichází v úvahu.

Modely migrace

Intenzita a směr toku genů mezi subpopulacemi se mohou lišit v závislosti na vzdálenosti, geografických překážkách, časovému posunu kvetení apod. Proto pro odhad dopadu toku genů na genetickou strukturu používá populační genetika zjednodušené modely. Pro diskrétní subpopulace oddělené fyzickou bariérou (tj. fragmentovanou populaci) byli vypracovány tři základní modely, které se pro svou jednoduchost obvykle používají i v kontinuálních populacích, kde ostré hranice mezi subpopulacemi neexistují a pojem subpopulace se používá jen jako pracovní koncept. Kontinentálně-ostrovní model (angl. *continent-island model*) se vztahuje na malou subpopulaci oddělenou od velké populace (např. ostrov oddělený od pevniny). Tok genů je v tomto případě v principu jednosměrný, migrace z ostrova na pevninu je zanedbatelná a není nutné s ní uvažovat. Ostrovní model (angl. *island model*) uvažuje s populací rozdělenou na subpopulace se stejnou resp. porovnatelnou velikostí, které si navzájem vyměňují migranty náhodně ve stejné míře m jedinců na generaci mezi kteroukoli dvojicí subpopulací. Krokový model (angl. *stepping-stone model*) předpokládá, že migranti přicházejí pouze ze sousedních subpopulací, což je případ zejména organismů s nízkou migrační schopností. Původní lineární krokový model, který se vztahuje např. na rostliny podél vodních toků, pobřeží, horských masívů apod., byl později rozšířen na dvourozměrný model (obr. 34).

Kontinuální populaci obvykle nelze rozdělit na diskrétní subpopulace způsobem, který by měl biologické zdůvodnění. I v tomto případě však platí, že jedinci oddělení větší vzdáleností si zpravidla při reprodukci vyměňují geny méně často než jedinci vzájemně blízcí. Tento jev se označuje jako izolace vzdáleností (angl. *isolation by distance*). Model izolace vzdáleností vychází z podobného základu jako krokový model v tom smyslu, že genetická korelace mezi jedinci (tedy podíl společných genů) klesá s narůstající vzdáleností mezi nimi.



Obr. 34 Schematické znázornění modelů toku genů ve fragmentované populaci: a) kontinentálně-ostrovní model, b) ostrovní model, c) jednorozměrný krokový model, d) dvourozměrný krokový model

Reprodukční izolace

Pod izolací se rozumí nemožnost nebo neschopnost dvou jedinců vyprodukovat životaschopné a plodné potomstvo. Samotná schopnost dvou jedinců navzájem se křížit ještě neznamená, že jejich potomstvo nebude zákonitě slepou uličkou evoluce.

Mechanismy reprodukční izolace souvisí v principu so čtyřmi faktory: prostorem, časem, chováním a dědičností. S prostorovými překážkami je vázaná geografická izolace: subpopulace jsou odděleny fyzickou překážkou (more, horstvo, nížina apod.), která brání toku genů. Vzdálenost v tomto případě není primárním faktorem: populace pstruha ve dvou potocích, jednom v povodí Moravy a druhém v povodí Odry, můžou být od sebe jen několik kilometrů daleko, ale vzhledem na rozdílná úmoří je migrace mezi těmito populacemi téměř nemožná (relativně; jikry mohou být přeneseny na peří nebo končetinách vodních ptáků). Druhým faktorem je vzdálenost samotná, která hraje roli i v kontinuálních populacích: smrk v jižním Švédsku neodděluje od smrku za polárním kruhem prakticky žádná geografická překážka, areál dřeviny je podél Skandinávského pohoří téměř souvislý, ale pravděpodobnost doletu pylu mezi zmíněnými oblastmi je prakticky nulová (viz izolace vzdáleností).

Dalším faktorem izolace je čas, kdy se reprodukce uskutečňuje. Populace se odlišují dobou kvetení v první řadě v důsledku rozdílů v nadmořské výšce (výšková izolace) – doba kvetení je závislá na klimatických poměrech a s rostoucí nadmořskou výškou se postupně opoždí. I při malých fyzických vzdálenostech je tedy přenos genů limitován časovou synchronizací kvetení (i v případě, že je pyl větrem nebo hmyzem přenesen do subpopulace ve větší nadmořské výšce, nejsou tam ještě k dispozici receptivní samičí květy, které by mohl oplodnit, a vice versa), jde tedy o mechanismus analogický izolaci vzdáleností a nejlépe ho lze modelovat krokovým modelem migrace. Načasování kvetení je však kromě klimatu determinováno i geneticky, dva jedinci mohou kvést v rozdílném čase, i když se nacházejí několik metrů od sebe. V tomto případě se používá termín fenologická izolace.

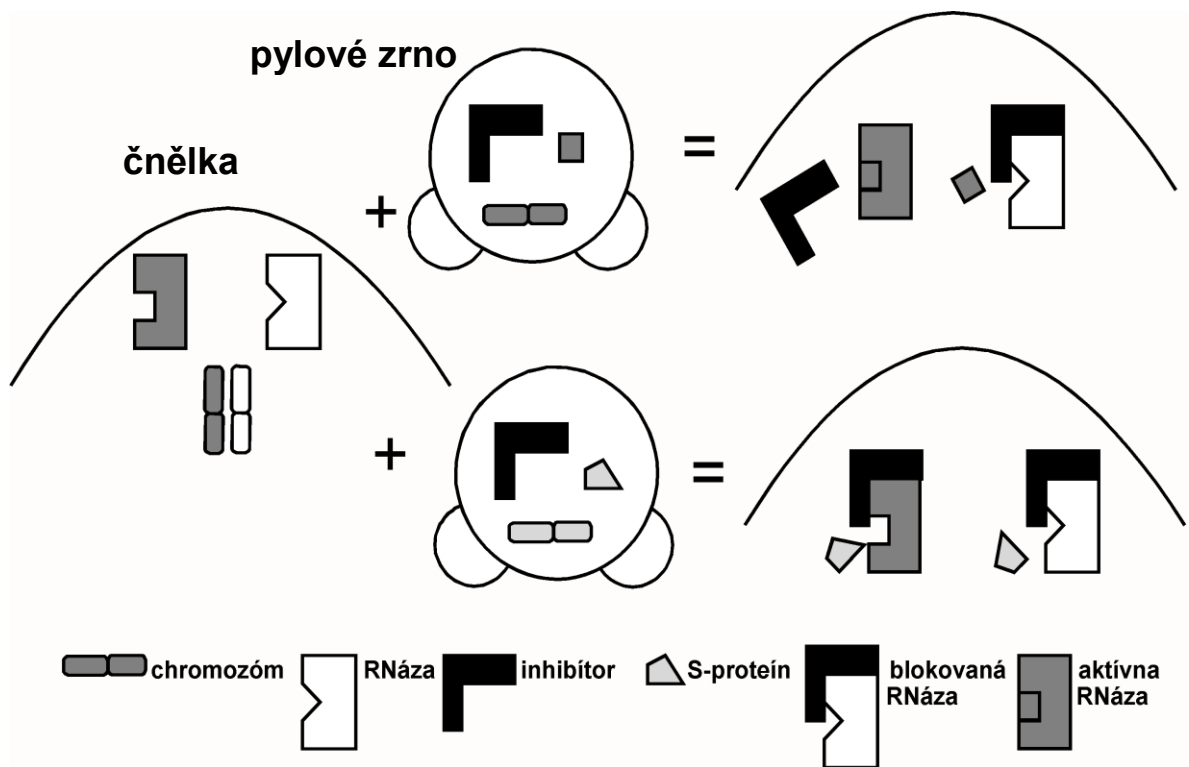
V případě živočichů je páření nutně spojeno s rozeznáváním vhodného partnera, které může být založeno na rozličných typech stimulů: vizuálních (specifický typ chování, „tance“, předvádění peří u ptáků apod.), zvukových (zpěv ptáků, zvukové signály hmyzu) nebo chemických (feromony). Primárně tyto mechanismy fungují na úrovni druhu, ale rituály páření nebo jiné typy chování se mohou odlišovat i na vnitrodruhové úrovni. Tento typ izolace se označuje jako behaviorální nebo etologická izolace. U některých druhů živočichů (člankonožci) se vyvinuli mechanismy morfologické izolace: kopulační orgány mají specifický tvar a fungují na principu zámku a klíče, takže pro nekompatibilní jedince existuje mechanická zábrana páření. I samotná fenotypová rozdílnost rodičů (např. tělesná velikost) může fakticky bránit vzájemnému křížení (aj kdybychom uskutečnili umělé oplodnění čivavy bernardínem, je málo pravděpodobné, že by fena dokázala plod vynosit až do vrhu).

Poslední skupinu překážek párování představují genetické mechanismy, které lze rozdělit na prezygotické (faktory snižující pravděpodobnost vzniku zygoty, tedy působící před jejím vznikem) a postzygotické (faktory snižující pravděpodobnost, že se již existující zygota vyvine v životaschopného a plodného jedince, tedy působící po vzniku zygoty).

V případě rostlin je nejčastějším důvodem vzájemné nekřížitelnosti (tedy prezygotického mechanismu) některý z mechanismů autoinkompatibility. Především krytosemenné rostliny si v průběhu evoluce vytvořili mechanismy bránící samoopylení (tedy procesu vedoucímu zpravidla k postiženému potomstvu). Tyto mechanismy jsou zpravidla pod genetickou kontrolou skupiny genů lokalizovaných v těsném sousedství na jednom lokusu (*S*-lokus), tvořících jednu vazbovou skupinu. Rozlišuje se gametofytická (rozšířenější, uplatňuje se např. u druhů čeledi *Rosaceae* a v rodu *Corylus*) a sporofytická autoinkompatibilita (uplatňuje se např. v čeledích *Betulaceae*, *Ulmaceae*, *Tiliaceae*).

Box XI Molekulární mechanismy autoinkompatibility

V případě gametofytické autoinkompatibility je *S*-lokus zpravidla v rámci populace vysoce polymorfní (řádově desítky alel). Produktem *S*-lokusu jsou tři proteiny: v čnělce mateřské rostliny je to RNáza (RNA nukleáza; enzym odbourávající RNA), v pylovém zrnu inhibitor RNázy a *S*-protein. Pokud haploidní pylové zrno nese stejnou alelu v *S*-lokusu jako je jedna z alel diploidní mateřské rostliny, *S*-protein je kompatibilní s RNázou, váže se na ni a tím zabráni jejímu zablokování inhibítorem. RNáza zůstává aktivní a odbourává molekuly RNA v rostoucím pylovém váčku, čím brání expresi genů pylu a tedy i syntéze bílkovin, které jsou pro růst a normální fungování pylového váčku nutné. Růst pylového váčku je tím zablokován a nemůže dojít k oplodnění (obr. 35). Pro oplodnění je tedy v tomto případě rozhodující haplotyp pylového zrna (samčího gametofytu): křížení dvou jedinců nesdílejících žádnou alelu v *S*-lokusu ($S_1S_2 \times S_3S_4$) je úspěšné vždy, křížení jedinců sdílejících jednu alelu je úspěšné v polovině případů ($S_1S_2 \times S_1S_3 \rightarrow S_2S_3$; pylová zrna s haplotypem S_1 neklíčí), křížení jedinců sdílejících obě alely je vždy neúspěšné ($S_1S_2 \times S_1S_2 \rightarrow \emptyset$; pylová zrna s haplotypem S_1 ani S_2 neklíčí). Mechanismy sporofytické autoinkompatibility jsou komplikovanější a nejsou úplně prostudovány. Také je kontrolována jedním lokusem, a pro její spuštění je rozhodující diploidní genotyp otcovského jedince (sporofytu). Otcovská rostlina s genotypem S_1S_2 se tedy vůbec nekříží nejen s mateřskou rostlinou stejného genotypu, ale ani s genotypy S_1S_x a S_2S_x . Pouze křížení s genotypem S_xS_y bude úspěšné ($x, y \neq 1, 2$). Pro upřesnění nutno uvést, že tento popis platí jen v případě kodominance *S*-alel, v případě dominance jsou poměry komplikovanější.



Obr. 35 Schéma fungování gametofytické autoinkompatibility. Stejně odstíny barvy chromozomu, RNázy a *S* proteinu znamenají stejnou alelu *S*-lokusu. Aktivní RNáza (nahore) odbourává RNA pylového váčku a brání jeho prorůstání k vajíčku.

Postzygotické mechanismy se spouštějí po oplodnění. Z časového hlediska prvním možným mechanismem je odumření zygoty nebo embrya. Může mít různé příčiny: rozdílný počet chromozomů u rodičů (i když u některých krytosemenných rostlin rozdíly v ploidii sice způsobí odumření endospermu, ale jinak nemají žádný negativní dopad), přítomnost recesivních letálních alel, případně cytonukleární inkompatibilita, tedy neshoda mezi jadernými a organelárními geny (nutno připomenout, že i když původ mitochondrií a chloroplastů je endosymbiotický, tedy na začátku šlo o bakterie s kompletním genomem, v současnosti tyto orgány nejsou plně autonomní, mnohé jejich geny se přesunuli do jádra; jejich normální fungování si vyžaduje souhru s jaderným genomem). Neživotaschopnost hybridů v pozdějších stádiích ontogeneze může být způsobena autoimunitním syndromem označovaným jako hybridní nekroza: produkty konkrétních genů pocházejících od jednoho z rodičů mohou být organismem chybně identifikovány jako cizí a patogenní a tím vyvolají postupnou apoptózu v rostlinných tkáních. Sterilita hybridů je nejčastěji spojena s chromozomovými mutacemi: rozsáhlejší translokace nebo inverze mohou bránit normálnímu párování chromozomů během meiozy (synapse) a tím bránit vzniku funkčních gamet. Poslední mechanismus se označuje jako hybridní rozpad: i když hybridy F_1 generace jsou životaschopné a plodné, zpětní kříženci (B_1) nebo F_2 generace mohou být neživotaschopní. Jednou z příčin hybridního rozpadu může být rozpad koadaptovaných genových komplexů (viz dále), druhou samotná rekombinace chromozomů při meioze. Při hybridech generace F_1 genom vždy obsahuje kompletní sadu chromozomů od každého z rodičů. V následných generacích se však do zygoty může dostat jeden chromozomový pár od jednoho a druhý od druhého z rodičů, přičemž kompatibilita mezi produkty jejich genů ve smyslu schopnosti plnit svou funkci nemusí být zaručena, protože funkčnost proteinů často závisí od jejich vzájemných interakcí.

Box XII Mutační, molekulární a meiotický tah

Vzhledem k chemické povaze nositelů genetické informace jsou její změny v průběhu evoluce, které se odrážejí ve změnách fenotypových znaků, ovlivněny fungováním biochemických mechanismů řídících její množování a přenos. Tyto mechanismy se někdy považují za kategorii mutací, ale vzhledem k tomu, že nemusí být nutně stochastické, jsou většinou uznávány za samostatnou kategorii mikroevolučních procesů označovanou jako evoluční tahy (angl. *evolutionary drives*).

Mutace jsou zpravidla považovány za náhodné jevy, co může být pravda s ohledem na jejich biologický význam, tedy typ a rozsah jejich fenotypového účinku, ale nemusí to být úplně pravda s ohledem na jejich lokalizaci v genomu a molekulární mechanismy v jejich pozadí. Mutační procesy se mohou odlišovat např. mezi kontinuálně a přerušovaně replikovaným řetězcem DNA, mezi segmenty přiléhajícími k nukleozomům a meziúseky, mezi přepisovanými a nepřepisovanými segmenty atd. Navíc typ mutace a pravděpodobnost jejího výskytu na konkrétní pozici závisí od nukleotidu na této pozici a na jeho kontextu, tedy sekvenčních motivech v jeho okolí. Tyto rozdíly vedou k preferenčnímu výskytu konkrétních typů mutace na konkrétních místech řetězce DNA, označovanému jako mutační tah (angl. *mutation bias*).

Rekombinace v značné míře využívá molekulární aparát reparace DNA, který opravuje jeden řetězec použitím druhého jako templátu. V důsledku toho může rekombinace vést ke genové konverzi: pokud se na nesesterských chromatidách nacházejí odlišné alely genu, může být reparačním mechanismem alela na jedné z nich „přepsána“ na druhou, protože rekombinační mechanismus použije řetězec druhé alely jako templát.

Podstatnou část genomu tvoří repetitivní sekvence (satelitní DNA, transpozony atd.). Procesy odpovídající za jejich šíření v genomu se označují jako molekulární tah. Změny genomu spojené s tímto typem procesů často současně ovlivňují více jedinců v populaci, proto se obvykle označují jako synchronizovaná evoluce (angl. *synchronized* nebo *concerted evolution*). Jsou způsobeny genovou konverzí (reparací nespárovaných bází po crossing-overu), translokací (vystřížením segmentu DNA z jednoho místa a jeho vložením na jiné; někdy je motiv jen vložený, ale není vystřížen, tím se zduplikuje), nerovným crossing-overem (párováním navzájem komplementárních, ale nehomologických úseků DNA během crossing-overu), posunem templátového řetězce DNA během replikace (*template slipping*) atd.

Během meiozy by geny heterozygota měli segregovat do gamet přesně v poměru 1:1, což ne vždy platí. Rozdílná míra přenosu genů do gamet způsobená rozdílnou mírou přenosu chromozomů, na kterých jsou lokalizovány, se označuje jako meiotický tah, a nejčastěji postihuje gonozomy, akcesorické chromozomy a chromozomy vytvořené Robertsonovskou fúzí, které se často chovají jinak než autozomy.

Interakce mezi evolučními mechanismy, genetická homeostáze

Na rozdíl od obecně rozšířených představ přirozeným stavem přírody není rovnováha a harmonie, právě naopak. Obvykle přeceňovaná úloha přírodního výběru vede k představě, že pro každý znak existuje gen nebo geny, a fenotyp neodpovídající aktuálnímu prostředí je důsledkem toho, že jedinec nese nevhodné varianty těchto genů. Výběr, umožňující přežít a rozmnožit se jen nejlépe adaptovaným genotypům by potom logicky měl vést k tomu, že v průběhu několika málo generací „nevhodné“ geny z populace vypadnou. Evoluční mechanismy ovšem ovlivňují genetickou strukturu populace ve vzájemných interakcích a vzájemné synergii. Obecně lze říci, že mutace a tok genů vedou k nárůstu genetické variability v populaci, naopak selekce a drift vedou k její redukci. Toto obecné konstatování se vztahuje i na tu část genetické proměnlivosti, která má adaptivní význam. Jak bylo konstatováno, nové mutace jsou zpravidla z genofondu populace vytlačeny, i když jsou pro svého nositele v daném prostředí výhodné; naopak, škodlivé mutace se díky náhodným procesům mohou zejména v malých populacích udržet (i fixovat) a v krajním případě ohrozit jejich existenci. Tok genů tím, že do genofondu populace trvale vnáší geny výhodné v jiném kontextu prostředí (čím „rozředuje“ lokální genofond) představuje v konkrétní subpopulaci protiváhu lokální adaptace přírodním výběrem a stabilizuje genetickou strukturu populace jako celku.

Efektivnost přírodního výběru se v populaci mění i v důsledku mechanismů spojených s organizací genomu. Geny, kontrolující navzájem přepojené biochemické funkce mají tendenci přeskupovat se v rámci genomu a soustředit se v jedné vazbové skupině, protože výběr upřednostňuje jedince vybavené komplexem vzájemně kompatibilních alel. Touto cestou vznikají koadaptované genové komplexy. Někdy je aktivita celého komplexu řízena společnou předřazenou regulační oblastí, v tomto případě se komplex označuje jako supergen (příkladem může být *S*-lokus, viz výše). Při mezidruhové nebo geograficky vzdálené hybridizaci může u F_1 hybridů dojít k rekombinaci genů v rámci těchto komplexů, čím se na jeden chromozom dostanou vzájemně nekompatibilní alely (resp. alely kódující vzájemně nekompatibilní proteiny). V důsledku toho se v dalších generacích snižuje životaschopnost jedinců (hybridní rozpad).

Schopnost populace odpovídat na přirozený nebo umělý selekční tlak není neomezená. Často se stává, že po pár generacích populace přestane reagovat na výběr úplně a navzdory selekčnímu tlaku si udržuje konstantní genetickou strukturu. Tento stav se označuje jako

genetická homeostáze. Jednou z její příčin, i když ne častou, může být vyčerpání genetické variability, tj. úplné vytlačení alel nevhodných v daném kontextu prostředí z genofondu populace. Častějším důvodem jsou epistatické interakce mezi geny nebo pleiotropní účinky genů, které jsou vystaveny selekčnímu tlaku. Zvýšení frekvence konkrétní alely může vyvolat zlepšení průměrné hodnoty jednoho znaku, které je ale provázeno zhoršením jiného znaku nebo znaků. Výsledný dopad na biologickou zdatnost jedinců i průměrnou biologickou zdatnost populace může být neutrální, někdy dokonce negativní. Existence koadaptovaných genových komplexů také tlumí odezvu na selekční tlak, protože jakákoli změna konstelace genů nutně vede ke snížení biologické zdatnosti. V těchto případech si populace sice zachovává variabilitu, ale tá je vázána v genových komplexech a nemůže být využita pro adaptaci. Jak bylo demonstrováno v kapitole *Selekce*, dalším zdrojem homeostázy může být superdominance (tedy vyšší průměrná biologická zdatnost heterozygotů), která také vede k ustálení rovnováhy. Tento mechanismus nemusí být výjimečný – vysoce heterozygotní jedinci se vyznačují vyšší vnitřní genetickou variabilitou, produkují širší paletu proteinů, a proto mohou být schopni lépe odolávat fluktuacím podmínek prostředí. Tato skutečnost může být obzvláště významná pro dlouhožijící organismy, které jsou v průběhu ontogeneze vystaveny kolísání prostředí a vzhledem k pozdnímu nástupu plodnosti na něj nemohou pružně reagovat adaptací přírodním výběrem. Zvýhodnění heterozygotů udržuje polymorfismus populace a vede k zastoupení alel, které se udržuje na intermediárních hodnotách.

5 GENETICKÁ VARIABILITA

Pojem genetické proměnlivosti bol zmíněn a částečně vysvětlen v úvodních kapitolách. Nutno připomenout, že tento pojem se vždy vztahuje na populaci, ne na jedince. Používá se ovšem v dvou smyslech – jednak pro označení té části variability fenotypových znaků, která je podmíněna geneticky (tedy skutečností, že různí jedinci mají různé genotypy), a jednak pro popsání skutečnosti, že v populaci se nacházejí nositelé různých genetických typů (alel, haplotypů, genotypů). Táto kapitola je venovaná druhému z těchto dvou konceptů genetické variability. I tento koncept má však několik aspektů. Z hlediska popisu a kvantifikace genetické proměnlivosti nás může zaujímat, jaký je celkový počet genetických typů zastoupených v populaci, bez ohledu na jejich abundanci; tento aspekt se označuje jako genetická multiplicita resp. alelická (haplotypová, genotypová) bohatost populace. Druhým aspektem je charakter rozdělení frekvence genetických typů, který bere v úvahu nejen jejich celkový počet, ale i rovnoměrnost jejich zastoupení; tento aspekt popisuje rozmanitost, různorodost v zastoupení genetických typů a označuje se termínem genetická diverzita. Posledním aspektem jsou rozdíly mezi populacemi, tedy míra, v jaké se populace navzájem liší zastoupením genetických typů; označuje se termínem genetická diferenciacie.

Při použití jakéhokoli nástroje na identifikaci genotypů analýza vychází z výběrových vzorků. Výběr se uskutečňuje dvěma směry – z populace je vybrán vzorek N jedinců a z genomu je vybrán soubor M markerových genů. Výsledkem analýzy je matice genotypů rozměrů $N \times M$. Základní východiskovou charakteristikou genetické struktury jsou genotypové a alelické frekvence (podíly, ve kterých jsou zastoupeny jednotlivé genotypy a alely). V případě kodominantních markerů, u kterých lze všechny homozygotní a heterozygotní genotypy navzájem rozeznat, lze genotypovu frekvenci odhadovat jako podíl jedinců daného genotypu z celkového počtu jedinců výběrového vzorku:

$$P(A_iA_j) = P_{ij} = N(A_iA_j)/N.$$

Frekvenci alely A_i lze odhadnout jako

$$p(A_i) = p_i = [N(A_iA_i) + \frac{1}{2} \sum_{j \neq i} N(A_iA_j)]/N$$

(P_{ij} – frekvence genotypu A_iA_j , p_i – frekvence alely A_i , $N(A_iA_j)$ – počet jedinců genotypu A_iA_j , N – celkový počet jedinců vo výběrovém vzorku; v obou případech jde o bodové odhady frekvencí).

Genetické a genové markery

Pro popis a kvantifikaci genetické proměnlivosti v rámci populace a charakteru genetické variability mezi populacemi potřebujeme znaky, u kterých jsme z jejich fenotypového projevu schopni odvodit jejich genotyp. Takovéto znaky nazýváme genetickými markery. Jde o fenotypové znaky, které nejsou ovlivněny prostředím (resp. vliv prostředí je jen minimální), tj. jsou prakticky úplně kontrolovány geneticky. Z hlediska hodnocení genetické proměnlivosti jsou nejdůležitější podskupinou genetických markerů tzv. genové markery, tedy znaky, které mají jednoduchou genetickou kontrolu (malý počet genů, v ideálním případě jen jeden), kterou lze určit metodami genetické analýzy, tj. každému fenotypu dokážeme jednoznačně přiřadit genotyp. Způsob dědičnosti má pro použitelnost genových markerů rozhodující význam, v případě úplné dominance (dominantní homozygot a heterozygot nejsou fenotypově rozlišitelní) jsou možnosti použití markeru omezené, naopak výhodná je neúplná dominance nebo kodominance alel.

Podle charakteru lze genetické markery klasifikovat na:

- morfologické (u dřevin nejčastěji morfologické odchylky ve tvaru nebo barvě listů a květů/strobilů, habitu, u živočichů albinismus apod.)

- biochemické
 - sekundární metabolity (monoterpény, sesquiterpény, fenolické látky)
 - zásobní bílkoviny
- molekulární
 - proteinové
 - izoenzymy
 - krvní skupiny
 - DNA markery
 - založené na restrikčních fragmentech
 - založené na amplifikaci PCR

Z uvedených skupin především molekulární markery splňují požadavky použitelnosti pro většinu praktických účelů, dnešní genetický výskum a expertní činnost spoléhají primárně na tento typ markerů.

Izoenzymy jsou různé molekulární formy stejného enzymu. Enzymy jako bílkovinné molekuly představují přímý produkt transkripce a translace genetické informace, vztah mezi primární strukturou enzymu a pořadím nukleotidů v kódující části DNA je bezprostředný. Pokud dojde v struktuře genu k mutaci, změní se jedna nebo několik aminokyselin v produkovaném enzymu (pokud nejde o synonymnou mutaci). Od primární struktury enzymu (pořadí aminokyselin) závisí další vlastnosti – výsledný trojrozměrný tvar enzymové molekuly (terciární struktura), její velikost, počet a typ funkčních skupin (–COOH, –NH₂, –SH) na jejím povrchu a tedy i její povrchový elektrický náboj ve vodním prostředí v závislosti na pH roztoku. Na základě těchto vlastností lze původnou a mutovanou enzymovou molekulu od sebe oddělit elektroforeticky, tj. separací v elektrickém poli. Extrakt z rostlinné nebo živočišné tkáně se vloží do škrobového nebo polyakrylamidového gelu s konkrétním pH a připojí se na jednosměrný elektrický proud. Po ukončení migrace se proud vypne a gel se vloží do barvicího roztoku, obsahujícího substrát, na který detekovaný enzym působí, kofaktory nutné pro průběh biochemické reakce kterou enzym katalyzuje (NAD, NADP, ATP, Mg²⁺ apod.) a barviva reagující s produkty reakcí. V místech, kde se v gelu molekuly enzymu nacházejí, proběhne reakce a dojde k vysrážení barviva, tedy tato místa se na gelu projeví jako barevné proužky (angl. *bands*) – každý proužek odpovídá jedné frakci enzymu. Genetická interpretace zymogramu se hledá metodami genetické analýzy. V nejjednodušším případě (monomerní enzym produkovaný jen jedním genem) každý proužek odpovídá jedné alele genu, který kontroluje syntézu enzymu. Počet alelických variant se při izoenzimech pohybuje zpravidla v rozmezí 1–4 (výjimočně nad 10) alel na populaci. Počet izoenzymových genů, které lze v tkáních dřevin identifikovat (tj. enzymy lze extrahovat bez ztráty biochemické aktivity, separovat a barvit) je zpravidla 10–20.

DNA markery vycházejí přímo z analýzy molekuly DNA, která je nositelkou dědičné informace. Mohou být založeny na dvou metodických postupech: restrikční analýzy (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*), tedy rozdělení molekuly DNA na definované úseky pomocí specifických enzymů, a amplifikace, neboli zmnožení úseků DNA metodou PCR (*polymerase chain reaction* – polymerázová řetězová reakce).

Box XII Metody analýzy DNA

- **restrikční analýza:** restrikční endonukleázy (restriktázy) jsou bakteriální enzymy, které vyhledávají na molekule DNA konkrétní sekvenci nukleotidů, a pokud ji najdou, molekulu DNA rozdělí (např. endonukleáza *EcoRI*, izolovaná ze střevní bakterie *Escherichia coli*, vyhledává sekvenci G↓AATTC/CTTAA↓G a dělí molekulu DNA na obou komplementárních řetězcích mezi guaninem a adeninem). Název konkrétní endonukleázy je odvozen od zkratky rodového a druhového názvu bakterie (*Eco* = **E***scherichia coli*),

případně konkrétního bakteriálního kmene, ze kterého byla restriktáza izolována (kmen **R**), a číslovány jsou římskými čísly v pořadí, v jakém byly popsány (pořadové číslo **I**). Existují tři typy restriktivních endonukleáz; pro účely molekulární biologie a genového inženýrství se nejčastěji využívají endonukleázy typu II, které vyhledávají konkrétní sekvenční motiv a řetězec DNA přerušují v jeho rámci. Většina endonukleáz vyhledává tzv. palindromické sekvence, tj. motivy, které jsou ve směru čtení (5'→3') identické (např. zmíněná endonukleáza *EcoRI* vyhledává sekvenci 5'GAATTC3', tj. komplementární sekvence v druhém řetězci 3'CTTAAG5' je ve směru čtení 5'→3' (tj. odzadu) identická). Některé z endonukleáz přerušují obě vlákna DNA na stejném místě, tedy vytvářejí tzv. hladký konec (*blunt end*), jiné přerušují vlákna DNA na rozdílných místech, na konci tedy vytvářejí jednořetězcový převis (*overhang*). Enzymy, schopné spojovat přerušování na řetězci DNA (ligázy) vyžadují právě převis (tato vlastnost se využívá např. při vkládání fragmentů DNA při genových manipulacích). Stříháním restriktivními endonukleázami se celý řetězec DNA rozdělí na fragmenty, které lze separovat elektroforeticky a následně barvit různými technikami. Délka fragmentů se měří počtem bázevých párů (bp).

U jaderné DNA je množství fragmentů získaných štěpením kteroukoli z možných endonukleáz velmi velké, přičemž závisí od délky sekvenčního motivu. Při délce n nukleotidových párů v sekvenčním motivu endonukleáza stříhá čistě statisticky v průměru každých 4^n nukleotidů (tj. endonukleáza *EcoRI*, u které je vyhledávaný motiv 6-bázevých, vytváří fragmenty s průměrnou délkou $4^6 = 4096$ fragmentů). Při celkové délce genomické DNA dřevin měřené v miliardách nukleotidů tedy jedna analýza produkuje řádově miliony fragmentů, které po elektroforéze lze navzájem odlišit (na gelu se nacházejí tak hustě u sebe, že vytvářejí jednolitý vybarvený pás). Proto se pro identifikaci konkrétních genů používá tzv. Southernova hybridizace (DNA se po elektroforéze přenesou z gelu na nylonovou membránu, denaturuje vysokou teplotou a následně hybridizuje s radioaktivně značenou jednořetězcovou známou sekvencí (próba). Značená DNA se naváže jen na ty fragmenty, na kterých se nachází komplementární sekvence. Hybridizované fragmenty lze identifikovat autorádiograficky).

- **amplifikace:** PCR vlastně kopíruje mechanismus replikace DNA. Tato metoda představuje cyklické opakování tří reakcí: denaturace DNA vysokou teplotou (*denaturation*; rozdělení dvojitého řetězce na dvě jednořetězcové molekuly při cca 95 °C), připojení dvojice oligonukleotidů, tzv. primery, s délkou cca 10–20 bp (*annealing*; při teplotě ~45–60 °C, optimální teplota závisí od délky a složení primerů), a syntéza komplementárního řetězce (*extension*; 72 °C, což je optimální “pracovní” teplota termostabilní DNA polymerázy). Tato trojice reakcí se cyklicky opakuje cca. 40–60-krát. Reakční směs tedy kromě analyzované DNA (tzv. templát) a primerů musí obsahovat volné nukleotidy (přesněji deoxynukleozidtrifosfáty – dATP, dTTP, dGTP, dCTP) a DNA polymerázu, která ovšem musí být schopna uchovat si aktivitu i po zahřátí na teplotu blízkou bodu varu během denaturačního kroku. Nejčastěji se pro tento účel používá termostabilní *Taq*-polymeráza, izolovaná z archeobakterie *Thermus aquaticus*, žijící v horkých pramenech. Primery se na denaturovaném řetězci DNA připojí na místa s komplementárním pořadím nukleotidů a od těchto míst se jedním směrem (5' → 3', tj. na –OH skupinu na 3'-konci posledního nukleotidu primeru) začne doplňovat druhý řetězec. Od druhého cyklu tímto způsobem exponenciálně narůstá počet fragmentů s délkou odpovídající vzdálenosti mezi dvěma komplementárními místy. Fragmenty lze opět separovat elektroforézou a identifikovat barvivy, které se vážou na DNA.

Jak bylo zmíněno, pro separaci fragmentů DNA se používá pohyb v elektrickém poli neboli elektroforéza. Zdrojem elektrického náboje nukleových kyselin a oligonukleotidů ve vodním prostředí jsou volné elektronové páry na atomech dusíka a kyslíku v heterocyklických bázích nukleotidů (A, T, G, C). Sumární náboj dvojic A=T a G=C je prakticky stejný, takže náboj připadající na jednotku délky DNA fragmentu je v podstatě konstantní nezávisle na sekvenci. Fragmenty jsou tedy při pohybu tříděny podle délky, delší fragmenty se přes pory gelu prodirají menší rychlostí nežli kratší.

Jako gelový nosič se u DNA používá nejčastěji agaróza nebo polyakrylamid. Agaróza je vhodným médiem pro rychlé a hrubší analýzy, protože separace v ní je méně dokonalá. Lze ji použít i pro rutinní analýzy, pokud rozdíly ve velikosti fragmentů, které jsou předmětem zájmu, jsou dostatečně velké (více než 10 bp). Pro jemnější analýzy se jako gelový nosič používá polyakrylamid (PAGE – *polyacrylamide gel electrophoresis*). DNA lze barvit fluorescenčními barvivy nebo stříbrem. Velmi efektivní je separace fragmentů DNA v automatických kapilárních DNA-sekvenátorech. Elektroforéza zde neprobíhá na plochem gelu, ale v dlouhých kapilárách naplněných polyakrylamidovým gelem. Při PCR se používají značené primery (oligonukleotidy s navázaným barvivem) a barviva jsou vybudována laserovým lúčem.

Proti jiným typem markerů mají DNA markery tu výhodu, že pro konkrétní účel lze vybrat konkrétní marker, jehož vlastnosti se pro něj nejlépe hodí. Různé molekuly DNA a jejich různé segmenty se odlišují způsobem dědičnosti (biparentální, maternální, paternální), mírou polymorfizmu, která se odvíjí od rychlosti mutací, adaptivním významem apod. Kombinací nahoře uvedených základních postupů analýzy DNA lze vybrat marker nebo skupinu markerů, optimálně sloužících k vybranému účelu.

Bylo zmíněno, že pouze malou část DNA eukaryot tvoří sekvence, odpovídající funkčním genům, tedy kódující nějaký funkční produkt (polypeptid, tRNA, rRNA, snRNA). Značnou část genomu představují nekódující sekvence, které zpravidla vykazují větší proměnlivost. Jejich funkce není objasněná, mohou se podílet na regulaci genové aktivity nebo na stabilizaci struktury chromozomu. Je však možné, že některé takovéto sekvence žádnou funkci nemají a představují jen balast evoluce. Mutace, které se v nich hromadí, neovlivňují životaschopnost jedinců a nejsou z populací vylučovány přirozeným výběrem. K nekódujícím sekvencím patří především introny a spacers, což jsou úseky oddělující geny. Další skupinu tvoří tzv. pseudogeny, tedy geny, které v důsledku mutace v regulační oblasti ztratili schopnost exprese. Velkou část DNA tvoří repetitivní (opakující se) sekvence. K nim patří tandemová opakování delších úseků cca 20 bází (VNTR – *variable number of tandem repeats*; minisatelity), které se vyskytují především v oblasti centroméry a telomér. Vykazují vysokou variabilitu a dají se velmi výhodně využít pro identifikaci jedinců (např. jsou využívány pro forenzní účely na identifikaci jedinců). Druhou skupinu tvoří tzv. mikrosatelity (SSR – *simple sequence repeats*), tj. tandemová opakování krátkého motivu cca. 1–6 bází, které se vyskytují nejen v jaderné, ale i v mitochondriální a chloroplastové DNA. Jednotlivé “alely” se u těchto markerů odlišují počtem opakování motivu, a také vykazují velkou variabilitu (nežádka 15–30 alel v populaci), takže je lze využít zejména pro sledování toku genů a systému páření. Jejich nevýhodou jsou vysoké iniciální náklady pro konstrukci těchto markerů (identifikaci okrajových sekvencí pro definování primerů).

Pro studie vyžadující velký soubor analyzovaných genů dobře pokrývající celý jaderný genom byl vyvinut typ markerů označovaný RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) založený na PCR technologii při použití krátkých náhodných primerů. Polymorfismus (tedy rozdíly mezi jedinci) při RAPD vyplývá buď z rozsáhlejších posunových mutací (inzercí / delecí) mezi dvěma komplementárními místy pro primer nebo v mutaci v komplementárním místě, která způsobí, že primer není schopen spárovat se s templátovým řetězcem a tedy namísto dvou krátkých řetězců vznikne jeden delší. RAPD jsou dominantní markery, na

základě přítomnosti konkrétního fragmentu nelze určit, zda se nachází na obou homologických chromozomech (homozygot) nebo jen na jednom (heterozygot). Další nevýhodou RAPD je slabá reprodukovatelnost; metodiku používanou v jednom laboratoriu nelze spolehlivě zopakovat v jiném.

Jako zdokonalení RAPD byla vyvinuta metoda AFLP (*amplified fragment length polymorphism* – polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů), která také umožňuje mapovat variabilitu velkého počtu lokusů dobře reprezentujících celý jaderný genom. Je založena na kombinaci restriční analýzy a PCR amplifikace: templátová DNA se štěpí na fragmenty dvojicí endonukleáz vytvářejících převis, následně se pomocí DNA ligázy na jeden i druhý konec těchto fragmentů pomocí ligázy připojí adaptéry, tedy krátke oligonukleotidy so známou sekvencí a komplementárním převisem, a fragmenty se namnoží PCR (sekvence primerů = sekvence adaptérů + převis). AFLP jsou také dominantní markery, ale technika je vysoce reprodukovatelná.

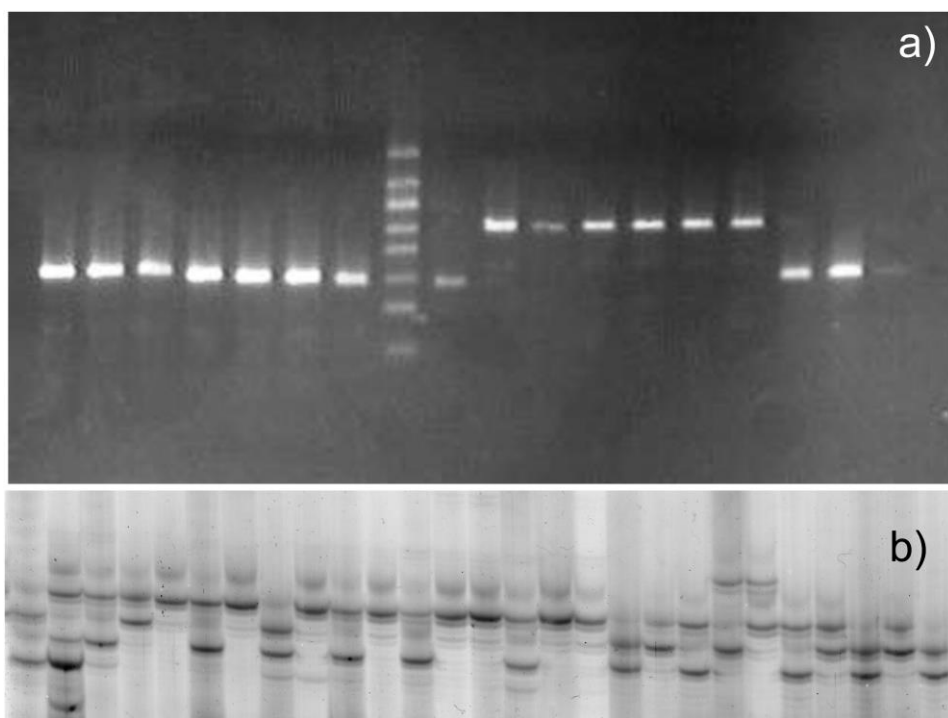
V případě, že se kterýkoli RAPD či AFLP fragment při studii ukáže jako zajímavý (např. jeho výskyt vykazuje korelaci s faktory prostředí nebo s důležitým fenotypovým znakem apod.), je možné ho z gelu izolovat a sekvenovat, tedy určit pořadí nukleotidů v něm, na základě sekvence zadefinovat primery specifické pro tento fragment a následně studovat jen variabilitu tohoto konkrétního úseku DNA. Tento typ markerů se označuje jako SCAR (*sequence-characterized amplified region*), a je kodominantní.

Pro některé účely (především pro rekonstrukci migrace a kolonizace, sledování toku genů apod.) se s výhodou využívají fragmenty mimojaderné, tedy chloroplastové a mitochondriální DNA, která má uniparentální dědičnost (zpravidla po matce, výjimečně po otci, např. cpDNA v čeledi Pinaceae). Molekuly organelární DNA se nerekombinují, haplotyp se zásadně dědí jako celek. Sekvence v mtDNA a cpDNA jsou zpravidla vysoce konzervativní, tedy identické i při taxonomicky velmi rozdílných organismech. Vzhledem k tomu, že organelární genom je neporovnatelně menší ve srovnání s jaderným, při analýze organelární DNA lze kombinovat PCR a RFLP analýzu: použitím specifických primerů se amplifikuje příslušný úsek cpDNA nebo mtDNA, a pokud nevykazuje proměnlivost (tj. u různých organismů má stejnou délku), lze polymorfismus v jeho rámci hledat jeho štěpením restriční endonukleázou.

Separace fragmentů DNA gelovou elektroforézou je založena na jejich rozdílné velikosti, není tedy schopna identifikovat bodové mutace, při kterých se nemění velikost fragmentu, ale jen konkrétní báze v jeho rámci. Jednotlivé alely (zejména alely funkčních genů, tedy úseků DNA exprimovaných do RNA nebo do bílkoviny) se však často odlišují právě bodovými mutacemi. Pro identifikaci těchto polymorfismů jednotlivých nukleotidů (SNP; *single nucleotide polymorphism*) se dají použít vícere metody, poměrně jednoduchou a lacinou možností jsou polymorfismy konformace jednořetězcové DNA (SSCP; *single-strand conformation polymorphisms*). Tato metoda využívá skutečnost, že jednořetězcové molekuly nukleových kyselin mají velmi silnou tendenci k párování komplementárních bází. Jednořetězcová molekula nezůstává v lineární formě, ale prohne se a vytváří trojrozměrný útvar stabilizovaný vodíkovými vazbami mezi nukleotidy v rámci stejného řetězce. Její trojrozměrný tvar je tedy závislý na sekvenci bází, stačí i jedna záměna báze na to, aby výsledný tvar byl odlišný. Rychlost pohybu takovýchto molekul při elektroforéze je od tvaru závislá (čím blíže ke kulovitému tvaru, tím je pohyblivost vyšší). Při SSCP se konkrétní úsek DNA namnoží PCR, fragmenty se denaturují (tedy rozdělí na dvojice jednořetězcových molekul) vysokou teplotou a formaldehydem, a následně za normálních nedenaturujících podmínek se separují elektroforézou. Během migrace jednořetězcové molekuly zaujmou trojrozměrnou konformaci, která ovlivňuje jejich mobilitu v gelu.

Box XIV Přehled DNA markerů

Typ markeru	Dědičnost
RFLP	kodominantní
VNTR	kodominantní
Jaderné mikrosatelity (nSSR)	kodominantní
Chloroplastové mikrosatelity (cpSSR)	uniparentální (spravidla maternální)
RAPD	dominantní
AFLP	dominantní
SSCP	kodominantní
PCR-RFLP cpDNA a mtDNA	uniparentální (spravidla maternální)
SCAR	kodominantní



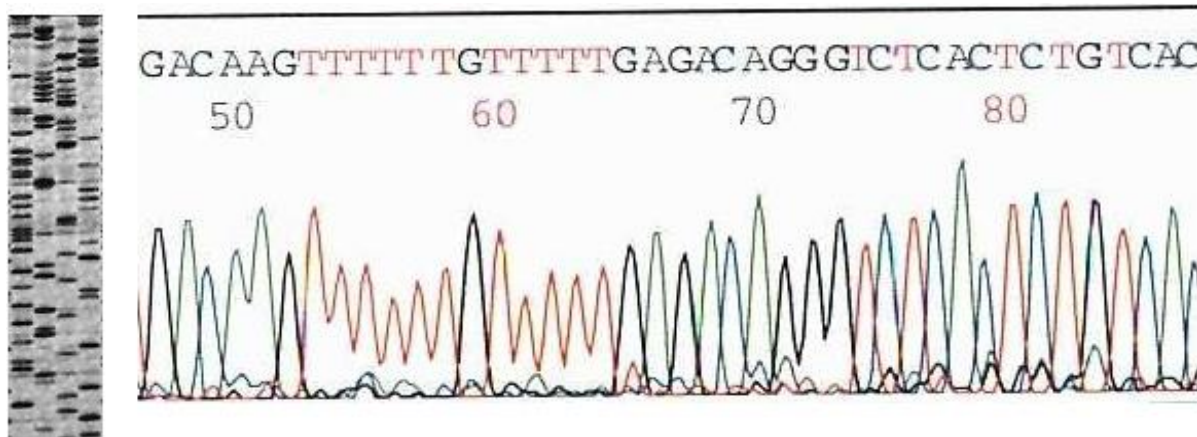
Obr. 36 Příklady separace DNA fragmentů:

- a) mitochondriální marker *nad-5/4* jedle bělokoré, amplifikovaný PCR, separace v agaróze, barvení etidiumbromidem,
 b) jaderný mikrosatelitní marker FR41 u jasanu štíhlého, PAGE, barvení stříbrem

Často je důležité znát přímo sekvenci bází v konkrétním úseku DNA. Pro sekvenování (tedy určení pořadí bází) se dnes nejčastěji využívají postupy založené na PCR, především Sangerova metoda ukončování řetězce dideoxynuklotidy (*chain-termination method*). Pro potřeby sekvenování celých genomů nebo jejich rozsáhlých částí je sekvenování Sangerovou metodou příliš pomalé, drahé a pracovně náročné. Proto se objevily metody druhé generace (*next-generation sequencing*; NGS), které umožňují v jednom běhu analýzy paralelně sekvenovat řádově miliony až stamiliony krátkých úseků, které se následně sestaví do souvislé sekvence (*alignment*). Chybovost těchto postupů je zákonitě vyšší ve srovnání se Sangerovou metodou, ale jejich výkonnost je nesrovnatelně vyšší.

Box XV Principy sekvenování DNA

Sekvenování využívá skutečnost, že při replikaci DNA (tj. i při PCR) DNA-polymeráza pracuje vždy směrem 5'→3', tedy volné nukleotidy vždy připojuje na –OH skupinu na 3' uhlíku deoxyribózy posledního nukleotidu. Pokud tedy reakční směs pro PCR obsahuje i 2'3'-dideoxynukleotidy, po jejich zařazení se další prodlužování řetězce zastaví. Protože DNA-polymeráza „sahá“ po jednotlivých nukleotidech (přesněji dNTP) náhodně, je dilem náhody, ve kterém stadiu sáhne po 2'-deoxynukleotidu (který umožní další prodlužování řetězce) a kdy po 2'3'-dideoxynukleotidu (který prodlužování zastaví). Při vhodné koncentraci dideoxynukleotidů se tedy budou vytvářet řetězce rozličných délek, které budou vždy ukončeny dideoxynukleotidem. Klasický Sangerův postup využíval radioaktivně značené dideoxynukleotidy nebo značené primery, vyžaduje tedy čtyři PCR reakce (každou s přidáním jiného dideoxynukleotidu), po kterých byli fragmenty separovány a identifikovány autoradiograficky. V současnosti se využívají automatické přístroje (DNA-sekvenátory), s mírně odlišným principem. Dideoxynukleotidy jsou značeny každý jiným barvivem, které je vybudzováno laserovým paprskem. PCR se tedy vykonává najednou (reakční směs obsahuje všechny 4 typy dideoxynukleotidů, každý z nich značený jiným barvivem), fragmenty jsou následně separovány elektroforézou (starší sekvenátory používali ploché gely, v moderních přístrojích elektroforéza probíhá v kapilárách) a identita dideoxynukleotidu, který ukončuje každý fragment, je identifikována na základě barevného signálu.



Obr. 37 Autoradiogram klasického Sangerovho sekvenování (vlevo) a výstup z kapilárového DNA-sekvenátoru (vpravo). Křivky měří intenzitu barevného signálu na jednotlivých pozicích gelu, různé barvy odpovídají rozdílným bázím.

Pokročilé metody (NGS) mohou využívat různé principy. Jedným z možných postupů NGS je sekvenování syntézou, například tzv. pyrosekvenování (*pyrosequencing*), které je založeno na detekci aktivity DNA-polymerázy chemoluminiscencí. Zařazení konkrétní báze je identifikováno na základě uvolněného pyrofosfátu, sloužícího jako zdroj energie pro luminiscenční reakci, vyvolávající světelný záblesk detekovaný CCD kamerou. Dalším postupem je sekvenování syntézou využívající reverzibilní terminátory řetězce (např. technologie Illumina). Reakční směs obsahuje dNTP s navázaným fluorescenčně značeným terminátorem blokujícím další prodlužování řetězce. Po zabudování takového nukleotidu se zaznamená jeho fluorescenční signál a následně je terminátor odbourán, což umožní prodloužení řetězce zabudováním dalšího nukleotidu. Všechny zmiňované metody vyžadují zastavení reakce po zabudování nukleotidu, výměnu reaktantů a případnou deaktivaci nadbytečných fluorescenčních značek. Jde o metody, které jsou ve srovnání so Sangerovou metodou podstatně rychlejší a v propočtu na jednu bázi i podstatně lacinější. Umožňují sekvenovat velké množství DNA, dokonce i celé genomy vyšších organismů.

V současnosti jsou vyvíjeny metody třetí generace, které na určování pořadí bází využívají jednotlivé molekuly DNA bez nutnosti zastavení procesu mezi jednotlivými kroky detekce. Patří k nim metody sekvenování pomocí nanoporů, využívající průchod fragmentů DNA nanopory membrán a pořadí bází detekují na základě jejich vlivu na elektrické pole, přímé zobrazování pomocí pokročilých mikroskopických technik (elektronová mikroskopie, skenovací tunelová mikroskopie) a další techniky, které by v budoucnu mohly podstatně rozšířit možnosti analýzy genomů.

Do dneška byli kompletně sekvenovány genomy velkého počtu druhů. Pochopitelně, sekvenování postupovalo od malých genomů směrem k velkým: prvním byl v r. 1977 genom bakteriofága Φ -X174 (5,386 bp), první prokaryotický genom (tedy genom živého organismu *sensu stricto*) byl genom bakterie *Haemophilus influenzae* (1995; 1,83 Mbp), první sekvenovaný eukaryotický genom patřil kvasinice *Saccharomyces cerevisiae* (1996; 12,1 Mbp), sekvenování genomu člověka bylo ukončeno v r. 2006 (3,2 Gbp). Počty kompletně sekvenovaných genomů se v současnosti počítají na tisíce (i když většinou jde o viry a prokaryoty, tedy bakterie a archebakterie) a koncentrují se zejména na modelové organismy (z rostlin *Arabidopsis thaliana*, *Populus trichocarpa*, *Oryza sativa*, ze živočichů *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*). Sekvenování však postupuje i k obrovským genomům (*Picea abies* 19,6 Gbp; 2013).

Box XVI Genomické databanky

Údaje získané sekvenováním jsou ukládány v databázích. V současnosti nejznámější a nej-používanější je databáze GenBank (nemýlit si s genovými bankami, viz kap. *Genetické zdroje*), která spojuje databáze tří největších laboratorií, zabývajících se touto problematikou: European Laboratory of Molecular Biology (EMBL), National Center for Biotechnology Information (součást National Institute of Health, NIH, USA) a DNA DataBank of Japan (DDBJ). Přenos údajů mezi těmito třemi databázemi se děje denně. Údaje v GenBank jsou veřejně přístupné. Při sekvenování kteréhokoli úseku DNA je možnost hledat homologické sekvence v GenBank pomocí nástroje BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), který umožňuje identifikovat sekvence v referenčních genomech s maximální shodou (pod referenčním genomem se rozumí sekvence uznaná jako reprezentativní soubor genů konkrétního modelového druhu; nepředstavuje genom konkrétního jedince, ale mozaiku úseků od více donorů). Mnohé sekvence v GenBank jsou anotovány, tedy je jim přiřazena biologická informace. Anotace genomu spočívá ve třech krocích: identifikaci nekódujících úseků, identifikaci kódujících částí (genů) a přiřazení biologické funkce těmto úsekům. Částečně lze využitím nástrojů bioinformatiky vykonávat ji automatizovaně (využitím BLAST na hledání podobností ve známých genomech), ale případné rozpory je možné redigovat v databázích manuálně. Anotace zahrnuje dva prvky: strukturální anotaci (identifikace a lokalizace exonů, popis struktury genu, identifikace a lokalizace regulačních oblastí genu) a funkční anotaci (určení biochemické a následně biologické funkce genu, identifikace interakcí s jinými geny a mechanismu regulace genové aktivity). Pochopitelně, identifikace homologie sledované sekvence ve zkoumaném organismu s anotovanou sekvencí v referenčním genomu není zárukou, že produkovaný protein vykonává ve zkoumaném druhu stejnou funkci a ovlivňuje stejné fenotypové znaky jako homologický protein referenčního modelového druhu. Databáze je dostupná přes <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

Genetická multiplicita

Nejjednodušší mírou genetické multiplicity je celkový počet alel, resp. průměrný počet alel připadající na 1 lokus (n_a). Pokud je populace v daném genu monomorfní (tj. není v něm pozorovatelná variabilita), počet alel (i počet genotypů) nabývá minimální hodnotu, tedy $n_a = 1$, při polymorfních lokusech je počet pozorovaných alel (a následně i počet pozorovaných genotypových kombinací) vyšší. Problémem takového hodnocení je, že výběrový vzorek nemusí zachytit všechny typy, které se v populaci vyskytují. Šance, že konkrétní alela bude zastoupena ve výběrovém vzorku, je tím menší, čím je alela zřidkavější, tj. čím nižší je její frekvence. Nelze tedy přímo srovnávat počty alel mezi vzorky, které mají podstatně rozdílný rozsah. Analogický problém je v ekologii při hodnocení druhové bohatosti společenstev. Byl proto vyvinutý přepočítání počtu zachycených typů na stejný rozsah výběru, který byl následně adaptován i pro hodnocení alelické bohatosti populace (Petit et al. 1998):

$$A[g] = \sum_i \left\{ 1 - \left[\frac{\binom{N-n_i}{g}}{\binom{N}{g}} \right] \right\} = \sum_i \left(1 - \prod_{k=0}^{g-1} \frac{N-n_i-k}{N-k} \right)$$

kde $A[g]$ je počet alel, které lze očekávat v souboru g genů (tj. $g/2$ diploidních jedinců), kde n_i je počet zachycených výskytů i . alely v celkovém vzorku $N = \sum_i n_i$ alel ($g < N$). Jako společný rozsah výběru pro všechny vzorky, na který se přepočítání vykonává (g) se zpravidla volí velikost nejmenšího populačního vzorku.

Genetická diverzita a genotypová struktura

Pod genetickou diverzitou rozumíme různorodost zastoupení genetických typů. Každá míra diverzity má dvě komponenty, reflektuje bohatost (angl. *richness*) i vyrovnanost (angl. *evenness*) zastoupení typů. Existuje velké množství různých indexů diverzity. Z praktického hlediska se jeví jako optimální ty, které jsou vyjadřovány analogickým způsobem jako multiplicita, tedy počtem typů. Z indexů používaných v ekologii má tuto vlastnost skupina tzv. Hillových indexů, které lze odvodit ze společného vzorce

$$v_a = \left(\sum_{i=1}^A p_i^a \right)^{1/(1-a)}$$

kde p_i je frekvence i . typu (v případě genetické diverzity i . alely) a A je celkový počet nalezených typů (např. alel). Hillův vzorec je univerzální v tom, že má matematicky definovatelný vztah prakticky ke všem indexům diverzity běžně používaným v synekologii a populační genetice. Velikost koeficientu a určuje důraz indexu na jednotlivé komponenty diverzity: při nízké hodnotě a index klade důraz na bohatost, při vysoké na vyrovnanost. Jako optimální hodnota se jeví $a = 2$. Index v_2 se označuje i jako efektivní počet alel:

$$n_e = 1/\sum_i p_i^2$$

Alelická diverzita se odráží v genotypové struktuře, především v heterozygotnosti, tj. podílu heterozygotných genotypů v populaci. Heterozygotnost představuje vlastně míru variability v rámci genotypů jedinců (tedy nejnižší možnou úroveň genetické variability). Aktuální podíl heterozygotů se označuje jako pozorovaná heterozygotnost a dá se jednoduše odhadnout na základě genotypových frekvencí:

$$H_o = \sum_{i<j} N(A_i A_j) / N = \sum_{i<j} P(A_i A_j) = \sum_{i<j} P_{ij}$$

tedy jako podíl počtu heterozygotů ($N(A_i A_j)$, $i < j$) z celkového počtu analyzovaných genotypů (N) resp. jako suma frekvencí heterozygotů (P_{ij}).

Skutečný podíl heterozygotů se může odlišovat od podílu, očekávaného při ideální panmixii. Jak bylo zmíněno v kapitole *Genetika populací*, při panmiktické rovnováze je alelická i

genotypová struktura populace konstantní, nemění se z generace na generaci, proto se panmixie obvykle využívá jako referenční stav, standard, vůči kterému se srovnává struktura nebo chování reálné populace. Zastoupení jednotlivých genotypů v rovnovážné populaci lze odvodit z alelických frekvencí na základě Hardy-Weinbergova zákona: $P'_{ii} = p_i^2$, $P'_{ij} = 2p_i p_j$, $i \neq j$ (P'_{ij} je očekávaná frekvence genotypu $A_i A_j$). Rovnovážná, očekávaná heterozygotnost je vlastně součet očekávaných frekvencí všech heterozygotních genotypů: $H_E = \sum_{i < j} P'_{ij}$. Z praktického hlediska je ovšem jednodušší vypočítat ji jako:

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

protože očekávaná frekvence homozygotního genotypu je čtvercem frekvence příslušné alely. Tento vzorec však při malých výběrových vzorcích poskytuje výchýlený (podhodnocený) odhad očekávané heterozygotnosti populace, takže se používá v upraveném tvaru:

$$H_E = (1 - \sum_i p_i^2) \cdot 2N / (2N - 1)$$

Pozorovaná heterozygotnost tedy popisuje skutečný stav, je charakteristikou genotypové struktury existující populace. Očekávaná heterozygotnost naopak kvantifikuje potenciál populace pro tvorbu heterozygotů v další generaci za předpokladu panmixie, je charakteristikou alelické struktury existující populace a odráží genetickou diverzitu. Diverzita závisí nejen od počtu alel v daném genu, ale i od jejich frekvence – čím více alel se v populaci vyskytuje, a čím rovnoměrněji jsou zastoupeny, tím je genetická různorodost populace vyšší. Efektivní počet alel kvantifikuje, kolika rovnoměrně zastoupeným alelám odpovídá skutečný počet alel, které se v populaci vyskytují. Mezi efektivním počtem alel a očekávanou heterozygotností existuje matematický i logický vztah – čím více alel se v populaci efektivně nachází (tj. v čím větším počtu a čím rovnoměrněji jsou zastoupeny), tím vyšší bude počet jejich kombinací v gametách a tím větší je potenciál pro tvorbu heterozygotních (obecně vitálnějších) genotypů.

Míru odchylky genotypové struktury populace od panmiktické (Hardy-Weinbergovské) rovnováhy kvantifikuje index fixace:

$$F = 1 - H_O / H_E$$

Pokud je v populaci deficit heterozygotů ve srovnání s rovnovážným stavem (např. v důsledku příbuzenského křížení), je index fixace kladný ($F > 0$), při nadbytku heterozygotů (např. po selekci v prospěch heterozygotů) je naopak záporný ($F < 0$).

Genetická diferenciac

Pro posuzování rozdílů alelické struktury mezi dvěma populacemi slouží genetické vzdálenosti. Existuje celá řada měř genetické podobnosti nebo nepodobnosti, nejčastěji se používá genetická vzdálenost podle Nei:

$$D = -\ln(J_{xy} / \sqrt{J_x J_y})$$

kde: $J_x = \sum_i p_{xi}^2$ (očekávaná homozygotnost v populaci x)

$J_y = \sum_i p_{yi}^2$ (očekávaná homozygotnost v populaci y)

$J_{xy} = \sum_i p_{xi} p_{yi}$

(p_{xi} a p_{yi} jsou alelické frekvence i . alely v populacích x a y). Podobně jako při heterozygotnosti, pro získání nestranného odhadu genetické vzdálenosti je nutné zohlednit rozsah výběru:

$$J_x = \sum_i p_{xi}^2 \cdot 2N_x / (2N_x - 1)$$

$$J_y = \sum_i p_{yi}^2 \cdot 2N_y / (2N_y - 1).$$

Další z často používaných indexů nepodobnosti genetické struktury, Gregoriova genetická vzdálenost, je prostou sumou absolutních hodnot rozdílů ve frekvencích jednotlivých alel mezi populacemi:

$$d_0 = \frac{1}{2} \sum_i |p_{xi} - p_{yi}|$$

Koncept genetické vzdálenosti lze v principu aplikovat i na úroveň jedince; i v tomto případě lze kvantifikovat alelické „frekvence“: u homozygota A_iA_i je frekvence A_i rovná 100%, u heterozygota A_iA_j 50%, vo všech ostatních případech 0%. V mnoha případech, zejména při použití dominantních nebo uniparentálních DNA markerů, však nejsme schopni identifikovat genotypy, a DNA profil poskytuje pouze soubor fragmentů, které u konkrétního jedince mohou být přítomny nebo nepřítomny (RAPD, AFLP, cyDNA RFLP profily apod.). Na kvantifikaci rozdílů mezi jedinci lze v tomto případě využít Tanimotův index:

$$D_T = 1 - \frac{N(x \wedge y)}{N(x \vee y)}$$

kde $N(x \wedge y)$ je počet fragmentů, které se vyskytují současně u jedinců x a y , a $N(x \vee y)$ je počet fragmentů, které se vyskytují aspoň u jednoho z jedinců x a y .

Genetická vzdálenost se vždy vztahuje na dvojici populací. Předmětem genetického screeningu však zpravidla bývají rozsáhle soubory řádově desítek, někdy stovek populací. V mnoha případech nás zajímá diferenciací konkrétní populace vůči ostatním jako celku, resp. rozdíly v míře diferenciací v různých souborech populací jako celcích. Pro kvantifikaci diferenciací konkrétní k . populace vůči komplementu (tedy ostatním populacím v souboru) lze použít charakteristiku:

$$D_k = \frac{1}{2} \sum_i |p_{ik} - \bar{p}_{ik}|$$

kde \bar{p}_{ik} je průměr frekvence i . alely ve všech ostatních populacích v souboru kromě k ., vážený velikostí populací (resp. velikostí výběrových vzorků).

Míru diferenciací v rámci celého souboru lze potom odvodit jako průměr diferenciací D_k přes všechny subpopulace, opat vážený velikostí subpopulací:

$$\delta = \sum_k c_k D_k$$

kde c_k je relativní velikost k . subpopulace (podíl počtu jedinců patřících ke k . subpopulaci ze všech analyzovaných jedinců).

Častěji používanou mírou diferenciací v rámci souboru populací je Wrightova F -statistika. V nejjednodušším případě ji pro bialelický lokus lze vyjádřit jako:

$$F_{ST} = \sigma_p^2 / [p_T(1 - p_T)]$$

kde σ_p^2 je variance alel (v případě bialelického lokusu je logicky stejná pro obě alely, protože frekvence jedné je doplňkem do hodnoty jedna k frekvenci druhé alely) mezi subpopulacemi a p_T je průměrná frekvence alely v celém souboru (z čeho vyplývá, že $p_T(1 - p_T)$ je variance frekvence alely v celém souboru). Analýza variance umožňuje rozšířit tuto statistiku i na případ více než dvou alel a většího počtu lokusů.

Jako technicky jednodušší náhradu F_{ST} lze použít statistiku G_{ST} , kterou lze odvodit z očekávaných heterozygotností:

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

kde H_T je očekávaná heterozygotnost celého souboru, vypočítaná na základě průměrných alelických frekvencí, a H_S je průměr očekávaných heterozygotností jednotlivých subpopulací.

F_{ST} i G_{ST} berou jednotlivé alely sledovaných genů jako kvalitativní stavy, které jsou navzájem rozdílné v stejné míře (tj. rozdíl mezi alelou A_1 a A_2 je stejný jako mezi A_1 a A_5). V konkrétních případech je při kvantifikaci diferenciací nutné zohlednit i rozdíly mezi alelami. Pokud interpretujeme diferenciací mezi populacemi jako výsledek evolučního procesu, tedy jednotlivých mechanismů, které vedou ke změnám v zastoupení genů v populacích (selekcí, drift, migrace), nutno zohlednit skutečnost, že přechod stavu konkrétního genu mezi jednotlivými alelickými stavy může vyžadovat rozdílný počet

mutačních kroků. Rozdíly v počtu nebo kvalitě v sekvencích nukleotidů v DNA nebo v sekvencích aminokyselin jejich proteinových produktů, pokud jsou známy, lze použít při kvantifikaci diference:

$$N_{ST} = \sum_i \sum_j \pi_{ij} \text{cov}(p_i p_j) / \sum_i \sum_j \pi_{ij} p_{Ti} p_{Tj}$$

kde $\text{cov}(p_i p_j)$ je kovariance frekvence i . a j . alely přes všechny populace, π_{ij} je míra rozdílu mezi i . a j . alelou (počet rozdílných nukleotidů nebo aminokyselin, počet mutačních kroků – substitucí, insercí/delecí – potřebný na přechod mezi i . a j . alelou apod.), a p_{Ti} resp. p_{Tj} jsou průměrné frekvence i . a j . alely v celem souboru populací.

7 PROMĚNLIVOST A JEJÍ KOMPONENTY

Proměnlivost a její měření

Jak je uvedeno v úvodních kapitolách, proměnlivost na nejnižší (individuální) úrovni spočívá ve vzájemné odlišnosti jedinců v jednotlivých znacích a vlastnostech. Patří k základním atributům živé hmoty. Fenotyp jedince je výsledkem realizace jeho genotypu (souboru dědičných vloh) v konkrétních podmínkách prostředí. Fenotypová proměnlivost má tedy dvě složky: proměnlivost podmíněnou geneticky (danou odlišností genotypů různých jedinců) a proměnlivost podmíněnou prostředím (odlišností podmínek, ve kterých se jedinci vyskytují).

Mendelovy zákony popisují dědičný přenos diskrétních kvalitativních znaků. Jedinec má květy bílé nebo fialové, semena hladká nebo svráštělá, internodia dlouhá nebo krátká atd. Při tomto hodnocení jsou hodnoty znaku rozděleny do diskrétních tříd a i když variabilita v rámci třídy je zanedbána, neznamená to, že neexistuje. Označení internodií jako „dlouhé“ neznamená, že jsou všechny přesně stejně dlouhé. I u znaků, které na první pohled vypadají jako typicky kvalitativní, existuje možnost hodnotit je kvantitativně – u barvy květu by bylo možné měřit průměrnou sytost fialového zbarvení analýzou obrazu, nebo měřit množství květného pigmentu. Rozdíly v rámci tříd jsou i u takovýchto znaků podmíněné variabilitou podmínek prostředí, kterým jsou jedinci vystaveni. U znaků s jednoduchou monogenní dědičnou kontrolou tyto rozdíly nestírají hranice fenotypových tříd, které zůstávají jasně identifikovatelné. U polygenní kontroly znaku, nebo pokud je znak výrazněji ovlivňován prostředím, se však hranice fenotypových tříd stírají a znak nabývá kontinuálního rozdělení.

Určení fenotypu dědičnými vlohami a prostředím samozřejmě není deterministický proces. Zejména v případě polygenních znaků jde o kaskádu biochemických a fyziologických procesů, ze kterých každý je řízen jiným genem. Regulace aktivity těchto genů může záviset od stimulů z prostředí a změna aktivity jednoho z nich může „přepnout“ celou kaskádu na alternativní dráhu. Jeden a ten samý genotyp tedy může být schopen exprimovat se do několika výrazně odlišných fenotypů v závislosti na prostředí. Tento jev se označuje jako fenotypová plasticita. Jejím klasickým případem v morfologii je tvar listů vodních druhů pryskyřníků (*Ranunculus* subgen. *Batrachium*), kde ponořené listy jsou nítovité, zatímco plávající dlaňovitě laločnaté. Fenotypová plasticita se však může projevovat v růstových, fyziologických, biochemických a dalších znacích. V případě dlouhožijících organismů může být jednou ze strategií, jak se vyrovnávat s fluktuacemi prostředí během ontogeneze.

Na popis průměrných fenotypových hodnot a fenotypové proměnlivosti se používají běžné statistické charakteristiky. Vzhledem k tomu, že při praktickém hodnocení proměnlivosti fenotypových znaků pracujeme téměř výlučně s výběrovými soubory, jsou uvedeny vzorce pro bodový nestranný odhad jednotlivých charakteristik a interval spolehlivosti pro aritmetický průměr (na připomenutí – průměr je charakteristikou polohy, nikoli proměnlivosti!).

Aritmetický průměr: $\bar{x} = \sum_i x_i / n$

Rozptyl (variance): $s_x^2 = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n-1} = \left(\frac{\sum_i x_i^2}{n} - \bar{x}^2 \right) \cdot \frac{n}{n-1}$

Směrodatná odchylka: $s_x = \sqrt{s_x^2}$

Variační koeficient: $s_{x\%} = 100\% \cdot s_x / \bar{x}$

Střední chyba průměru: $s_{\bar{x}} = s_x / \sqrt{n}$

95% interval spolehlivosti: $95\% IS = \bar{x} \pm t_{0,05} \cdot s_{\bar{x}}$

(x_i je fenotypová hodnota i . jedince, n rozsah výběru, $t_{0,05}$ kritická hodnota Studentova t -rozdělení pro $\alpha=0,05$ a $n-1$ stupňů volnosti).

Složky fenotypové proměnlivosti

Míra a charakter proměnlivosti fenotypového znaku, rozdělení četnosti podle fenotypových tříd, závisí nejen na počtu genů, které daný znak kontrolují, a jejich alelických frekvencích, ale i na interakcích mezi alelami v rámci genu (dominance, superdominance) resp. interakcích mezi geny (epistáze). Geneticky podmíněnou proměnlivost znaku tedy lze rozdělit na složku aditivní, dominantní a epistatickou. Aditivní komponenta je základní složkou proměnlivosti, je podmíněna aditivním účinkem alel (tedy sečítáním účinků), které se podílejí na kontrole znaku. Předpokládá lineární vztah (přímou úměru) mezi fenotypovou hodnotou jedince a počtem alel zvyšujících hodnotu znaku v jeho genotypu:

$$P_{Aa} = \frac{1}{2}(P_{AA} + P_{aa})$$

Komponenta dominantní představuje sumu odchylek od tohoto lineárního vztahu, které jsou podmíněny úplnou resp. neúplnou dominancí či superdominancí

$$P_{Aa} > \frac{1}{2}(P_{AA} + P_{aa})$$

Epistatická složka představuje sumu odchylek od tohoto lineárního vztahu, které jsou podmíněny epistázou, tj. nadřazeností jednoho genu jinému (např. pokud gen *B* je epistaticky nadřazen genu *A*, potom $P_{_B_} > P_{A_bb} > P_{aabb}$).

Proměnlivost podmíněná prostředím může být modifikační (způsobená trvalými modifikujícími vlivy prostředí na fenotypový znak) a flukтуаční (způsobená cyklickou variabilitou prostředí, např. střídáním ročních období).

Hodnocení složek proměnlivosti vždy vychází z experimentu. Pokud sledujeme unikátní genotypy v jejich původním prostředí, nelze z jejich fenotypových projevů odvodit, nakolik se na fenotypu podílí dědičnost a nakolik prostředí. Hodnocení vychází z různých typů biologických pokusů (přesazovací pokusy, testy potomstev), ve kterých jsou příbuzné a tedy geneticky podobné skupiny jedinců (klony, plnosesterská nebo polosesterská potomstva, populace) opakovaně testovány v různých prostředích (testovací plochy, chovné podmínky). Nejjednodušší model, ze kterého genetika kvantitativních znaků vychází, je lineární aditivní vztah mezi fenotypovou hodnotou, vlivem genotypu a vlivem prostředí:

$$P_{ij} = G_i + E_j + \varepsilon_{ij}$$

tj. fenotypová hodnota konkrétního znaku (např. výšky, data rašení, úhlu větvení, obsahu chlorofylu apod.) *i*. jedince v *j*. prostředí (P_{ij}) je dána genotypovou hodnotou (příspěvkem *i*. genotypu k velikosti fenotypového znaku; G_i), odchylkou od této hodnoty, která je vyvolána *j*. prostředím, tj. testovací plochou (E_j) a residuální složku ε_{ij} způsobenou variabilitou mikrostanoviště v rámci testovací plochy. Jinými slovy, podle tohoto modelu genotyp přispívá k fenotypové hodnotě daného znaku nezávisle na prostředí, tj. ve všech prostředích stejně, a naopak, konkrétní prostředí vyvolá při všech genotypech stejnou reakci.

Ve skutečnosti jsou mnohé rostlinné nebo živočišné populace specializovány na konkrétní podmínky prostředí, a na přenos do jiného prostředí reagují jinak, než by odpovídalo obecnému trendu. Tento jev se označuje jako interakce genotypu a prostředí ($G \times E$ interakce), takže uvedený model by měl být rozšířen na

$$P_{ij} = G_i + E_j + GE_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

kde GE_{ij} je odchylka vyvolaná specifickou reakcí *i*. genotypu v *j*. prostředí. $G \times E$ interakce však vnáší do modelu komplikace jak z hlediska matematického, tak i z hlediska interpretace a aplikace výsledků šlechtitelských experimentů, proto se s ní často v praxi neuvažuje.

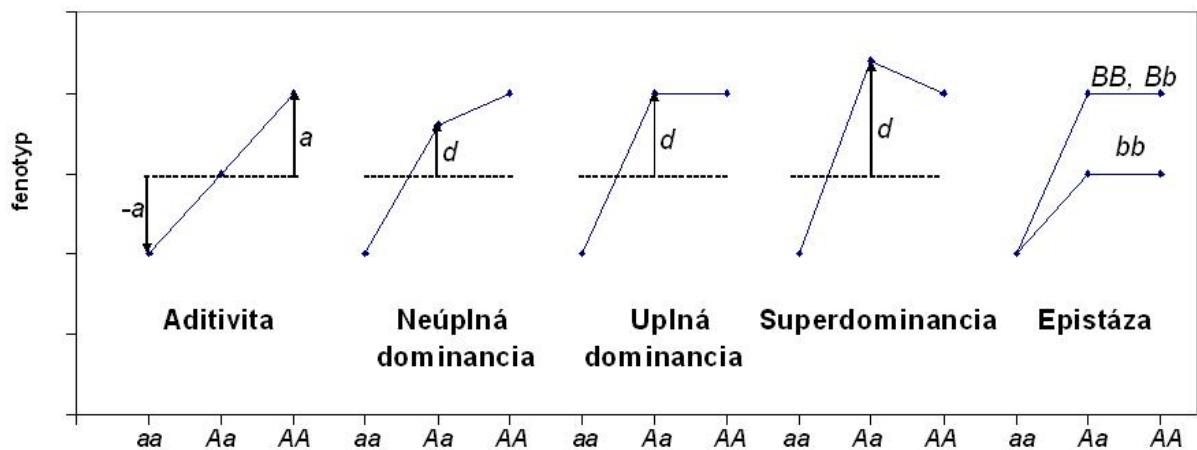
Hodnota *i*. genotypu G_i má několik komponent:

$$G_i = A_i + D_i + I_i$$

kde A_i je aditivní složka (vyplývající z aditivního účinku genů resp. alel, vid kap. *Mendlovovy zákony*), D_i je odchylka od aditivity způsobená dominancí a I_i je odchylka způsobená mezigenovými interakcemi, tedy epistázou.

Box XVII Matematické odvození genotypových a aditivních hodnot a dominančních odchylek

Odvození velikosti hodnot a odchylek, podobně jako komponent variance znaku, které z nich vyplývají, vyžaduje definování fenotypových hodnot pro jednotlivé genotypy. Za předpokladu, že fenotypová hodnota není ovlivněna prostředím ($E = 0$, tj. $P = G$), obr. 38 ilustruje aditivní a neaditivní efekty různých genotypů na hodnotu fenotypového znaku. Pokud přítomnost alely A zvyšuje fenotypový znak o hodnotu $+a$ a přítomnost alely a ji ve stejné míře snižuje, genotypová hodnota homozygota AA bude představovat $+a$ a genotypová hodnota genotypu aa bude $-a$. Genotypová hodnota heterozygota Aa je d , přičemž hodnota d vyjadřuje míru dominance. Při aditivitě genů (tj. absenci dominance) je $d = 0$, tj. genotypová hodnota heterozygota Aa je přesně ve středu mezi homozygoty AA a aa . Genotypová hodnota jedince (tj. příspěvek jeho genotypu k hodnotě fenotypového znaku) tedy závisí pouze od počtu alel A přítomných v genotypu; každá alela A zvyšuje fenotypovou hodnotu o $+a$ vůči jedincům genotypu aa , účinky alel se tedy jednoduše sečtou (odtud název aditivita). V případě dominance $d \neq 0$, tj. heterozygot Aa odlišuje od průměru obou homozygotů. Pokud $d < a$, jde o neúplnou dominanci, pro $d = a$ (tj. heterozygot je fenotypově totožný s homozygotem AA) o úplnou dominanci, pro $d > a$ (tj. heterozygot fenotypově převyšuje oba homozygoty) o superdominanci. Při epistáze přichází do úvahy velké množství různých mezigenových interakcí, případ na obr. 38 je jen jedním z nich. V tomto případě, pokud gen B je epistaticky nadřazen genu A , vliv genu A na fenotypovou hodnotu se projeví pouze v případě, že je jedinec recesivní homozygot bb . Genotypová hodnota jedinců BB a Bb nezávisí od genotypu v genu A . Místo čtyř hodnot fenotypového znaku, které by se objevily při nezávislosti genů A a B a úplné dominanci, lze tedy pozorovat jen tři (pro skupiny genotypů $aabb$, A_bb , $_B_$).



Obr. 38 Hodnoty fenotypového znaku u jednotlivých genotypů v bialelickém lokusu při jednotlivých typech interakcí mezi alelami resp. geny při absenci vlivu prostředí ($E=0$).

Pokud středovou hodnotu mezi oběma homozygoty označíme x' , potom průměrnou hodnotu fenotypového znaku v rovnovážné populaci lze vypočítat z frekvencí a genotypových hodnot jednotlivých genotypů. Genotypová hodnota homozygota AA bude $x'+a$, homozygota aa bude $x'-a$, a heterozygota Aa bude $x'+d$. V panmiktické populaci bude tedy zastoupení jednotlivých fenotypů odpovídat hodnotám podle tab. 10.

Tab. 10 Hodnoty fenotypového znaku, odpovídající jednotlivým genotypům, a jejich zastoupení v panmiktické populaci

Genotyp	Frekvence	Genotypová hodnota	Četnost
AA	p^2	$x'+a$	$p^2(x'+a) = x'p^2 + ap^2$
Aa	$2pq$	$x'+d$	$2pq(x'+d) = x'2pq + 2pqd$
Aa	q^2	$x'-a$	$q^2(x'-a) = x'q^2 - aq^2$
Suma	1		$x'(p^2+2pq+q^2) + a(p^2-q^2) + 2pqd =$ $= x'(p+q)^2 + a(p+q)(p-q) + 2pqd =$ $= x' + a(p-q) + 2pqd$

pro bialelický lokus platí $p+q=1$

Vztah mezi průměrnou hodnotou znaku v populaci, alelickými frekvencemi a účinky genotypů je tedy

$$\bar{x} = x' + a(p-q) + 2pqd$$

přičemž příspěvek každého genu k průměru fenotypového znaku v populaci lze rozdělit na dvě složky: příspěvek homozygotů v daném genu $a(p - q)$ a příspěvek heterozygotů $2pqd$. Takto odvozené genotypové hodnoty se vztahují na genotypy, ne na geny. V každé generaci však při diploidních, pohlavně se množících organismech geny obsažené v genotypech náhodně segregují do gamet a v následné generaci se uspořádají do nových genotypových kombinací. Pokud chceme kvantifikovat „genetickou hodnotu“ jedince, musíme vycházet z genů, ne z genotypů, tedy určit průměrný vliv alely na fenotypovou hodnotu. Průměrný vliv alely A se dá kvantifikovat jako odchylka potomstva od populačního průměru, za předpokladu, že potomstvo obdrží od jednoho z rodičů alelu A a druhá je vybrána z dostupných gamet náhodně (tab. 11).

Záměna jedné alely za jinou tedy vyvolá změnu fenotypu o hodnotu:

$$\alpha = \alpha_1 - \alpha_2 = [a + d(q - p)][q - (-p)] = [a + d(q - p)](q + p) = a + d(q - p).$$

přičemž z porovnání vztahů pro výpočet α , α_1 a α_2 vyplývá: $\alpha_1 = qa$; $\alpha_2 = -pa$.

Vzhledem ke skutečnosti, že rodiče při pohlavním rozmnožování odevzdávají potomstvu geny, nikoli genotypy, pro průměrnou fenotypovou hodnotu potomstva jsou určující průměrné efekty genů rodičů. Hodnotu jedince z hlediska šlechtění (i z hlediska evoluce) určuje průměrná výkonnost jeho potomstva. Aditivní hodnotu (*breeding value*) lze tedy přímo měřit: pokud konkrétního rodiče křížíme s dalšími jedinci náhodně vybranými z populace, aditivní hodnota (A) představuje dvojnásobek rozdílu mezi průměrem jeho potomstva a průměrem populace (jen polovina genů potomstva pochází od testovaného rodiče, proto dvojnásobek). Aditivní hodnota tedy není výlučně vlastností jedince, ale je zároveň závislá na populaci, ve které se jedinec vyskytuje. Lze ji vyjádřit i v absolutních jednotkách (tj. v jednotkách, ve kterých je měřený fenotypový znak), ale z matematického hlediska je praktičtější vyjádřit ji odchylkou od populačního průměru.

Tab. 11 Výpočet efektu jednotlivých alel v genu s dominancí v panmiktické populaci

Gameta	Genotypové hodnoty a frekvence genotypů potomstva			Průměrné genotypové hodnoty genotypů potomstva	–průměr populace (odpočítat)	Průměrný efekt alely (rozdíl průměru potomstva a průměru populace)
	AA	Aa	aa			
	$x'+a$	$x'+d$	$x'-a$			
A	p	q		$(x'+a)p+(x'+d)q = x'(p+q)+pa+qd$	$-(x'+a(p-q)+2pqd)$	$x'-x'+pa+qd-pa+qa-2pqd = \mathbf{q[a + d(q - p)]} = \alpha_1$
a		p	q	$(x'+d)p+(x'-a)q = x'(p+q)-qa+pd$	$-(x'+a(p-q)+2pqd)$	$x'-x'-qa+pd-pa+qa-2pqd = \mathbf{-p[a + d(q - p)]} = \alpha_2$

Aditivní hodnota jedince je dána aditivní částí účinku alel v rámci genu. Lze ji tedy vypočítat jako sumu průměrných efektů všech alel v genotypu jedince, které daný znak kontrolují. Pro bialelický lokus budou tedy aditivní hodnoty jednotlivých genotypů (vyjádřených jako odchylka od populačního průměru) následující:

$$\begin{aligned} AA & 2\alpha_1 = 2qa \\ Aa & \alpha_1 + \alpha_2 = \alpha(q - p) \\ aa & 2\alpha_2 = -2pa \end{aligned}$$

Průměr aditivních hodnot v populaci je rovný nule: $p^2 \cdot 2qa + 2pq \cdot \alpha(q - p) + q^2 \cdot (-2pa) = 2p^2qa + 2pq^2\alpha - 2p^2qa - 2pq^2a = 0$.

Rozdíl mezi aditivní hodnotou a genotypovou hodnotou představuje odchylku, způsobenou dominancí (D ; *dominance deviation*): $G = A + D$ (obr. 39). Přímo je měřitelná rozdílem mezi fenotypem jedince a průměrnou genotypovou hodnotou jeho potomstva, pokud je testováno ve stejném prostředí (za předpokladu monogenní kontroly znaku, nebo vyloučení proměnlivosti v dalších genech, které znak kontrolují). Odchylky podmíněné dominancí jsou způsobeny efektem kombinace konkrétní dvojice genů, která se může fenotypově projevit jinak než prostý součet efektů obou genů. Velikost dominantních efektů pro jednotlivé genotypy lze odvodit z porovnání genotypové a aditivní hodnoty jednotlivých genotypů. Když je populační průměr $\bar{x} = x' + a(p-q) + 2pqd$, genotypové hodnoty vyjádřené jako odchylky od průměru budou:

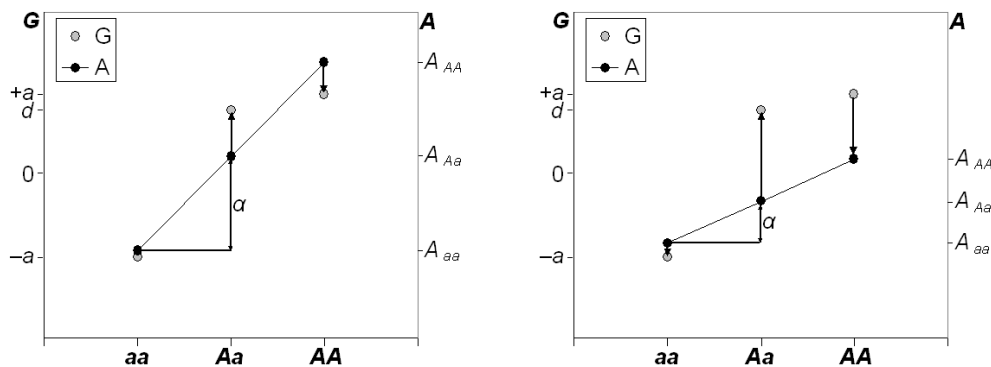
$$\begin{aligned} AA & x' + a - (x' + a(p-q) + 2pqd) = a(1 - p + q) - 2pqd = 2q(a - dp) \\ Aa & x' + d - (x' + a(p-q) + 2pqd) = -a(p - q) + d - 2pqd = a(q - p) + d(1 - 2pq) \\ aa & x' - a - (x' + a(p-q) + 2pqd) = -a(1 - q + p) - 2pqd = -2p(a + dp) \end{aligned}$$

Z tab. 11 plyne pro vztah mezi efektem alely a genotypovými hodnotami: $\alpha = a + d(q - p)$, z čeho $a = \alpha - d(q - p)$. Pokud tuto hodnotu dosadíme do vztahů pro výpočet genotypových hodnot (vyjádřených jako relativní hodnoty, tedy odchylky od průměru populace) a výrazy zjednodušíme, dostaneme hodnoty v tab. 12. Rozdíl mezi relativní genotypovou hodnotou a aditivní hodnotou představuje odchylku podmíněnou dominancí.

Stejně jako aditivní hodnoty i odchylky podmíněné dominancí jsou závislé od kontextu populace, které je testovaný jedinec členem. Z obr. 39 plyne, že pokud se změní zastoupení genů v populaci, posunou se při nezměněných genotypových hodnotách aditivní hodnoty (ležící na přímce) a tedy i dominantní odchylky (vyjádřené šipkami). Zároveň z toho plyne, že nezávisle na velikosti mezialelických nebo mezigenových interakcí je vždy určitá část proměnlivosti aditivní, tj. přístupná pro selekci. V průběhu více generací systematické selekce se však tato aditivní variabilita může vyčerpávat (tj. frekvence genů se posunou ve prospěch těch alel, které jsou v daných podmínkách nebo při umělém výběru z hlediska požadavků člověka výhodné), a tedy odezva populace na přirozený nebo umělý výběr se může zmenšovat i úplně zastavit. Na druhé straně velikost dominantních odchylek je závislá pouze na míře dominance d , není závislá na aditivních hodnotách. Pro $d = 0$ jsou tedy genotypové a aditivní hodnoty totožné.

Tab. 12 Genotypové hodnoty, aditivní hodnoty a dominantní odchylky genotypů v panmiktické populaci

Genotypy	AA	Aa	aa
Absolutní genotypové hodnoty	$x' + a$	$x' + d$	$x' - a$
Frekvence	p^2	$2pq$	q^2
Relativní genotypové hodnoty	$2q(a - dp)$ $= 2q(\alpha - dq + dp - dp)$ $= 2q(\alpha - dq)$	$a(q-p) + d(1-2pq)$ $= (\alpha - dq + dp)(q-p) + d(1-2pq)$ $= q\alpha - dq^2 + dpq - p\alpha + dpq - dp^2$ $+ d - 2pqd$ $= \alpha(q-p) + d(1-p^2-q^2)$ $= \alpha(q-p) + d \cdot 2pq$	$-2p(a + dq)$ $= -2p(\alpha - dq + dp + dq)$ $= -2p(\alpha + dp)$
- Aditivní hodnoty	$-(2q\alpha)$	$-\alpha(q - p)$	$-(-2p\alpha)$
Dominanční odchylky	$-2dq^2$	$2dpq$	$-2dp^2$



Obr. 39 Genotypové (G) a aditivní (A) hodnoty hypotetického fenotypového znaku jednotlivých genotypů v bialelickém lokuse v panmiktické populaci s alelickými frekvencemi $p(A) = 0,4$ (vlevo) a $p(A) = 0,8$ (vpravo) při hodnotách $a = 1$ a $d = 0,8$. Šipky vyjadřují velikost odchylky podmíněné dominancí.

Stejným způsobem by bylo možné odvodit i velikost odchylky způsobené interakcí mezi geny, epistázou (*I*; *interaction deviation*), tj. jako rozdíl mezi genotypovou hodnotou jedince a genotypovými hodnotami, které lze připsat účinkům jednotlivých genů, mezi kterými existuje epistatická interakce. Celková genotypová hodnota jedince je tedy součtem všech tří složek: $G = A + D + I$, kde A je suma aditivních hodnot připisatelná jednotlivým alelám, D je suma odchylek způsobených dominancí (vyplývající z konkrétní kombinace alel v rámci stejného genu) a I je efekt epistatické interakce (vyplývající z konkrétní kombinace alel různých genů).

Dědivost

Analogické vztahy, jaké se uplatňují při hodnocení fenotypových znaků konkrétních jedinců, lze uplatnit i při hodnocení jejich proměnlivosti. Jak je známo ze statistiky, rozptyl (variance) součtu hodnot dvou znaků se rovná součtu jejich rozptylů a dvounásobku jejich kovariance. Pokud tedy pro fenotypovou hodnotu platí, že je součtem hodnoty podmíněné genotypem a hodnoty podmíněné prostředím ($P = G + E$), tak pro fenotypovu varianci musí platit:

$$V_P = V_G + V_E + 2 \text{COV}_{GE}$$

kde V_P je celková fenotypová variance (rozptyl; $V \equiv s^2$; variance hodnot fenotypového znaku u jedinců populace), V_G je variance podmíněná genotypem (tj. variance genotypových hodnot jedinců populace), V_E je variance podmíněná prostředím a COV_{GE} je kovariance genotypu a prostředí (není totožná s $G \times E$ interakcí!), která vzniká, pokud v důsledku nesprávného uspořádání biologického pokusu nejsou vlivy genotypu a prostředí nezávislé (např. pokud při výsadbě nezajistíme jedincům dostatečný růstový prostor, rozdíly v růstu budou podmíněny nejen genotypem, ale i kompeticí, tj. pomaleji rostoucí genotypy budou v růstu navíc zpomalovány i zastíněním rychleji rostoucími sousedy). Aditivní (A) a neaditivní (D , I) složky genotypové hodnoty jedince jsou navzájem nezávislé, proto pro jejich variance platí:

$$V_G = V_A + V_{NA} = V_A + V_D + V_I$$

Box XVIII Matematické odvození komponent rozptylu (variance)

Protože variance je soumou čtverců odchylek znaku od průměru populace dělena četností, lze jednotlivé komponenty variance určit jednoduše z aditivních hodnot (vyjádřených odchylkou od průměru) resp. dominantních odchylek jednotlivých genotypů a jejich frekvence (tab. 13).

Tab. 13 Výpočet aditivní a dominance podmíněné genetické variance fenotypového znaku

Genotyp	Frekvence	Aditivní hodnota A	Složka variance $P \cdot A^2$	Dominanční odchylka D	Složka variance $P \cdot D^2$
AA	p^2	$2qa$	$4a^2p^2q^2$	$-2dq^2$	$4d^2p^2q^4$
Aa	$2pq$	$a(q-p)$	$2pqa^2(q-p)^2$	$2dpq$	$8d^2p^3q^3$
aa	q^2	$-2pa$	$4a^2p^2q^2$	$-2dp^2$	$4d^2p^4q^2$
Σ	1	$V_A =$	$2pqa^2(2pq+p^2-2pq+q^2+2pq) = 2pqa^2(p+q)^2 = 2pqa^2$	$V_D =$	$4d^2p^2q^2(q^2+2pq+p^2) = (2pqa)^2(p+q)^2 = (2pqa)^2$

Znova tedy platí, že komponenty variance závisí výlučně od příslušného typu dědičnosti znaku: aditivní variance závisí pouze od aditivních hodnot, variance podmíněná dominancí výlučně od dominantních odchylek. Obě komponenty variance však zároveň závisí na genetické struktuře populace, maximální hodnotu dosahují při $p = q = 0,5$. Pokud se alelická struktura populace v důsledku ať už přírodního výběru nebo šlechtění posouvá směrem k vyššímu zastoupení zvýhodněných alel, genetická variance (její aditivní i dominantní složka) se zmenšuje a tím se zmenšuje i odezva populace na selekci.

Vzhledem k tomu, že jednotlivé komponenty variance se jednoduše sečítají, má smysl ptát se, jakou část z celkového součtu každá z nich představuje. Podíl genotypové proměnlivosti (měřené variancí) na celkové fenotypové proměnlivosti daného znaku nazýváme dědivostí (heritabilitou) znaku, a určuje, nakolik je variabilita znaku podmíněna dědičně, tedy nakolik se vlastnosti rodičů (dané nejen geneticky, ale i ovlivněné prostředím, ve kterém se rodiče vyskytují) budou přenášet na jejich potomstvo:

$$H^2 = V_G / V_P$$

Symbol H^2 se používá proto, že jde o podíl rozptylů, které se počítají ze sumy čtverců odchylek hodnot od aritmetického průměru. H^2 je tedy symbolem pro dědivost samotnou, ne pro její druhou mocninu. Tento typ dědivosti se označuje jako dědivost v širším smyslu (*broad-sense heritability*).

Podíl aditivní genotypové variance k celkové fenotypové varianci se označuje jako dědivost v užším smyslu (*narrow-sense heritability*):

$$h^2 = V_A / V_P$$

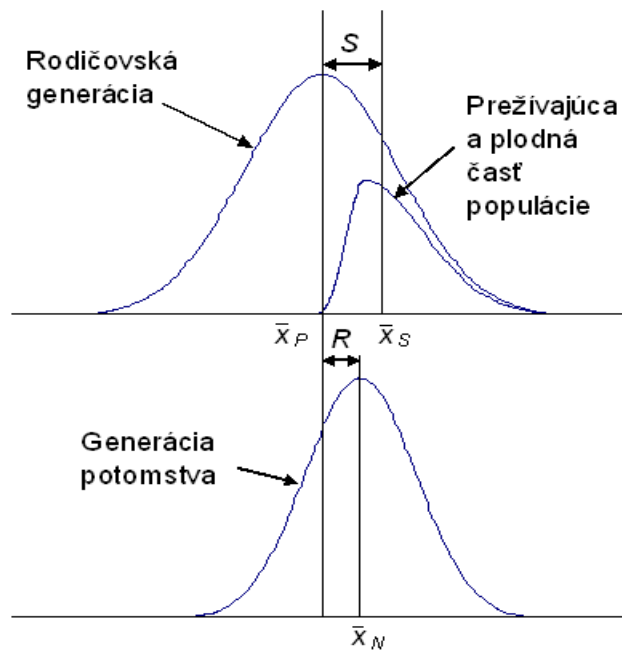
Důvodem pro definování dědivosti v užším smyslu jako samostatného parametru je skutečnost, že při pohlavním rozmnožování genotypy (tedy konkrétní kombinace alel) rodičovské generace zanikají a v potomstvu se vytvářejí kombinace nové. Pokud je populace panmiktická, alelické frekvence v potomstvu jsou totožné s alelickou strukturou rodičovské generace (viz Hardyho-Weinbergův zákon). Pokud však rodičovská generace nevznikla náhodným párováním, genotypové frekvence se změnit mohou. Aditivní část genetické proměnlivosti se tedy zachová, sumární efekty jednotlivých alel zůstanou i v následné generaci zachovány. Naopak, odchylky podmíněné mezialelickými a mezigenovými interakcemi (tedy závislé na konkrétních kombinacích alel) zanikají a utvářejí se nové. Efekty podmíněné aditivitou tedy lze do další generace predikovat, neaditivní efekty nikoli.

Odezva na selekci

Od dědivosti, tedy míry genetické podmíněnosti fenotypového znaku, závisí odezva na selekci v další generaci, tedy posun rozdělení četností ve fenotypových třídách v potomstvu selektované (přežívající a rozmnožující se) části populace vzhledem k rodičovské generaci. Tento posun se zpravidla měří rozdílem průměrných hodnot znaku (aritmetických průměrů).

Opět nutno zdůraznit, že kritériem výběru, ať už přirozeného nebo umělého, je vždy fenotyp jedince. Příroda ani člověk nevybírají jedince podle genotypu, protože ten neznají. V případě umělého výběru zpravidla neznáme ani genetickou kontrolu znaku, který je předmětem našeho zájmu, tedy nevíme, kolik genů daný znak kontroluje a které to jsou, kde v genomu jsou lokalizovány.

Kritériem výběru je znak samotný, tj. vyselektovanou část základní populace představují prostě jedinci s optimální (zpravidla nejvyšší nebo nejnižší) hodnotou znaku, který se podílí na biologické zdatnosti nebo je kritériem šlechtění. V případě přirozeného výběru jsou to pouze tito jedinci, kteří se dožijí dospělosti a budou schopni se rozmnožovat. Rozdíl mezi průměrem hodnoty znaku v základní populaci a v selektované (tedy přežívající a rozmnožující se) části populace se nazývá selekční rozdíl nebo selekční diferenciací: $S = \bar{X}_S - \bar{X}_P$. Nelze očekávat, že se celý selekční rozdíl přenesou do další generace, tj. že průměr znaku v další generaci se od průměru základní populace (rodičovské generace) bude lišit o stejnou hodnotu jako rodičovští jedinci samotní. Protože kritériem výběru je fenotyp, který závisí od dědičných faktorů i prostředí, mezi přežívajícími jedinci nutně budou zastoupeni i takoví, u kterých vynikající fenotyp není způsoben příspěvkem genotypu, ale je důsledkem zvýhodněných podmínek prostředí (např. stromy, jejichž sousedé byli v mladším věku poškozeni zvěří, jsou zvýhodněni v kompetici), tj. nedědičných faktorů, přičemž podíl těchto jedinců bude tím vyšší, čím více je daný znak determinován prostředím. Zlepšení průměrné hodnoty potomstva selektovaných jedinců vůči průměru rodičovské generace, tj. odezva na selekci, je tedy úměrné selekčnímu rozdílu (čím více selektovaní jedinci fenotypově předstihují průměr celé rodičovské generace, tím větší efekt můžeme očekávat) a dědivosti (čím více je znak podmíněn geneticky, tím větší část selektovaných jedinců bude fenotypově nadprůměrná díky genotypu, a tedy bude schopna své vlastnosti přenášet na potomstvo). Odezva na selekci tedy představuje rozdíl mezi potomstvem jedinců, kteří byli vyselektováni na základě jejich fenotypu, a hypotetickým potomstvem jedinců, kteří by byli náhodně vybráni ze zdrojové populace, a jejichž fenotypový průměr by se rovnal průměru zdrojové populace (zjednodušeně rozdíl mezi potomstvem selektovaných jedinců a průměrem zdrojové populace) (obr. 40). Pochopitelně o „zlepšení“ lze hovořit jen v kontextu podmínek prostředí, kterým je populace vystavena, tedy v kontextu konkrétního selekčního tlaku.



Obr. 40 Schéma určenia odezvy na selekciu

Selekčný diferenciál lze odvodiť z veľkosti variability znaku v zdrojovej populácii (mierené smerodatnou odchylkou znaku resp. variačným koeficientom) a intenzity selekcie, ktorá je mierená hodnotou odchylky od priemeru odpovedajúcej príslušnému kvantilu pravdepodobnostného rozdelenia: $S = i \cdot s_x$. Zpravidla vychádzame z predpokladu, že kvantitatívny znak má v populácii normálne rozdelenie (tj. rozdelenie odpovedajúcej Gaussovej krivke). Pri normálnom rozdelení platí, že v intervale $\bar{x} \pm s_x$ sa nachádzajú 68% hodnôt, mimo tohto intervalu sa teda nachádzajú 32% hodnôt, z toho 16% nad jeho hornú hranicu a 16% pod jeho spodnú hranicu. Pokiaľ teda prežívajú a rozmnožujú sa 16% najlepších jedinců, limit selekcie sa nachádza za hranicou $\bar{x} + 1 \cdot s_x$, intenzita selekcie je teda rovná $i = 1$.

Pri organizmech s krátkou generačnou dobou lze odozvu na selekciu priamo mieriť: $R = \bar{X}_N - \bar{X}_P$. Pri dlhovekých organizmech, ako jsou například lesní dřeviny, jsme však odkázáni na predikciu genetického zisku na základe selekčného rozdielu a dedivosti. Obecně se v evoluční biologii při predikci vývoje populace vychází z toho, že potomstvo vzniká náhodným křížením v rodičovské generaci. Genotypy potomstva jsou vůči genotypům rodičovských jedinců (selektované části populace) nanovo uspořádány náhodným způsobem, protože při generativním množení dochází k segregaci a rekombinaci alel. Odchytky podmínené dominanciou nebo epistázou se tedy v potomstvu objeví pouze v míře úměrné zastoupení alel. V odevě na selekciu se proto uplatňuje pouze aditivní složka genotypové proměnlivosti, proto pro predikciu odevy musí být použita dedivost v užším smyslu:

$$R = S \cdot h^2$$

Pri umelom výbere (šlechtění) však může nastat i odlišná situace: pokud je potomstvo získáváno způsobem, při kterém známe oba rodiče (záměrné křížení u živočichů, hromadné kontrolované opylení (*mass controlled pollination*) u lesních dřevin apod.), v odevě na selekciu (označované v tomto případě jako genetický zisk) se uplatní všechny komponenty genotypové proměnlivosti, aditivní i neaditivní, proto pro predikciu odevy můžeme použít dedivost v širším smyslu:

$$R = S \cdot H^2$$

Při vegetativním (klonálním) rozmnožování rostlin jsou genotypy rodičovských jedinců přesně kopírovány, v potomstvu se zachovává specifické uspořádání alel v genotypech, které může podmiňovat odchylky způsobené dominancí nebo epistázou, tedy teoreticky by odezva na selekci měla odpovídat dědivosti v širším smyslu. Vegetativní rozmnožování je však spojeno s fyziologicky podmíněnými rozdíly, klony představují proti semenáčkům ontogeneticky starší materiál, tedy i z hlediska vlastností, které jsou předmětem výběru, se mohou chovat odlišně. Proto se pro stanovení odezvy na selekci vychází z dědivosti, zjišťované klonálními testy, která může být odlišná od dědivosti v širším smyslu (klonální dědivost; *clonal heritability*).

Interakce genotyp × prostředí

Některé genotypy reagují na podmínky konkrétního prostředí jinak, než by odpovídalo obecnému trendu. Chování se konkrétního genotypu v konkrétních podmínkách prostředí (P) neodpovídá očekávání, které vyplývá z obecné výkonnosti daného genotypu (G) a obecné vhodnosti daného prostředí (E). Tento jev označujeme jako interakci genotypu a prostředí ($G \times E$ interakce).

Hodnocení $G \times E$ interakcí vychází ze základního statistického modelu kvantitativní genetiky: pokud je m genotypů vysazených na n lokalitách v r opakováních, fenotypová hodnota má následující složky:

$$P_{ijk} = \mu + G_i + E_j + GE_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

kde P_{ijk} je fenotypová hodnota k . jedince i . genotypu v j . prostředí, μ je průměrná fenotypová hodnota všech jedinců na všech lokalitách, G_i je průměrný efekt i . genotypu přes všechny lokality, E_j je průměrný vliv j . prostředí, GE_{ij} je odchylka vyvolaná interakcí i . genotypu a j . prostředí a ε_{ijk} je reziduální odchylka, vyvolaná neidentifikovatelnými faktory (chyba měření, heterogenita prostředí v rámci lokality apod.).

Existenci $G \times E$ interakce lze testovat dvoufaktorovou analýzou variance. Tato metoda však umožňuje jen otestovat, zda vliv $G \times E$ interakce na fenotypovou hodnotu vůbec existuje (zda je statisticky významný, tj. zda jeho existenci můžeme předpokladat alespoň s konvenční pravděpodobností 95%) a poskytuje kvantitativní odhad podílu fenotypové variance vázané na efekt $G \times E$ interakce. Potvrzená existence $G \times E$ interakce však vyvolává další otázky: Existuje v $G \times E$ interakci biologicky interpretovatelný a tedy prakticky využitelný trend? Jak se jednotlivé genotypy odlišují v reakci na změnu prostředí?

V odpovědi na tyto otázky se využívá regresní analýza. Pokud kvantifikujeme klimatické, půdní a jiné vlastnosti prostředí na jednotlivých lokalitách pomocí kvantitativních charakteristik, můžeme použít vícenásobný lineární regresní model závislosti efektu $G \times E$ interakce na těchto charakteristikách:

$$GE_{ij} = \sum_l \beta_{il} x_{jl} + \varepsilon_{ij}$$

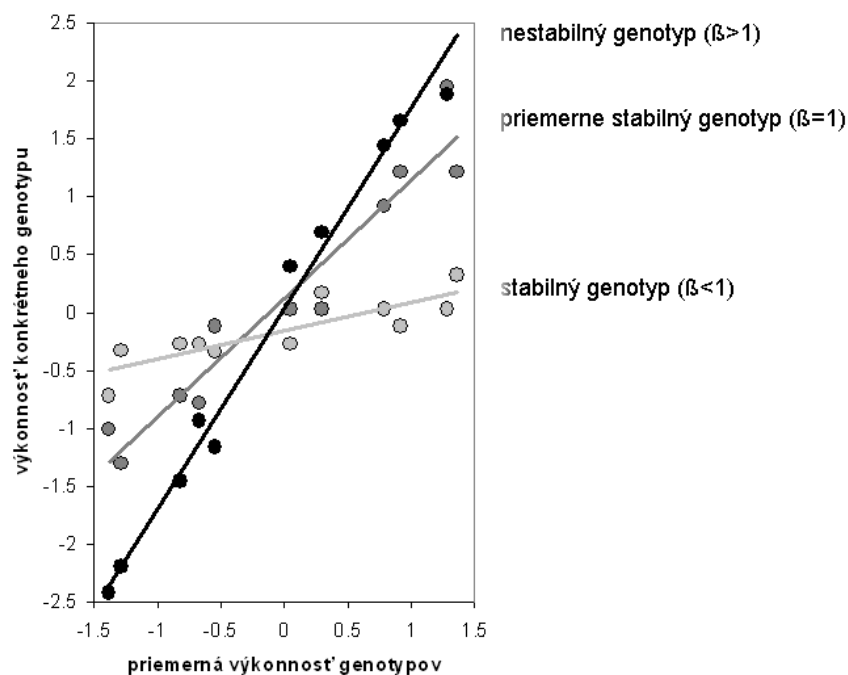
kde x_{jl} je hodnota l . charakteristiky prostředí na j . lokalitě, β_{il} je parciální regresní koeficient $G \times E$ efektu i . genotypu na x_{jl} a ε_{ij} je reziduální chyba. Výhodou tohoto přístupu je možnost identifikace vlivu specifických vlastností prostředí na fenotypovou reakci jednotlivých genotypů. Jeho problematickou stránkou je nutnost měřit velké množství charakteristik prostředí, ze kterých většina je pravděpodobně irelevantní a z nichž mnohé jsou kolineární, což komplikuje interpretaci.

Vhodným vychodiskem je Finlay-Wilkinsonova metoda hodnocení $G \times E$ interakce (*joint regression analysis*), použitelná při fenotypových znacích, které jsou složkou biologické zdatnosti. Při tomto postupu je průměrná fenotypová hodnota všech genotypů na konkrétní lokalitě použita jako charakteristika prostředí této lokality. Pokud vycházíme z předpokladu, že testované genotypy představují náhodný výběr z jedinců dané dřeviny, potom platí, že čím vyšší fenotypovou hodnotu zastoupené genotypy na jednotlivé lokalitě v průměru dosahují,

tím je pravděpodobně prostředí dané lokality pro testovanou dřevinu vhodnější. Regresní model lze v tomto případě modifikovat následujícím způsobem:

$$GE_{ij} = \beta_i (\mu_j - \mu) + \varepsilon_{ij}$$

kde μ_j je průměrná fenotypová hodnota všech genotypů na j . lokalite, ε_{ij} je reziduální chyba a regresní koeficient β_i vyjadřuje stabilitu i . genotypu. Pokud $\beta_i = 1$, znamená to, že daný genotyp reaguje na přenos do jiného prostředí stejně jako průměr všech testovaných genotypů, tj. v souladu s očekávaným obecným trendem. Jde tedy o genotyp, u kterého je G×E interakce nulová. V případě, že $\beta_i > 1$, genotyp na přenos do lepších podmínek prostředí reaguje výraznějším zlepšením své fenotypové hodnoty, než je u dané dřeviny běžné, naopak, v horších podmínkách prostředí zaostává výrazněji než jiné genotypy, tedy jde o podprůměrně stabilní genotyp. Pokud $\beta_i < 1$, genotyp vykazuje naopak nadprůměrnou stabilitu, tj. jeho fenotypová hodnota závisí na podmínkách prostředí méně, než je u dané dřeviny běžné (obr. 41).



Obr. 41 Ilustrace hodnocení stability genotypů (G×E interakcí) Finlay-Wilkinsonovou metodou

3. UPLATNĚNÍ POZNATKŮ GENETIKY V LESNÍM HOSPODÁŘSTVÍ

Význam kvality zdroje lesního reprodukčního materiálu

Význam kvality reprodukčního materiálu lesních dřevin v podmínkách lesního hospodářství České republiky spočívá v tom, že zde naprosto převládá umělá obnova lesa již druhou, místy i třetí generaci lesa. Navzdory snaze o zvýšení podílu přirozené obnovy na každoročně obnovované ploše lesa tomu bude pravděpodobně převládat i nadále. Hlavním důvodem je potřeba rekonstrukcí lesních porostů zaměřených na úpravu dřevinové skladby a diverzifikaci struktury lesních porostů v souvislosti s klimatickou změnou a přetrvávajícími důsledky znečištění ovzduší.

Stromy jsou dlouhověké a než se zreprodukují, musí na jednom místě desítky až stovky let. Přitom čelí často extrémnímu tlaku abiotických činitelů, chorob a parazitů a konkurence jiných dřevin. Není divu, že genetické studie potvrdily, že dlouhověké lesní dřeviny mají mnohem bohatší genetickou výbavu a v průměru i dvakrát vyšší heterozygotnost než rostliny s kratším životním cyklem (schopny rychlejší evoluční odezvy prostřednictvím rychlé obměny generací) nebo živočichy, kteří jsou na náhlé změny vnějších podmínek schopni reagovat aktivně, mimo jiné i migrací.

Zákony dědičnosti mají obecnou platnost a tak i vzhled, produkční schopnost a odolnost lesních dřevin ovlivňuje jak prostředí tak i a dědičné faktory. Dědičné predispozice znaků a vlastností lesních dřevin mají u lesních dřevin větší praktický význam, než je při dlouhověkosti vidět na první pohled. Projevují se rozdíly v přežívání, růstu a kvalitě porostů založených z reprodukčního materiálu pocházejícího ze zdrojů různé kvality a odlišného geografického původu (provenience). Za tímto rozdíly je dědičná adaptace k odlišným podmínkám prostředí (provenience) a dědičná podmíněnost řady žádoucích i nežádoucích znaků lesních dřevin.

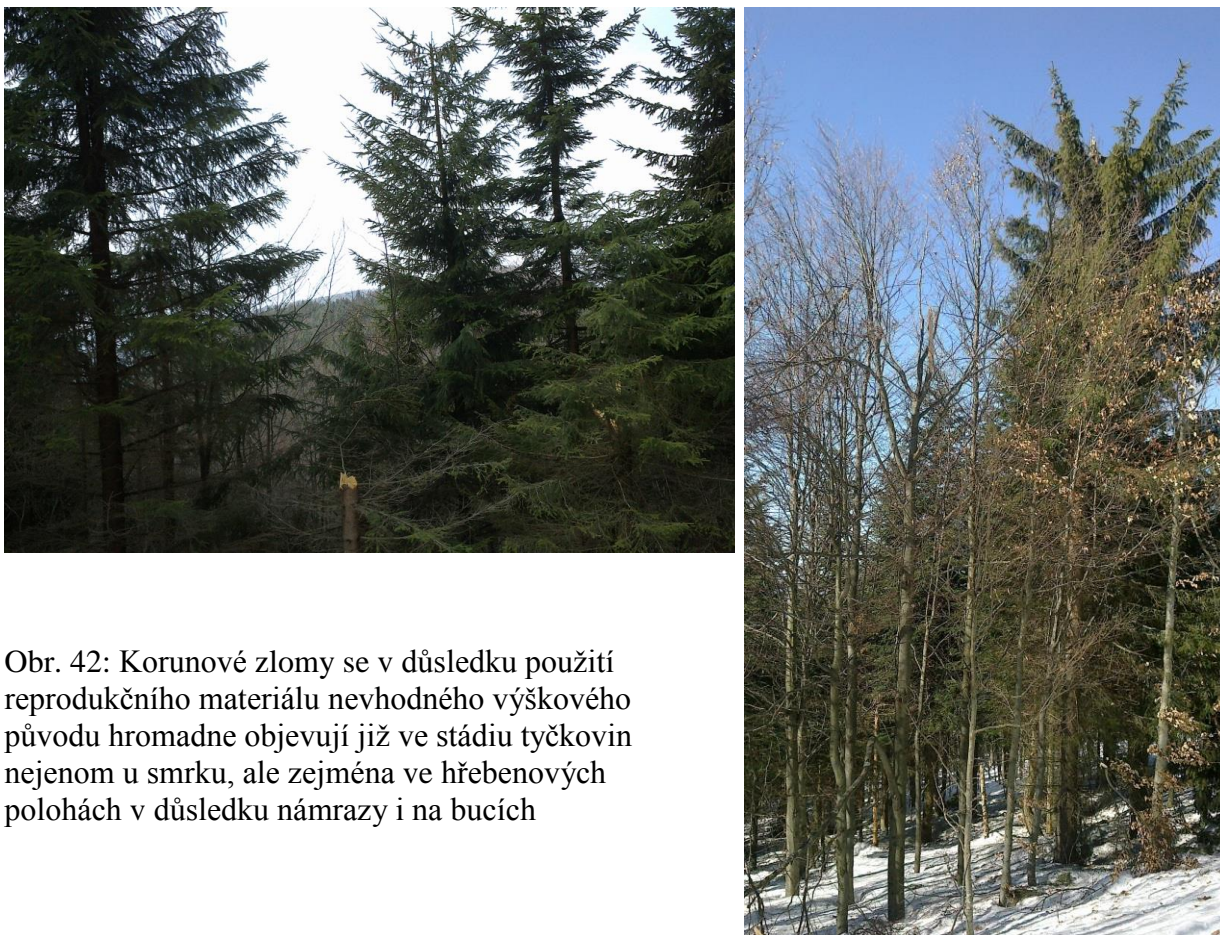
Již od 19. století zkušenosti s neúspěšným zakládáním porostů, jejich pozdějším rozpadem anebo nízkou kvalitou ukazují, že vlastnosti a původ mateřského porostu (zdrojové populace) lesního reprodukčního materiálu ovlivňuje:

- kvalitu zakládaného porostu: typ větvení jehličnanů, vidličnatost, vícevrcholový růst, tvar koruny, křivost, sukovitost nebo točitost kmene. Dnes víme, že hodnoty dědivosti uvedených fenotypových znaků dosahují 40 až 80 %, u typu větvení některých jehličnanů a u fenologických znaků se přibližují až k 100 %.
- adaptační schopnost reprodukčního materiálu lesních dřevin na změnu stanovištních podmínek: přežívání, vitalitu a odolnost porostů s dosahy na produkci a stabilitu zakládaných lesních porostů. V přežívání a objemové produkci na jednotku plochy dosahují rozdíly mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi 50 až 100 %.

V kladném smyslu jsme u reprodukčního materiálu kategorií selektovaný, kvalifikovaný a testovaný – v závislosti od typu zdroje (uznaný porost, semenný sad, klony a jejich směsi) a v něm použité metody selekce nebo novošlechtění – schopni zvýšit produkci a výnos lesních dřevin o 3 až 25%. Vyšších hodnot genetického zisku se v současnosti v provozu dosahuje jen v klonovém lesnictví v kombinaci s využíváním výsledků mezidruhové hybridizace.

Kvalita a původ zdroje lesního reprodukčního materiálu do značné míry předurčují vlastnosti a stabilitu lesních porostů zakládaných umělou a kombinovanou obnovou. Dobrý dědičný základ reprodukčního materiálu je navíc jednorazovým vstupem do produkčního cyklu lesa a k tomu, aby se realizoval, není zapotřebě průběžně vynakládat dodatečné prostředky. Ze středně- i dlouhodobého hlediska je proto pro produkci a ekologickou stabilitu lesa mnohem důležitější kvalitní zdroj a vhodný původ reprodukčního materiálu (záruka pravosti zdroje a původu) než technická kvalita sazenic. Z uvedených důvodů se například ve Skandinávii nebo Severní Americe genofond lesních dřevin řadí k výrobním faktorům

podobného významu jako kvalita stanoviště, infrastruktura, lesní technika a odborná úroveň pracovní síly.



Obr. 42: Korunové zlomy se v důsledku použití reprodukčního materiálu nevhodného výškového původu hromadně objevují již ve stádiu tyčkovin nejenom u smrku, ale zejména ve hřebenových polohách v důsledku námrazy i na bucích

Dědivost ekologicky a hospodářsky významných znaků lesních dřevin

Význam kvality zdroje lesního reprodukčního materiálu je dán vysokou mírou dědičné podmíněnosti mnoha důležitých znaků a vlastností, tj. vysokou mírou jejich přenosu z rodičů na potomstvo. Míra dědičné podmíněnosti znaku se vyjadřuje jeho dědivostí. Přehled koeficientů dedivosti nejdůležitějších znaků lesních dřevin, a tedy i riziko produkčních ztrát při použití reprodukčního materiálu z nekvalitních zdrojů, poskytuje tab- 14.

Vysokou dedivost mají kvalitativní znaky, které kontroluje malý počet genů silného účinku. Pod téměř 100 % dědičnou kontrolou je typ větvení a tvar korun smrku a do velké míry i borovice lesní. Střední až vysokou dedivost má křivost kmene dubu, vidličnatost a točitost buku. Obecně u všech dřevin má vysokou dedivost hustota dřeva. Význam fenologie a její dědičné podmíněnosti tkví v tom, že poškozování pozdními a časnými mrazy vede u lesních dřevin k fyziologickému oslabení, ztrátám na tloušťkovém přírůstu a infekcím. Omrzání terminálních pupenů vede např. u jasanu ke vzniku sekundární vidličnatosti.

Výškový a tloušťkový růst, které *apriori* ovlivňuje velký počet genů malého účinku, ovšem vykazují velmi široký rozptyl hodnot dedivosti. Navíc jsou často v interakci s již zmíněnými kvalitativními znaky.

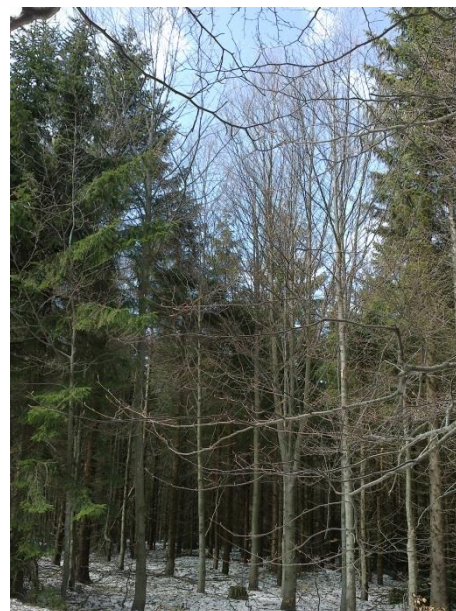
Tab. 14: Dedivost vybraných důležitých znaků lesních dřevin

	Výškový růst	Tloušťkový růst	Křivost kmene	Točitost kmene	Vidličnatost
Jehličnany	10-85 %	17-40 %	14-33 %	55-70 %	10-45 %
Listnáče	25 - 85%	8-26 %	26-60 %		47-65 %

	Úhel nasazení větví	Tloušťka větví /sukovitost	Hustota dřeva	Praskliny kmene	Fenologie*
Jehličnany	8-40 %	13-64 %	41-90 %	30-93 %	80-100 %
Listnáče	16-62 %				

* - doba rašení, trvání růstu, čas ukončení vegetace...

Vysoké hodnoty koeficientu dědivosti u vidličnatosti, točitosti a trhlin kmene listnatých dřevin znamenají, že v další generaci lesa se objeví ve více než polovině potomstva stromů, které jsou nositeli těchto znaků. Výskyt těchto znaků u rodičovských stromů tedy významně snižuje hodnotu produkce zakládaných porostů resp. další generace lesa.



Obr. 43 Skupiny buku vneseného do smrčin se často vyznačují „systematickou“ vidličnatostí, tvorbou tlustých větví a křivostí kmenů. V takovýchto případech byly použité sazenice bezpochyby dopěstovány z bukvice nasbírané v nekvalitních mateřských porostech

V lesnictví je do velké míry známo, že typ větvení a tvar koruny smrku ztepilého a borovice lesní bývá limitujícím faktorem ekologické stability (existence) jejich porostů. U listnáčů význam se význam architektury koruny, tj. vidličnatosti, tloušťky úhlu nasazení větví do velké míry přehlíží. Plošné poškození bukových porostů námrazovou kalamitou v Karpatech v r. 1998 nebo neobvykle časným sněžením v Beskydech v polovině října 2009 ukazuje, že je

významné i z hlediska statické a dynamické stability listnatých dřevin, přinejmenším na exponovaných hřebenových a podhřebenových stanovištích.

Genetický zisk dosahovaný u kesních dřevin prostřednictvím selekce a šlechtění

Míra zlepšení vlastností šlechtěného materiálu oproti lesním porostem průměrné kvality se vyjadřuje pomocí genetického zisku (ΔG). Jeho hodnoty dosahované prostřednictvím hromadné selekce, individuální selekce a novošlechtění u různých typů zdrojů lesního reprodukčního materiálu uvádíme v tab. 15.

Tab. 15: Zvýšení hodnoty produkce při použití lesního reprodukčního materiálu z různých typů zdrojů reprodukčního materiálu (zdroje: LINDGREN 2008, WHITE *et al.* 2007, TANZ 2001, PENTY *et al.* 2003, KRAHL-URBAN, 1959, KLEINSCHMIT 1993)

Genetický zisk dosahovaný v provozních zdrojích reprodukčního materiálu			
	Uznané porasty	Semenné sady 1. generace (neověřené)	Semenné sady „1,5“ generace s klony ověřenými testy potomstev
Eliminace inbreedingu	0	+ 2%	+ 2%
Celkový odhad (ΔG)	3 až 5%	6 až 10%	17 až 23%

Hodnoty genetického zisku po uplatnění intenzivní selekce a novošlechtění			
	Vegetativní množení otestovaných klonů generace F1	Záměrné křížení nejlepších klonů F1 s navazujícím vegetativním množením F2	Mezidruhová hybridizace s navazujícím vegetativním množením (TP, VR, eukalypty)
Eliminace inbreedingu	+3%	+3%	50 % i více
Celkový odhad (ΔG)	25%	35%	

Ekonomický přínos uznávání porostů a budování semenných sadů v podmínkách České republiky s dlouhodobou převahou umělé obnovy (na úrovni 90 %) tedy nelze zpochybnit. Problém ovšem nastává ve vztahu k dodržování pravidel správné praxe:

- zda je používaný lesní reprodukční materiál pravý a pochází z uznaného zdroje a
- do jaké míry se dodržují pravidla pro přenos a použití reprodukčního materiálu (provenienční disciplína).

Porovnání velikosti genetického zisku s hodnotami dědivosti fenotypových znaků v tab. 15 poukazuje na to, že genetický zisk dosahovaný prostřednictvím uznaných porostů pro sběr semen a semenných sadů je zjevně nižší než koeficienty dědivosti nežádoucích vlastností jako jsou nevhodný typ větvení a tvar koruny, křivost, sukovitost a špatné čištění kmenů, tvorba mrazových trhlin nebo příliš časně rašení!



Obr. 44: Ontogenetická stabilita křivosti kmene dubu indikující vysokou míru její dědičné podmíněnosti – stejná nevhodná proveniencie v pokusu CIESLARA (1905) ve Vídeňském lese ve věku 18 a 100 let (obě fotografie BFH, Rakousko)



Obr. 45: Kultura dubu letního na jednom z nejlepších dubových stanovišť ČR v Dolnomoravském úvalu, k založení které byl pužit reprodukční materiál z nekvalitního zdroje. Vzhledem k míře dědičné podmíněnosti (a ontogenetické stabilitě) křivosti, vidličnatosti a tloušťky větví je zřejmé, že pokud má vlastník lesa zájem využít produkční potenciál stanoviště, porost by měl založit znovu.

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

Ignorování zásad správné praxe, spočívající v zalesňování sazenicemi z nekvalitních zdrojů a /anebo nevhodného původu se v lesních porostech projevuje celá desetiletí. Související ztráty na produkci a zvýšené náklady na ochranu nebo předčasnou obnovu musí nést vlastníci lesa. V případě problémů většího rozsahu náklady na jejich sanaci snášejí veřejné fondy a stát. Okamžitá úspora při pořízení levných sazenic ze zdrojů pochybné kvality anebo původu je přitom zcela zanedbatelná ve srovnání s komplikacemi, které jejich použití způsobí. Pak je jedno, jestli za tím byla nevědomost, záměrné zavádění nebo šetření na nesprávném místě.

Vzhledem k dnešní úrovni poznání, dostupnosti informací a sortimentu zdrojů reprodukčního materiálu tak budoucí kvalita zakládaných lesních porostů závisí na odpovědnosti dodavatelů reprodukčního materiálu a lesních hospodářů mnohem více, než jsme si ochotni připustit.

Role původu, možnosti a limity přenosu lesního reprodukčního materiálu

Schopnost lesních dřevin přizpůsobit změně stanovištních podmínek je předmětem dlouhodobého výskumu. Zjistilo se, že je do velké míry předurčena dědičně, a že přenos reprodukčního materiálu má mimořádně velký vliv na stabilitu a produkci zakládaných lesních porostů. Demonstruje to řada provenienčních pokusů, ve kterých třeba provenience smrku z území České republiky nebo ze Slovenska se již ve věku 45 let liší v objemu středního kmene o čtvrtinu až polovinu a v zásobě na jednotku plochy jsou mezi nimi zjištěny až dvojnásobné rozdíly. Původ lesního reprodukčního materiálu do velké míry ovlivňuje nejen růst a přežívání, ale i predispozici k poškozování škodlivými činiteli. To zvyšuje mortalitu a jako opomíjený faktor přispívá k předčasnému rozpadu lesních porostů.

Výrazu **provenience** se používá k určení místa (původu), ze kterého lesní reprodukční materiál pochází. Obecně je provenience reprezentativním vzorkem zdrojové populace konkrétního geografického původu daného lokalitou včetně nadmořské výšky. **Původem** se ve smyslu legislativy ČR a EÚ rozumí u autochtonního porostu nebo zdroje semene místo, na kterém se porost nebo zdroj semene nachází, u ostatních porostů nebo zdrojů semen je to místo, odkud pochází semenný nebo sadební materiál, z něhož byl porost nebo zdroj semen založen. **Oblastí provenience** se rozumí souvislá území s obdobnými ekologickými a růstovými podmínkami, v nichž jednotlivé druhy nebo poddruhy lesních dřevin při zohlednění vlivu nadmořské výšky vykazují obdobné fenotypové nebo genetické znaky.

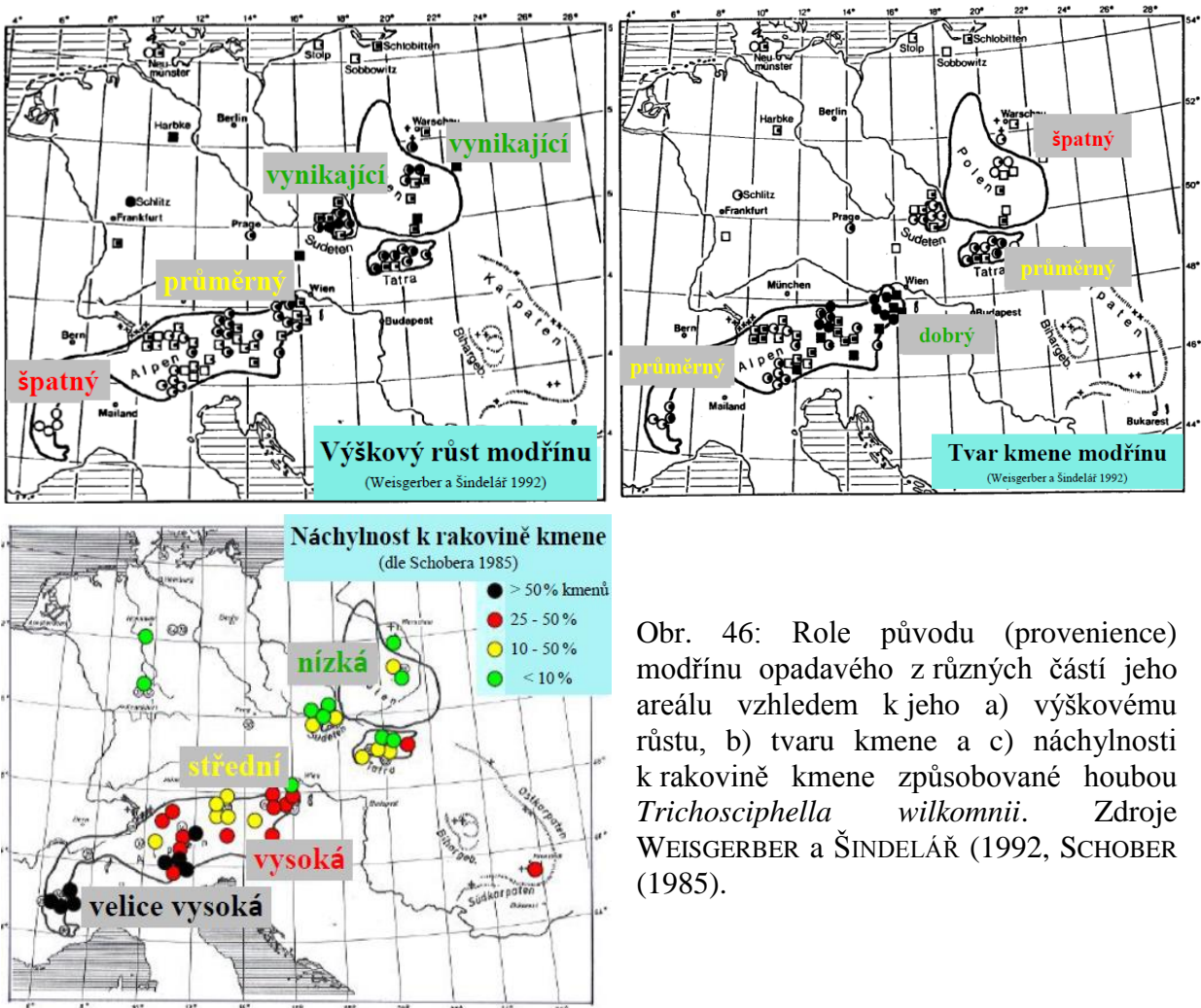
Provenienční pokusy se již od druhé poloviny 19. století zakládají k identifikaci lesních porostů, dávajících dobře rostoucí a přizpůsobivé potomstvo, které lze využít pro umělou obnovu lesa. Potřebu jejich zakládání vyvolaly katastrofální zkušenosti s používáním semen lesních dřevin neznámého původu. Mezinárodní obchod, zejména se semenem jehličnatých dřevin a dubů, se totiž v Evropě rozšířil již od 17. století a praxe brzy ukázala, jak důležité je vědět, jaký reprodukční materiál se hodí pro konkrétní klimatické a stanovištní podmínky. Problémy s nevhodnými proveniencemi byly a jsou známy u modřínu ("alpský" modřín se šavlovitým kmenem je náchylný na rakovinu kmene), borovice lesní (problémy s poškozováním těžkým sněhem), dubu (problémem je křivost a sukovitost kmene).

V souvislosti s bukem se v přehledu mezinárodního obchodu se semeny lesních dřevin (TULSTRUP 1959) uvedl jako výstražný příklad obchod s bukvicí sbíranou v nekvalitních, ale pravidelně plodících bukových porostů v Nizozemsku, která se distribuovala do celé západní Evropy.

Výsledky provenienčních pokusů

Jak důležitý je výběr kvalitního zdroje reprodukčního materiálu ilustruje pokus s dubem zimním z různých částí Rakousko-Uherska, který založil A. CIESLAR v r. 1905. Ve věku 100 let v něm rakouští kolegové našli mezi středoevropskými proveniencemi dvojnásobné (tj. 100 %) rozdíly v podílu kvalitativních sortimentů A, B a C (GEBUREK 2005).

Podobně dvě mezinárodní série pokusných ploch (1946 a 1956-57) s proveniencemi modřínu ukázaly, jak velký je vliv geografického původu na růst, kvalitu kmene a zejména náchylnost na rakovinu kmene (*Trichosiphella wilkomnii*) v závislosti na zeměpisném původu reprodukčního materiálu (WEISGERBER A ŠINDELÁŘ 1992) V pokusech nejlépe obstál modřín z Jeseníků, Západních Karpat a několik proveniencí z východních předhůří Alp. Vyznačují se dobrým růstem, kvalitou kmene a odolností k rakovině kmene, která limituje možnosti pěstování modřínu v západní a severozápadní Evropě. Jako nevhodné se mimo oblast jejího přirozeného výskytu ukázaly proveniencí modřínu z Alp, Polska a Východních Karpat.



Obr. 46: Role původu (provenience) modřínu opadavého z různých částí jeho areálu vzhledem k jeho a) výškovému růstu, b) tvaru kmene a c) náchylnosti k rakovině kmene způsobované houbou *Trichosiphella wilkomnii*. Zdroje WEISGERBER a ŠINDELÁŘ (1992, SCHOBER (1985).

Při porovnání 14 proveniencí smrku, vysazených souběžně v různých nadmořských výškách v Západních Karpatech (LONGAUER et al. 2013) se ve věku 45 let nejlepší a zaostávající proveniencce lišili v průměrné výšce o 7-20 %, kdežto v objemu středního kmene o 25 až 90 % (viz tab. 16). V zásobě dřeva na jednotku plochy, do výpočtu které vstupuje i přežívání stromů rozdíl, ovšem rozdíl mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi dosáhl 75-100 %! V pokusu jsou přítomny jen proveniencce smrku ze Západních Karpat a z hodnocení byla jako extrémní vyloučena proveniencce z horní hranice lesa.

Tab. 16: Vliv proveniencce (původu) lesního reprodukčního materiálu na rast, přežívání a produkci smrku v různých nadmořských výškách. Hodnoceno bylo 14 proveniencí smrku ze Západních Karpat vysazených souběžně na pokusných plochách v různé nadmořské výšce na středním Slovensku ve věku 45 let

Rozdíl mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi:	Nadmořská výška		
	450 m	750 m	1 250 m
- střední výška	7 %	7 %	20 %
- objem středního kmene	24 %	24 %	55 %
- přežívání	29 %	33 %	41 %
- jednotková zásoba	100 %	29 %	87 %
- vady kmene (dvojáky, deformace, zlomy)	25 %	11%	57 %

Pokud provenieční pokus tvoří několik ploch se stejnými proveniencemi vysazenými v různých stanovištních podmínkách, lze z nich odhadnout, jak roli hraje původ ve vztahu k typu stanoviště. Oba prezentované pokusy ukazují, že rozdíly mezi proveniencemi jsou menší v produkčním optimu (z hlediska nadmořské výšky) smrku než v extrémnějších podmínkách v menší nadmořské výšce nebo ve vysokých polohách. Kromě růstu a přežívání to platí i pro četnost vad kmene a poškozených stromů. Volba proveniencce má tedy větší význam pro úspěch obnovy, kvalitu, stabilitu a životnost lesního porostu v podmínkách, které jsou pro lesní dřeviny méně příznivé.

Tab. 17: Rozdíly v růstu, přežívání a jednotkové zásobě 30 proveniencí ze Západních Karpat a nížin středního a severního Polska. Hodnoceno na pokusných plochách v různých nadmořských výškách na středním Slovensku ve věku 38 let

Rozdíl mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi:	Nadmořská výška		
	330 m	700 m	1 000 m
- střední výška	25 %	17 %	37 %
- objem středního kmene	95 %	35 %	72 %
- přežívání	51 %	36 %	63 %
- jednotková zásoba	151 %	61 %	167 %
- vady kmene (zlomy, dvojáky, deformace)	20 %	17 %	58 %

Pokusy zaměřené na vliv přenosu reprodukčního materiálu na růst smrku, jedle, buku a dubů poskytují obdobné výsledky. Ať už vzhledem k výškovému růstu, přežívání, objemu středního kmene, zásoby i ovlivnění škodlivými činiteli.

Tab. 18: Rozdíly v růstu a přežívání proveniencí buku, dubu zimního a jedle bělokoré ve věku přibližně 30 (29-32 let). Zdroj LONGAUER et al. (2013)

Rozdíl mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi:	Buk lesní 500 m n. m. 19 proveniencí ze Záp. Karpat	Dub zimní, 550 m n. m. 25 proveniencí ze Záp. Karpat	Jedle bělokorá, 880 m n. m.	
			8 proveniencí ze Západních Karpat	32 proveniencí ze střední Evropy a Balkánu
- střední výška	20 %	18 %	19 %	49 %
- objem středn. kmene	40%	64%	33 %	100 %
- přežívání	45 %	168 %	85 %	164 %

Čím větší a z hlediska přírodních podmínek heterogennější oblast ve které jsme ochotni přenášet lesní reprodukční materiál, tím větší rozdíly mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi lze očekávat. Například mezi proveniencemi smrku ze Slovenska a Polska (tab. 17) jsou rozdíly ve výškovém růstu (37 %), středním kmeni (95 %) a jednotkové zásobě (161 %) dvojnásobné oproti rozdílům mezi proveniencemi místního původu (tab. 16).

Možné přínosy, ale i rizika používání reprodukčního materiálu ze zeměpisně vzdálených oblastí s odlišnými stanovištními podmínkami se projevují i v pokusech s jedlí bělokorou (tab. 18). Místní provenience se liší ve střední výšce jen o přibližně 20 % a v přežívání o 85 %. Provenience z různých částí střední a jihovýchodní Evropy se ve stejném pokusu lišili ve střední výšce o 50 % a v přežívání dokonce víc než jedenapůlnásobně!



Obr. 47: Rozdíly v době rašení a v růstu jedle bělokoré pocházející z jižní (Itálie) a severní části (Bavorsko) jejího přirozeného areálu. Foto ASP Teisendorf, Německo.

I když je tedy Evropská unie volným trhem pro lesní reprodukční materiál, nejenom naše ale i zahraniční výsledky (viz tab. 19) nabádají k opatrnosti a poukazují na opodstatněnost regulace užívání reprodukčního materiálu ze strany jednotlivých členských států EU.

Tab. 19: Čistý výnos z m³ dřeva a z hektaru lesa (v % průměrného výnosu) u vhodných a nevhodných proveniencí reprezentujících 25 % kvantily z různých pokusů v Německu. Zdroj MÖHRING (2006).

Čistý výnos:	Dub		Buk		Duglaska		Smrek	
	na m ³	na ha	na m ³	na ha	na m ³	na ha	na m ³	na ha
Vhodné provenience	139%	154%	150%	159%	120%	129%	120%	141%
Nevhodné provenience	62%	54%	64%	62%	81%	72%	77%	65%

Shrnutí: Zatímco rozdíly mezi vhodnými a nevhodnými proveniencemi lesních dřevin ve střední výšce nejsou dramatické (obvykle dosahují 10-25%), v objemu středního kmene, který závisí od výšky i tloušťky stromů dosahují již 25-90%. Nejmarkantněji se role provenience ovšem projevuje v zásobě na jednotku plochy, která závisí od růstu i od přežívání dřeviny. Tyto rozdíly mohou již v stádiu tenké kmenoviny překročit 100%. Jinými slovy, rozdíl v zásobě porostů založených z reprodukčního materiálu vhodné a nevhodné provenience může být (a často bývá) víc než dvojnásobný!

Lesní reprodukční materiál

Reprodukční materiál lesních dřevin ("lesní reprodukční materiál") jsou semena, části rostlin, semenáčky a sazenice lesních dřevin, určené na umělou obnovu lesa, zalesňování a jiné lesnické účely. Účelem právní regulace v oblasti lesního reprodukčního materiálu je vytvořit podmínky pro to, aby lesní reprodukční materiál pocházel z kvalitních zdrojů a byla zaručena pravost jeho označení a původu. Věnuje se zaručení kvality zdrojů a pravosti lesního reprodukčního materiálu od momentu sběru semen resp. odběru částí rostlin vegetativní množení až po dodávku materiálu na zalesňování. Jak jsme ukázali v předcházejících podkapitolách, spolu s vhodným původem (proveniencí) reprodukčního materiálu významnou měrou předurčují produkční schopnost a stabilitu lesů. Důvody jsou:

- 1) Vysoká dedivost hospodářsky a ekologicky důležitých vlastností.
- 2) Rozdílná odezva reprodukčního materiálu na pěstování v podmínkách lišících se od podmínek v místě jeho původu.

V předchozích částech jsme se pokusili ukázat, že dodržováním zásad správné praxe v této oblasti můžeme hodně získat a jejich ignorováním mnohem více ztratit. Snaha o okamžitou úsporu nákladů při zakládání porostů pořízením levnějších sazenic z nekvalitního zdroje nebo nevhodného původu je zanedbatelná ve srovnání s budoucími komplikacemi, které jejich použití způsobuje. Důsledky použití reprodukčního materiálu pocházejícího z nevhodných zdrojů se v lesních porostech projevují celá desetiletí ztrátami na produkci a vitalitě, zvýšenými náklady na ochranu lesa nebo předčasnou obnovu.

Certifikace lesního reprodukčního materiálu na mezinárodní úrovni

Obchod s lesním reprodukčním materiálem je jednou z nemnoha součástí lesního hospodářství, jež je upravena na mezinárodní úrovni. Primárním cílem je pro lesní reprodukční materiál poskytnout co nelepší záruky:

- odpovídající kvality zdrojů reprodukčního materiálu a
- pravosti původu reprodukčního materiálu.

Mezinárodní předpisy pro obchod s lesním reprodukčním materiálem se vyvíjeli ve dvou

liniích, které se navzájem ovlivňovaly. První je Schéma pro lesní reprodukční materiál Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (OECD), druhou jsou právní předpisy Evropské unie.

Schéma OECD pro semena a sazenice lesních dřevin

Schéma (OECD Forest Seed and Plant Scheme, <http://www.oecd.org/tad/code/forestreproductivematerial.htm>) vzniklo v roce 1967 jako mezinárodní standard pro certifikaci lesního reprodukčního materiálu pohybujícího se v mezinárodním obchodě. Přílohou schématu jsou Usměrnění pro produkci lesního reprodukčního materiálu (OECD Guidelines on the Production of Forest Reproductive Material).

Schéma je otevřeno všem členským státům OECD, a také členům Světové obchodní organizace a OSN. V současnosti má 27 členských zemí z Evropy, Severní Ameriky a Afriky, které jeho pravidla implementovali do své legislativy. Mezičase se ovšem stalo základem předpisů pro lesní reprodukční materiál v řadě dalších zemí, mimo jiné v Číně, Brazílii, Austrálii... I když Česká republika do schématu zapojena není, je pro ni relevantní, nakolik dovoz lesního reprodukčního materiálu je do EU možný jenom z „ekvivalentních třetích států“, které schéma na svém území uplatňují.

Schéma je zaměřeno na poskytnutí záruk pravosti původu a informací o přírodních podmínkách v místě původu zdroje lesního reprodukčního materiálu v mezinárodním obchodě. Tvoří ho 7 pravidel (Rules and Regulations of the OECD Forest Seed and Plant Scheme), které se týkají:

- 1) Kategorii lesního reprodukčního materiálu: a) z identifikovaného zdroje, b) selektovaný, c) kvalifikovaný a d) testovaný,
- 2) Vymezení oblastí původu (regions of provenance),
- 3) Uznávání zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin,
- 4) Registrace uznaného zdrojového materiálu,
- 5) Produkce reprodukčního materiálu všech kategorií,
- 6) Kontroly, balení a označování reprodukčního materiálu,
- 7) Způsobu uplatnění schématu.

Každý členský stát musí určit oficiální úřední místo (Designated Authority), které odpovídá za plnění požadavků schématu: vymezení provenienčních oblastí, uznávání zdrojů jednotlivých kategorií reprodukčního materiálu, vedení národního rejstříku zdrojů a evidenci jeho producentů. Uznávání zdrojů reprodukčního materiálu poskytuje záruku dodržení požadavků na jejich kvalitu. Úřední místo prostřednictvím inspektorů pak pravidelně kontroluje všechny etapy produkce reprodukčního materiálu. Pro reprodukční materiál, který pochází ze zdrojů požadované kvality a byl vyprodukován v souladu s ustanoveními schématu je před jeho uvedením do oběhu vystaven „Certifikát pravosti“ (Certificate of Identity), obsahující sadu informací o původu, způsobu produkce s informací o místě původu reprodukčního materiálu a tamních ekologických podmínkách.

Systém pro lesní reprodukční materiál Evropské unie

Systém pro lesní reprodukční materiál ustanovuje Směrnice Rady Evropských společenství 1999/105/ES o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. Do svého právního systému ji musí převést každý členský stát. Obsahuje společné definice souvisejících pojmů pro celou EU, vymezuje působnost i dřeviny, na které se vztahuje, povinnosti členských států a Evropské komise. Obsahově je blízká avšak podrobnější než Schéma OECD. Stanovuje:

- Kategorie, v nichž se lesní reprodukční materiál může uvádět do oběhu.
- Minimální požadavky na kvalitu zdrojů reprodukčního materiálu jednotlivých kategorií.
- Oblasti původu lesního reprodukčního materiálu.

- Národní rejstřík a národní seznam zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin. Z rejstříků členských zemí Evropská komise sestavuje Společný seznam zdrojů EU (http://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/eu_marketing_requirements/forest_material_en.htm).
- Systém dohledu na zaručení pravosti a dosledovatelnosti původu reprodukčního materiálu od sklizně přes zpracování a pěstování po uvedení na trh.
- Oficiální orgán a povinnost spolupráce s oficiálními orgány ostatních členských států EU.
- Podmínky a povinnosti pro uvádění LRM do oběhu na společném trhu EU.

Reprodukční materiál, který vyhoví požadavkům směrnice, nesmí na společném trhu EU podléhat žádným dodatečným omezením. Směrnice ovšem dovoluje, aby členské státy na jejich vlastním území stanovily dodatečné nebo přísnější požadavky na uznání zdrojů pro specifické klimatické nebo stanovištní podmínky. Připouští se také dodatečné požadavky na vnější kvalitu reprodukčního materiálu. Geneticky modifikovaný reprodukční materiál lesních dřevin se, stejně jako v zemědělství, smí uvést do oběhu pouze po vyhodnocení rizika pro životní prostředí a dalších požadavků zvláštních předpisů EU.

Střešním orgánem EU v oblasti reprodukčního materiálu je Generální ředitelství zdraví a ochrana spotřebitele a jeho Stálý výbor pro zvířata, rostliny, potraviny a krmiva (http://ec.europa.eu/food/plant/standing_committees/index_en.htm).

Nakolik členské země musí předpisy EU začlenit do svých právních řádů a implementovat je tak, aby byly vzájemně kompatibilní, v další části se budeme zabývat systémem pro lesní reprodukční materiál ČR.

Právní předpisy České republiky

(pozn.: tato kapitola čerpá a i přímo přebírá texty platných legislativních předpisů ČR)

Právní předpisy pro lesní reprodukční materiál mají u nás ve srovnání s jinými zeměmi dlouhou historii, sahající do první třetiny 20. století. Dle přehledu prezentovaného v Národním programu ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin na období 2014-2020 (Ministerstvo zemědělství 2014), již v roce 1927 předložil G. VINCENT návrh Směrnic pro celostátní evidenci původu lesního osiva, který však nakonec nebyl realizován. Prvním právním předpisem v této oblasti bylo až vládní nařízení č. 350/1940 Sb., o uchování a vypěstění dědičně hodnotného dorostu stromového v lese. V roce 1950 byl vydán zákon č. 65/1950 Sb., o hospodaření lesními semeny a sazenicemi, na který navazovala prováděcí vyhláška č. 350/1951 Ú. I. a dále Směrnice pro uznávání lesních porostů, stromových skupin a stromů (1952) a Směrnice pro vyhledávání výběrových stromů (1959). V roce 1960 vešel v platnost zákon č. 166/1960 Sb., o lesích a lesním hospodářství (lesní zákon), jeho prováděcí vyhláška č. 17/1961 Sb. a v souvislosti s nimi vydané interní předpisy: Směrnice pro uznávání lesních porostů a výběrových stromů pro sběr osiva – MZLH č. j. 43920/3769/65 doplněné v roce 1973 Instrukcemi k uznávání lesních porostů a výběrových stromů pro sběr osiva – MLVH č. j. 30.524/ORLH/73 a Směrnice pro zakládání semenných porostů a semenných plantáží – MLVH č. j. 13728/ORLH/OLP/71. Od roku 1978 platil zákon ČNR č. 96/1977 Sb., o hospodaření v lesích a státní správě lesního hospodářství a jeho prováděcí předpisy, zejména Směrnice pro uznávání a zabezpečení zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin a pro jeho přenos – MLVH č. j. 972/OLH-Tv/88. Principy uvedených směrnic byly v roce 1995 zapracovány do ustanovení zákona č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesního zákona) a především jeho prováděcí vyhlášky č. 82/1996 Sb., o genetické klasifikaci, obnově lesa, zalesňování a o evidenci při nakládání se semeny a sazenicemi lesních dřevin.

Před vstupem do Evropské unie Česká republika do svého právního systému

implementovala směrnici 1999/105/ES. Podobně jako ve všech sousedních zemích byl přijat samostatný zákon - č. 149/2003 Sb. o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (dále jen „zákon“). Prováděcím předpisem zákona je vyhláška č. 29/2004 Sb. Vyhlášku č. 82/1996 Sb. nahradila vyhláška č. 139/2004 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o přenosu semen a sazenic lesních dřevin, o evidenci o původu reprodukčního materiálu a podrobnosti o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa. Zákon i související vyhlášky byly několikrát novelizovány. Zákonem č. 232/2013 Sb. byl doplněn o stanovení Národního programu ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin.

Směrnice EÚ podobně jako Schéma OECD ukládá každému členskému státu povinnost zřídit oficiální úřední subjekt (Official Body) odpovídající za její plnění. Pověřenou osobou resp. oficiálním orgánem ČR, odpovědným za uplatnění národní legislativy a pravidel EÚ, týkajících se lesního reprodukčního materiálu je Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem (dále jen „ÚHÚL“). Všechny důležité informace, týkající se právních předpisů pro lesní reprodukční materiál jsou zpřístupněny na <http://eagri.cz/public/web/uhul>.

Opatření k zabezpečení kvality zdroje lesního reprodukčního materiálu (dle zákona č. 149/2003 Sb. v platném znění a jeho prováděcí vyhlášky)

Kategorie reprodukčního materiálu jsou jednotné v celé Evropské unii:

Identifikovaný pochází ze zdroje známé provenience bez uplatnění selekce, nesmí ovšem být fenotypové kategorie D – geneticky nevhodný. V souladu s § 13 zákona není reprodukční materiál kategorie "identifikovaný" v ČR přípustný pro smrk ztepilý, borovice lesní, modřín opadavý a modřín eurojaponský.

Selektovaný pochází ze zdroje, který byl vybrán na základě fenotypových znaků na úrovni populace (hromadnou selekcí) a splňuje § 14 zákona a přílohy č. 22 vyhlášky 29/2004 v platném znění. Požaduje se minimální podíl nežádoucí fenotypové složky.

Kvalifikovaný pochází ze zdrojů, jež byly nebo jichž složky byly vyselektovány individuální selekcí na základě fenotypových znaků a splňují požadavky § 15 zákona 149/2004 v platném znění a příloh č. 26 vyhlášky č. 29/2004 v platném znění.

Testovaný pochází ze zdrojů, kterými jsou uznané porosty, semenné sady, rodiče rodin, ortety, klony nebo směsi klonů. Jejich kvalita musí být ověřena srovnávacím nebo genetickým testem složek testovaného zdroje. Materiál musí splňovat požadavky § 16 zákona 149/2004 a přílohy č. 28 vyhlášky 29/2004 v platném znění.

Reprodukční materiál smrku ztepilého, borovice lesní, modřínu opadavého a modřínu eurojaponského lze uvádět do oběhu pouze jako selektovaný, kvalifikovaný nebo testovaný.

Vymezení oblastí provenience a pravidla pro přenos lesního reprodukčního materiálu:

Oblastí provenience se rozumí oblast s podobnými stanovištními podmínkami, v níž se porosty dané dřeviny a zdroje jejího reprodukčního materiálu vyznačují podobnými fenotypovými a genetickými znaky. Může je ovlivnit nadmořská výška. V ČR je oblast provenience totožná s přírodní lesní oblastí (dále jenom PLO). V jejím rámci je výškové pásmo původu reprodukčního materiálu určeno lesním vegetačním stupněm. U zdroje reprodukčního materiálu rostoucího mimo lesní pozemek se výškové pásmo určuje podle nadmořské výšky.

V České republice pravidla a podmínky přenosu reprodukčního materiálu při obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa stanovuje vykonávací předpis k lesnímu zákonu – vyhláška č. 139/2004 Sb. Reprodukční materiál na obnovu lesa a zalesňování lze přenášet jen v rámci přírodních lesních oblastí (PLO). V nich lze mezi prvním až čtvrtým lesním vegetačním stupněm reprodukční materiál

přenášet bez omezení s výjimkou PLO 17 (Polabí), 34 (Hornomoravský úval) a 35 (Jihomoravské úvaly), kde nelze do prvního stupně přenášet reprodukční materiál z třetího a čtvrtého stupně. Od pátého stupně lze přenášet reprodukční materiál s vertikálním posunem o plus nebo minus jeden stupeň s tím, že lze přenášet reprodukční materiál ze čtvrtého do pátého stupně a naopak. Smrk a kleč nelze přenášet z nižších stupňů do osmého a devátého stupně, připouští se ovšem vzájemný přenos mezi osmým a devátým stupněm. Nelze-li krýt potřebu reprodukčního materiálu v rámci dané přírodní lesní oblasti, lze přenos uskutečnit podle pravidel pro jednotlivé dřeviny uvedených v přílohách 1 až 5 vyhlášky č. 139/2004 .

Fenotypová klasifikace, kategorizace a určení původu lesních porostů:

Fenotypová klasifikace je součástí venkovních prací při vyhotovování lesních hospodářských plánů resp. lesní hospodářské osnovy. V odůvodněných případech ji lze provést i v rámci uznání zdroje reprodukčního materiálu. Klasifikace spočívá v hodnocení objemové produkce (produkční schopnosti), morfologických znaků (tvárnosti), a zdravotního stavu a odolnostního potenciálu lesních porostů. Jejím výsledkem je fenotypová hodnota dřeviny, na základě které se porost zařazuje do jedné ze čtyř fenotypových kategorií:

A - hospodářsky vysoce hodnotný porost,

B - fenotypově nadprůměrný porost,

C - porost fenotypově průměrný,

D - porost geneticky a hospodářsky nevhodný (s ohledem na zdravotní stav a/nebo jeho fenotypovou kvalitu).

Pozn: Ve smíšeném porostu se do fenotypových tříd zařazují všechny zastoupené dřeviny.

Porosty fenotypové třídy A a B musí v objemové produkci (objemovém přírůstu dřevní hmoty) převyšovat střední hodnotu platnou pro srovnatelné ekologické a hospodářské podmínky. V morfologických znacích musí porost vykazovat přímou, plnodřevnost, kruhový průřez kmene, vhodný typ větvení a dobrou schopnost přirozeného čištění kmene. Podíl dvojáků a točitých kmenů má být minimální.

V ČR se fenotypově klasifikují porosty smrku, borovice, modřínu, jedle, dubu, buku, javorů, jasanů, jeřábu břeku starší 60 let, jilmu, ořešáku, douglasky tisolisté, jedle obrovské, borovice vejmutovky, třešně ptačí a kaštanovníku jedlého starší 40 let a olše, břízy, jeřábu, topolu, vrby, hrušně polničky a jabloně lesní starší 20 let.

Zdrojem lesního reprodukčního materiálu smrku ztepilého borovice lesní, modřínu opadavého mohou být jen porosty fenotypové kategorie A a B, u ostatních dřevin i fenotypové kategorie C. Porosty fenotypové třídy D nelze uznat jako zdroj reprodukčního materiálu.

Původ dřeviny ve zdroji reprodukčního materiálu může být autochtonní, indigenní, alochtonní se známým původem a neznámého původu. Autochtonní je porost, který pochází z nepřetržitého přirozené obnovy na stejném místě nebo je založen z reprodukčního materiálu generativního původu z téhož porostu nebo autochtonních porostů v jeho těsné blízkosti. Indigenní původ značí, že porost byl založen z reprodukčního materiálu pocházejícího z téže oblasti provenience, tj. přírodní lesní oblasti a lesního vegetačního stupně. U autochtonního porostu nebo zdroje semene je původem místo, na kterém se porost nebo zdroj semene nachází. U porostů nebo zdrojů semen jiného původu je to místo, odkud pochází semenný nebo sadební materiál, z něhož byl porost nebo zdroj semen založen. Původ porostu nebo zdroje semen může být i neznámý.

Porosty fenotypové třídy A by měly být autochtonní nebo alespoň pravděpodobně autochtonní. Jiné porosty do ní jsou zařazeny, vynikají-li produkcí, jakostí, odolností, případně jinými cennými vlastnostmi. Porosty fenotypové třídy B mohou být autochtonní i neautochtonní známého nebo neznámého původu.

Typy zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin:

- Pro kategorii "identifikovaný" je to porost nebo skupina stromů.
- Pro kategorii "selektovaný" porost (porost uznáný pro sběr semen).
- Pro kategorii "kvalifikovaný":
 - rodičovský - výběrový strom nebo ortet,
 - semenný sad,
 - klony nebo směsi klonů.
- Pro kategorii "testovaný" to mohou být všechny výše uvedené zdroje po ověření jejich genetických vlastností testy potomstev na alespoň dvou reprezentativních lokalitách v odlišných stanovištních podmínkách.

Zdroj semene je strom nebo skupina stromů rostoucí na pozemku určeném k plnění funkcí lesa, popřípadě i strom rostoucí mimo les, pro generativní způsob reprodukce,

Porost je ohraničená populace stromů má-li odpovídající stejnorodé složení, pro generativní i vegetativní způsob reprodukce,

Semenný sad je účelová výsadba selektovaných klonů nebo reprodukčního materiálu získaného z rodiče rodiny, který je izolován nebo obhospodařován tak, že sprášení pylem pocházejícím z rostlin nacházejících se mimo semenný sad je vyloučeno nebo omezeno, pro generativní způsob reprodukce,

Rodič rodiny je strom určený pro generativní způsob reprodukce k produkci potomstva kontrolovaným nebo volným opylováním určeného jednoho samičího rodiče pylem jednoho samčího rodiče nebo pylem více určených nebo neurčených samčích rodičů.

Ortet je strom určený k odběru částí rostlin pro vegetativní způsob reprodukce.

Klon je skupina vegetativních potomků (ramet) získaná z jediného výchozího jedince (ortet) vegetativním množením.

Směs klonů je směs určených klonů se stanovenými podíly jednotlivých klonů pro vegetativní způsob reprodukce. Zaužívaný název objektů s výsadbami směsí klonů sloužících na získávání částí rostlin (řízků nebo i oděnků) pro vegetativní množení je matečnice. Matečnice lze rozdělit na kmenové (primární) a provozní.

Obr. 48: a) Rodiče rodin dubu letního, b) semenný sad modřínu, c) matečnice (dle zák. č. 149 /2003 směs klonů) topolů, d) semenný sad břízy ve fóliovém krytu



Uznávání zdrojů reprodukčního materiálu:

Uznávání zdrojů všech kategorií reprodukčního materiálu provádí pověřená osoba, o uznání žádá vlastník. V případě uznávání porostů se vyžaduje doklad o fenotypové třídě, kterým může být i kopie příslušné části z plánu nebo osnovy. Zdroj navržený pro uznání musí splňovat požadavky na kvalitu uvedené pro jednotlivé kategorie reprodukčního materiálu v § 13-16 zákona a přílohách vyhlášky 29/2004. Splnění požadavků ověřuje pověřená osoba formou odborného posudku.

Zdroje identifikovaného a selektovaného reprodukčního materiálu lze uznávat pouze na základě údajů platného lesního hospodářského plánu nebo lesní hospodářské osnovy. Zdroje se uznávají na dobu určitou, stanovenou v dokladu nebo v rozhodnutí o uznání. Porost se uznává na dobu platnosti hospodářského plánu nebo osnovy. Pokud pověřená osoba zjistí, že uznaný zdroj nesplňuje stanovené podmínky, uznání zruší. Uznaný zdroj reprodukčního materiálu se zařazuje do uznané jednotky pouze na základě zjištění vlastností zdroje reprodukčního materiálu a jeho účelu a po provedení jeho kategorizace. Uznanou jednotku může tvořit i několik sousedních jednotek prostorového rozdělení lesa, pokud patří do téže semenářské oblasti, výškové zóny a fenotypové kategorie dané dřeviny. Takto uznané jednotce se přidělí jedno evidenční číslo.

Za uznaný porost lze uznat porosty fenotypové kategorie A a B, stejnorodého složení, s podílem biologicky zralých jedinců příslušné dřeviny alespoň 10 % s nejnižším počtem 40 jedinců. Jako zdroj může být jeden porost uznan i pro více dřevin. Pověřená osoba může v uznaném porostu vlastníku doporučit omezení rozsahu mýtní úmyslné těžby nebo navrhnout ochrannou lhůtu, po kterou v něm smí být prováděna mýtní úmyslná těžba pouze s jejím souhlasem za účelem sběru semenného materiálu, zkvalitnění porostu nebo pro podporu přirozené obnovy.

Zdroje kvalifikovaného reprodukčního materiálu: Rodiče rodin se uznávají pro záměrnou hybridizaci nebo sběr semen z volného sprášení. Klony a ortety se uznávají k odběru částí rostlin pro zakládání porostů, zakládání klonových semenných sadů, realizaci šlechtitelských programů a jiné účely. U klonů je uznání omezeno počtem let nebo maximálním počtem vegetativních potomků (ramet). Semenný sad a směs klonů se zakládá podle dokumentace registrované pověřenou osobou. Semenný sad lze uznat za zdroj teprve tehdy, když počet a skladba klonů s dobrým zdravotním stavem odpovídá dokumentaci a nastoupila plodnost, na které se podílí nadpoloviční většina zastoupených klonů. Směs klonů je možno uznat tehdy, když je schopna poskytovat reprodukční materiál v očekávané skladbě, množství a kvalitě, podle dokumentace pro založení uznaného zdroje registrované pověřenou osobou.

Podmínkou uznání za zdroj testovaného reprodukčního materiálu je ověření genetických vlastností zdroje testy potomstev na alespoň dvou reprezentativních lokalitách v odlišných stanovištních podmínkách.

Pozn: Legislativa ČR i většiny členských zemí EU nestanovuje minimální počet klonů nebo potomstev tvořících semenný sad. Zejména v potomstvech dobře izolovaných sadů tvořených nízkým počtem klonů se pak i přes splnění požadavku na plození poloviny klonů nelze vyhnout důsledkům genetického driftu. Projeví se změnami genetické struktury a ochuzením genetické rozrůzněnosti zakládaných lesních porostů.

Národní rejstřík a národní seznam zdrojů reprodukčního materiálu:

Národní rejstřík s podrobnými údaji a Národní seznam jako výtah národního rejstříku, poskytují přehled disponibilních zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin podle dřevin a semenářských oblastí, kategorií a typů zdrojů LRM v ČR i každém členském státě EU. Národní rejstřík je databáze s podrobným přehledem o geografických, fenotypových a biometrických charakteristikách jednotlivých uznaných zdrojů, jakož i jejich vlastnictví a

správě. Národní seznam zdrojů je výtahem z národního rejstříku. V členských státech EU mají národní seznamy jednotnou strukturu. Následně se z nich sestavuje Společný seznam zdrojů reprodukčního materiálu pro celou EU (Community List of Approved Basic Materials for the Production of Forest Reproductive Material, http://ec.europa.eu/food/plant/propagation/forestry/index_en.htm). Každá položka národního seznamu obsahuje tyto údaje:

- a) botanický název nebo zkratku dřeviny, pro kterou se zdroj uznal,
- b) kategorie reprodukčního materiálu, pro kterou je určen,
- c) účel využití zdroje,
- e) evidenční číslo zdroje,
- f) lokalita zdroje určena semenářských oblastí, nadmořskou výškou a případně i přesnou souřadnicí (zeměpisnou šířkou a délkou) nebo i názvem lokality,
- d) typ zdroje,
- g) rozloha nebo určení velikosti zdroje počtem klonů, plodu nebo zastoupených výběrových stromů (např. v semenných sadech)
- h) původ (autochtonní, alochtonní nebo neznámý),
- i) případné dodatečné informace

Opatření posilující záruky pravosti původu (identity) lesního reprodukčního materiálu
(dle zákona č. 149/2003 Sb. v platném znění a jeho prováděcí vyhlášky)

Osvědčení o odborné způsobilosti: Pro práci s lesním reprodukčním materiálem - jeho sběru, zpracování, skladování, pěstování a uvádění do oběhu se vyžaduje licence. S LRM tedy mohou nakládat pouze osoby, které jsou jejími držiteli anebo s reprodukčním materiálem pracují pod přímým dohledem držitelů licence. Odbornou podmínkou jejího udělení je střední vzdělání s maturitní zkouškou v oboru lesnictví, vyšší odborné vzdělání lesnického směru nebo vysokoškolského vzdělání v bakalářském studijním programu, studijní obor lesnictví a odborné praxe v oboru v trvání alespoň 5 let anebo vysokoškolské vzdělání v magisterském studijním programu, studijní obor lesní inženýrství a odborná praxe v oboru v trvání alespoň 3 roky. Právnická nebo fyzická osoba, která je podnikatelem, musí ustanovit odpovědného zástupce splňujícího podmínky pro udělení licence. Ten odpovídá za dodržování právních předpisů při uvádění reprodukčního materiálu do oběhu. Při uznávání způsobilosti a odborné kvalifikace získané fyzickou osobou v jiném členském státě EÚ se postupuje podle zákona o uznávání odborné kvalifikace a uznávacím orgánem je ministerstvo.

Získávání reprodukčního materiálu: Dodavatel je povinen oznámit pověřené osobě nejméně 15 dnů předem konání sběru semenného materiálu, odběru částí rostlin nebo vyzvedávání sadebního materiálu z přirozeného zmlazení a sloučení oddílů reprodukčního materiálu. Není-li vlastníkem zdroje sám dodavatel, musí být součástí oznámení písemný souhlas vlastníka zdroje.

Box XIX Určení minimálního počtu jedinců, ze kterých se sbírá semeno, jako opatření k zmírnění dopadů genetického driftu v umělé obnově lesa

Jde-li o identifikovaný reprodukční materiál buku lesního, dubu letního a dubu zimního, musí sběr probíhat minimálně z 10 stromů v rámci uznané jednotky. Jde-li o selektovaný reprodukční materiál smrku ztepilého, borovice lesní, modřínu opadavého, buku lesního, dubu zimního a dubu letního, musí sběr probíhat minimálně z 20 stromů v rámci uznané jednotky. Jde-li o semenné sady uznané na území ČR, lze sběr uskutečnit pouze v případě, kdy se na úrodě podílelo minimálně 50 % klonů v sadech borovice lesní, modřínu opadavého a smrku ztepilého a minimálně 30 % klonů v semenných sadech ostatních lesních dřevin.

Podmínky uvádění reprodukčního materiálu do oběhu a jeho evidence: Reprodukční materiál zůstává ve všech fázích produkce a uvádění do oběhu rozdělen do oddílů, přesně známé velikosti, sklizených ve stejném čase z téhož zdroje reprodukčního materiálu. Oddíl semen je zpracován, skladován, ošetřen společně, stejným způsobem. U sazenic má oddíl stejný způsob a stejnou dobu pěstování. Každý oddíl musí být počínaje sběrem v celém průběhu produkce opatřen průvodní dokumentací a označen tak, aby nemohlo dojít k záměně s jiným oddílem. Do oběhu lze reprodukční materiál uvádět pouze s připojeným průvodním listem, vystaveným dodavatelem, obsahujícím údaje podle § 5 odst. 2 a § 8 zákona.

Každý oddíl lesního reprodukčního materiálu v celé EU - od sklizně semene resp. odběru částí rostlin vegetativní množení až po jeho použití provází Potvrzení o původu ("Master Certificate") s evidenčním číslem zdroje a údaji o původu oddílu. Potvrzení o původu je základním dokladem ("rodným listem") každého oddílu reprodukčního materiálu. I když se vystavuje v národních jazycích má ve všech členských státech jednotný obsah a formu. V návaznosti na Potvrzení o původu je každý oddíl reprodukčního materiálu identifikován: a) kódem a číslem Potvrzení o původu; b) botanickým názvem; c) kategorií; d) účelem; e) typem zdroje; f) registračním označením nebo kódem oblasti provenience; g) oblastí provenience; h) určením původu materiálu; i) u semenného materiálu rokem zrání; j) stářím a druhem semenáčků nebo řízků použitých jako sadební materiál a údajem o tom, zda byly podřezány, školkovány nebo obaleny; k) zda jde o geneticky modifikovaný materiál. Evidenční číslo zdroje je klíčovou součástí Potvrzení o původu a slouží k identifikaci oddílů reprodukčního materiálu v rámci EÚ. Pověřená osoba po ukončení sběru semenného materiálu, odběru částí rostlin nebo vyzvednutí sadebního materiálu z přirozeného zmlazení dodavateli vystaví potvrzení o původu do 10 dnů ode dne doručení jeho žádosti, pokud byly splněny podmínky stanovené tímto zákonem a předpisy vydanými k jeho provedení.

Lesní reprodukční materiál může zpracovávat, uskladňovat a pěstovat jen v zařízeních registrovaných pověřenou osobou, tj. ÚHÚL.

Obr. 49: a) Evidenční číslo rodiče rodiny a b) řádně označení roubovanci rodičů rodin (klony) smrku pro založení klonového semenného sadu (Polsko)



Box XX Reprodukční materiál získaný vegetativním množením lze v ČR i EU uvést do oběhu pouze jako kvalifikovaný nebo testovaný. V kategorii selektovaný lze do oběhu uvést pouze materiál získaný hromadným množením ze semenného materiálu. Reprodukční materiál nepůvodních druhů topolů a jejich hybridů, vyprodukovaný na území ČR, lze uvést do oběhu pouze jako testovaný. Obdobný reprodukční materiál domácích topolů, s výjimkou osiky, lze uvést do oběhu pouze jako kvalifikovaný nebo testovaný. Seznam příslušných druhů, hybridů a klonů topolů zveřejňuje ve Věstníku Ministerstvo zemědělství.

Dozor a kontrola se z odborného hlediska zaměřují na:

- původ a pravost reprodukčního materiálu: jeho sběr nebo odběr, označování, způsob produkce, evidence, kvalita a uvádění do oběhu,
- kvalitu a obhospodařování zdrojů reprodukčního materiálu,
- použití stanovištně a geneticky vhodného reprodukčního materiálu na obnovu lesních porostů a zalesňování.

Orgány veřejné správy jsou: a) obecní úřady obcí s rozšířenou působností, ve vojenských lesích Vojenský lesní úřad, b) krajské úřady, c) Ministerstvo zemědělství ČR, d) Česká inspekce životního prostředí a e) celní úřad.

ÚHÚL jako ministerstvem pověřená osoba:

- Uznává zdroje reprodukčního materiálu, prodlužuje a zrušuje jejich uznání, slučuje uznané zdroje do jedné uznané jednotky, uznaným jednotkám přiděluje evidenční čísla.
- Přijímá oznámení dodavatelů o zamýšleném sběru lesního reprodukčního materiálu a je oprávněna dohlížet na sběr semenného materiálu, odběr částí rostlin nebo vyzvedávání sadebního materiálu z přirozeného zmlazení.
- Vystavuje potvrzení o původu reprodukčního materiálu získaného z uznaných zdrojů reprodukčního materiálu a nová potvrzení pro oddíly získané sloučením nebo následným vegetativním množením.
- Zabezpečuje odbornou komunikaci a pomoc úředním subjektům členských států EU,
- Vykonává dozor nad dodržováním ustanovení zákona 149/2003 Sb. a jeho prováděcích předpisů. Vykonává kontrolu a ukládá zvláštní opatření.

Sankce: Nedodržení ustanovení zákona se podle závažnosti posuzuje jako přešůpek nebo správní delikt právnických a podnikajících fyzických osob:

- s pokutou v závislosti od míry závažnosti přešůpku do 100 nebo do 500 tis. Kč.
- uložením zvláštního opatření spočívající v zákazu uvedení do oběhu anebo likvidaci reprodukčního materiálu.

Obdobný režim se uplatňuje i při realizaci Národního programu ochrany a reprodukce genofondu. Zvláštní opatření se ovšem uplatňují formou zabezpečení genetických zdrojů nebo jejich dokumentace před zničením, poškozením nebo zcizením a informování určené osoby o provedených opatřeních.

Box XXI Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem (ÚHÚL)

na svých webových stránkách <http://eagri.cz/public/web/uhul> a <http://eagri.cz/public/app/uhul/ERMA2/> poskytuje informace o:

- o legislativě týkající se lesního reprodukčního materiálu,
- národní seznam zdrojů (uznané jednotky) lesního reprodukčního materiálu,
- o vystavených potvrzeních o původu oddílů LRM,
- o licencích dodavatelů LRM,
- o Národním programu ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin: genových základnách, bankách osiva a explantátů, účastnících národního programu a všech praktických aspektech jeho realizace.

GENETICKÉ ZDROJE LESNÍCH DŘEVIN A JEJICH ZACHOVÁNÍ

Genetická rozrůzněnost je základem evoluce a pro jednotlivé druhy katalyzátorem jejich schopnosti přizpůsobit se změnám v životním prostředí. Genofond obsažený v populacích a genech tisíců druhů dřevin na celém světě je nejen jedinečný, ale i nenahraditelný. Kdyby náhlou nebo pozvolnou degradací lesních ekosystémů jednotlivé dřeviny ztratili svou genetickou rozrůzněnost, jejich další generace by nebyly schopny patřičně reagovat na nepříznivé podmínky, jako je znečištění ovzduší, změna klimatu, škůdci a nemoci. Lesní genetické zdroje jsou tak nepostradatelné z hlediska zachování produkce lesů, jimi poskytovaných služeb a užitků. Potenciál genetických zdrojů lesních dřevin není zdaleka probádán. I když lesnictví využívá velké množství dřevin, podrobněji bylo prostudováno a aktivně se využívá méně než 500 druhů (FAO 2014, <http://www.fao.org/forestry/fgr/en/>).

Lesní dřeviny jsou totiž ve srovnání s jinými druhy rostlin a živočichů extrémně dlouhověké a pro jejich populace (porosty) je genetická variabilita předpokladem toho, aby byly schopny vyrovnat se s účinky stresu vyvolávaného různými kombinacemi abiotických a biotických činitelů. Když se jejich genofond ochudí, zúží se základna pro přirozený výběr, zkrátí životnost a sníží produkční schopnosti. I proto se nejen v zemědělství ale i v lesnictví - ve Skandinávii, Německu, Kanadě, USA - genofond považuje za výrobní faktor významem srovnatelný s kvalitou půdy, podnebím, stavem technickou infrastruktury a odbornou úrovní pracovní síly.

V České republice mají genetické zdroje a obnova lesů reprodukčním materiálem vhodného původu a kvality o to větší význam, že umělá obnova lesa zde převládá nad obnovou přirozenou již druhou generací lesa. V důsledku nahrazení přirozených strukturálně a druhově rozmanitých lesů stejnověkými kulturami často jedné dřeviny, spolu s přehlížením významu provenienční a genetické hodnoty reprodukčního materiálu zákonitě přispělo k tomu, že většina zdejších lesních porostů má nejenom zcela změněnou dřevinou skladbu ale i genofond. Kvalita zdrojů reprodukčního materiálu, kontrola jeho identity a dodržování pravidel pro jeho přenos při obnově lesa mají v takovéto situaci zásadní vliv na budoucí výnos, adaptační schopnost a ekologickou stabilitu lesních porostů i celých lesních ekosystémů (Ministerstvo zemědělství 2014).

Biodiverzita jako proměnlivost všech forem života má obecně tři úrovně: rozmanitost ekosystémů, druhovou a genetickou diverzitu. Genetická diverzita obecně představuje souhrn genetické informace obsažené v genech jedinců všech organismů, které obývají Zemi. Pro jednotlivé biologické druhy je základem jejich přežití - odolávání účinkům nepříznivých podmínek prostředí, adaptace k novým podmínkám a další evoluci.

Genetickým zdrojem se rozumí jakýkoliv materiál současné nebo potenciální hodnoty obsahující funkční jednotky dědičnosti. Zákon 149/2003 o obchodu s lesním reprodukčním materiálem ve znění pozdějších předpisů (dále jenom zákon o lesním reprodukčním materiálu) uvádí jako genetické zdroje lesních dřevin:

1. reprodukční materiál,
2. zdroje reprodukčního materiálu,
3. genové základny.

Genofond je soubor všech genetických informací (genů a alel) zakódovaných v jedincích tvořících populace. Populace (viz část Genetika populací) jsou soubory jedinců stejného druhu, obývajících konkrétní biotop v konkrétním čase, kteří jsou schopni se vzájemně křížit. Jsou to celky, které se opakovaně reprodukuje. Trvale udržitelné využívání genetických zdrojů je jejich využívání takovým způsobem a v takové míře, které nevedou k dlouhodobému poklesu vnitrodruhové biologické rozmanitosti a druhy si udržují schopnost uspokojovat potřeby a nároky současných a budoucích generací.

Metody zachování genetických zdrojů lesních dřevin

Klasifikace genových zdrojů a opatření na jejich zachování

Primární zdroje jsou zachovány v původních nenarušených ekosystémech, jejichž druhová a genetická diversita je výsledkem evoluce. Vyznačují se nezměněnou genetickou strukturou a nejširší genetickou rozrůzněností. U lesních dřevin jde v podstatě o pralesy a přírodní lesy.

Sekundární zdroje představují populace s částečně narušenou resp. změněnou genetickou strukturou. Míra změny závisí od intenzity obhospodařování: jde o obhospodařovaná přirozeně obnovené lesy, porosty obnovené výstavky a výmladky i o porosty založené umělou obnovou.

Terciární genetické zdroje jsou syntetické populace, které nevznikly evolucí. Jejich genetická struktura je výsledkem činnosti člověka (semenné sady, matečnice, šlechtitelské populace).

Typy opatření k ochraně a reprodukci genofundu lesních dřevin:

1. Genová základna je soubor lesních porostů s významným podílem cenných regionálních populací lesních dřevin o rozloze, jež postačuje k udržení biologické různorodosti populace, která je při vhodném způsobu hospodaření schopna vlastní reprodukce. Zachování genofundu v genových základnách se uskutečňuje v měřítku, které přesahuje rámec běžných jednotek prostorového rozdělení lesa. Účelem je zachovat podmínky reprodukce blízké se panmiktické populaci a dle platné legislativy ČR je proto minimální velikost GZ 100 ha.

3. Záchovný semenný sad je semenný sad sloužící k vytvoření životaschopné populace cílové dřeviny pokud její přirozené výskyty v zájmové oblasti nejsou schopny reprodukovat genofond bez negativních dopadů genetického driftu a inbrídingu. Měl by pozůstat z alespoň 100 klonů nebo potomstev.

4. Semenný porost je výsadba směsi potomstev nebo přirozené zmlazení nejkvalitnějších lesních porostů fenotypové třídy A. Pokud se zakládá, obvykle z potomstev alespoň 50 mateřských stromů. Nemá oporu v současné legislativě. Desítky semenných porostů se ovšem od 70. let založili pro reprodukci genofundu ohrožených autochtonních populací všech hospodářsky významných dřevin.

5. Klonový archiv je výsadba vegetativních potomstev rodičovských stromů a ortetů, obvykle založena *ex situ*, sloužící k zachování genofundu mimořádně cenného nebo ohroženého v místě původu zánikem. Slouží k odběru sekundárních roubů na zakládání semenných sadů, řízků a explantátů pro vegetativní množení, případně na kontrolované křížení a šlechtitelský výzkum.

6. Genová banka: zařízení sloužící k dlouhodobému uchování genetické informace uložené v pylu, osivu nebo částech rostlin (bankách explantátů), případně v genových knihovnách.

a) Banka osiva slouží k dlouhodobému uchování osiva za optimálních podmínek. Z hlediska možností skladování semen se lesní dřeviny dělí na: ortodoxní (skladovatelné do 20-30 i více let), subortodoxní (buk, jedle, skladovatelnost 5-6 let), rekalcitrantní (žaludy, skladovatelnost 1-2 roky, nesnesou vysušení).

b) Banka explantátů slouží k uchování vegetativních částí rostlin (explantátů) sterilně pěstovaných *in vitro* na definovaných živných médiích s možností opětovné regenerace celých rostlin. Ke zpomalení růstu slouží modifikace kultivačního média, snížení teploty anebo jejich kombinace. Možná je i kryokonzervace při -196°C.

Opatření podle místa realizace:

- *in situ* - v místech přirozeného výskytu v přírodním prostředí, ve kterém se populace lesních dřevin přirozeně vyvinuly,
- *ex situ* – mimo míst přirozeného výskytu genových zdrojů.

Ochrana genetických zdrojů lesních dřevin *in situ* se zaměřuje na ochranu, udržování a obnovu životaschopných populací jednotlivých lesních dřevin v místě jejich původu, čili přirozeném prostředí:

- trvale v genových základnách lesních dřevin a
- dočasně v uznaných porostech pro sběr semen.

Patří sem i dočasné uchovávání genotypů ortetů klonů a rodičů rodin.

Box XXIII Genové základny lesních dřevin

Zákon 149/2004 o obchodu s lesním reprodukčním materiálem v platném znění:

Genová základna je soubor lesních porostů s významným podílem cenných regionálních populací lesních dřevin o rozloze, jež postačuje k udržení biologické různorodosti populace, která je při vhodném způsobu hospodaření schopna vlastní reprodukce.

Les na území genové základny lze zařadit do kategorie lesa zvláštního určení. Neplatí se z nich daně z pozemků, co vlastníkům / obhospodařovatelům kompenzuje zvýšené náklady péče o lesní porasty a jejich obnovu.

Genové základny se vyhláší na základě údajů platného lesního hospodářského plánu nebo platné lesní hospodářské osnovy v rámci jednotlivých oblastí provenience pro všechny lesnický významné druhy lesních dřevin, na dobu platnosti lesního hospodářského plánu nebo lesní hospodářské osnovy.

Genovou základnu vyhláší na žádost vlastníka lesa pověřená osoba (UHÚL Brandýs nad Labem) na základě jejího odborného posudku. Vede také seznam a evidenci genových základen.

Pravidla vyhlášení a způsob hospodaření (vyhláška č. 29/2004 Sb.):

Genové základny se vyhláší v rámci jednotlivých oblastí provenience pro všechny lesnický významné druhy lesních dřevin na dobu platnosti plánu nebo osnovy. Genovou základnu je možno vyhlásit pro jednu nebo pro více dřevin. Genová základna se vyhláší na dobu 10 let.

Minimální výměra jedné genové základny je 100 ha. Měla by být kompaktní, no může jí tvořit i více samostatných částí.

Doklad o vyhlášení genové základny pověřenou osobou obsahuje:

- název a kód genové základny
- období platnosti a identifikaci platného hospodářského plánu nebo osnovy,
- seznam jednotek prostorového rozdělení lesa,
- způsobu hospodaření v lesích na území genové základny.

Priority obhospodřování: U dřeviny, pro kterou je genová základna vyhlášena, se využívá přednostně přirozená obnova. Je-li nutná umělá obnova, používá se u této dřeviny výlučně reprodukční materiál pocházející z těžby genové základny.

Opatření *ex situ* se zaměřují na vzorky populací a částkových populací, ale i genotypy klonů a potomstva rodičů rodin. Realizují se v zájmu zachování genetických zdrojů vysoké biologické, ekonomické a kulturní hodnoty, nebo genetických zdrojů ohrožených v místě původního výskytu nenávratnou ztrátou:

- podmínky lokality nezaručují zachování životaschopné populace,
- populace již je příliš malá (vzácné druhy),
- jsou ohroženy jednotlivé cenné stromy (genotypy),
- selekční faktory působí abnormální intenzitou nebo směrem.

V takovýchto situaci dochází k degradaci genofondu genetickým driftem a nežádoucí selekcí. Opatření k zachování a využití genofondu lesních dřevin *ex situ* se realizují formou:

- klonové archivy,
- semenné porosty, testy potomstev a provenienční porovnávací plochy,
- genové banky, jež jsou v ČR zastoupeny národní bankou osiva a explantátů lesních dřevin,
- záchovní klonové a generativní semenné sady.

Box XXII Banka osiva lesních dřevin ČR

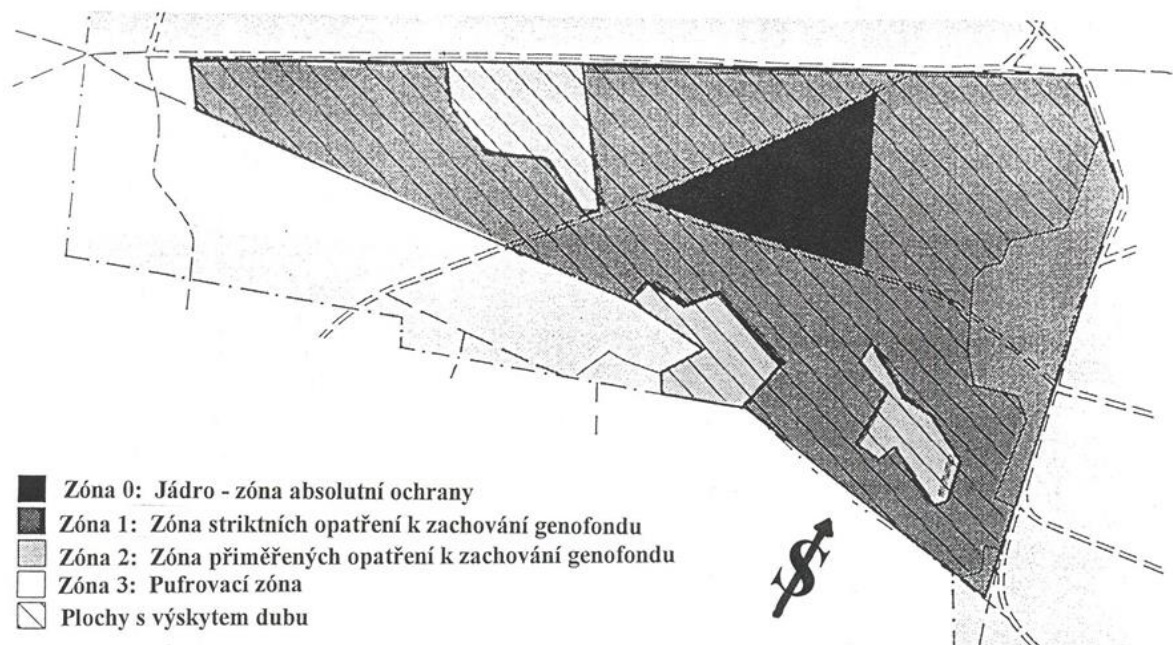
Banka je umístěná v Semenářském závodě LČR Týniště nad Orlicí. Uchovává se v ní osivo ohrožených regionálních populací z uznaných porostů třídy A, B, případně i C z extrémních stanovišť. Banku explantátů provozuje Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti VÚLHM v.v.i. Jíloviště–Strnady, její kapacita je 10 000 klonů. Jsou v ní uloženy explantáty stromů z populací ohrožených zánikem nebo explantáty z kulturně či biologicky cenných jedinců.

Sběry semen do banky semen lesních dřevin by se měli uskutečňovat jen v letech s bohatou nebo střední úrodou semen. Aby byl oddíl semen reprezentativní vzorkou populace, semena se sbírají nejméně z 50 mateřských stromů v dostatečných vzájemných rozestupech tak, aby se nesbírala s příbuzných jedinců. Pokud se šišky nebo semena jednotlivých stromů míchají, důležité je, aby v oddílech uložených v bance měli semena jednotlivých stromů stejné podíly.

Dynamická ochrana genetické diverzity zdůrazňuje roli působení evolučních procesů v zájmu plynulosti adaptace populací lesních dřevin k měnícím se podmínkám prostředí. Může se realizovat *in situ* nebo i v nových populacích vytvářených na jiných místech *ex situ*. V kontextu klimatické změny nabývá tento přístup na významu s ohledem na možnost udržení dlouhodobé stability lesů i lesního hospodářství. V souvislosti s klimatickou změnou je jako nezbytnost zmiňována Asistovaná migrace lesních dřevin jako způsob dynamické ochrany a využití genetických zdrojů lesních dřevin mimo místa jejich původu. Počítá s přenosem potomstva ohrožených populací z exponovaných stanovišť na klimaticky vhodnější, udržitelná stanoviště.

Dynamická ochrana je propojena s aktivními pěstebními zásahy a využitím genofondu k obnově lesa a šlechtění. Přístup počítá s působením evolučních faktorů na cílovou populaci, jejíž genetická struktura se může pozvolna měnit např. v odezvě na tlak selekčních faktorů. V provozních podmínkách se realizuje především:

- v genových základnách se v porostech uskutečňují obnovné a pěstební zásahy. Zřizují se v nich uznané porosty ke sběru semen pro umělou obnovu lesa,
- v semenných porostech sloužících k reprodukci genofondu nejvzácnějších uznaných porostů, semenných sadů a rodičů rodin. Zakládají a obhospodařují tak, aby v budoucnu sloužili jako uznané porosty pro sběr semen.



Obr. 50: Příklad genové základny dubu zimního s vymezenou jádrovou zónou a třemi zónami s odlišnou mírou zásahů, Galm, Švýcarsko.

Opatření statická, sloužící k dlouhodobějšímu uchování cenného a/nebo ohroženého genofondu v nezměněné podobě. U lesních dřevin to jsou:

- Klonové archivy sloužící na uchování genofondu ortetů a rodičů rodin,
- Národní banka osiva a explantátů lesních dřevin,
- Testy klonů, potomstev a proveniencí sloužící k uchování genofondu, šlechtění, výzkumu a odvození pravidel pro přenos a používání lesního reprodukčního materiálu.
- Záchovné semenné sady jako opatření k zachování genofondu jsou v uvedeném dělení spíše statickým opatřením: probíhá v nich generativní reprodukce. Jedinci tvořící sad jsou ovšem výsledkem jednorázové individuální selekce. Přirozený výběr v sadech v nich může působit pouze nepřímo a v omezené míře - přes reprodukční fitness.

Rozdíly mezi opatřeními na zachování genofondu lesních dřevin v genových základnách in situ a ochranou přírody v maloplošných chráněných územích (kategorie IUCN I a II):

- Maloplošná CHÚ jsou často příliš malá na udržení životaschopné populace. Někdy cílový druh dřeviny (a na ní vázané druhy živočichů a rostlin) v sukcesním stádiu zcela chybí.
- Kvůli přísnému režimu ochrany přírody je v nich možná jen statická ochrana genofondu. Zmírnění důsledků genetického driftu a rizika inbreedingu obnovou životaschopné velikosti populací podsíjením nebo dosazováním jedinců z jiných populací je právně i administrativně obtížné, ne-li neukutečnitelné. Důsledkem přísné ochrany je v mnoha případech zánik životaschopných populací cílových druhů (předmětu ochrany) nejenom kvůli změně původně antropicky ovlivněných biotopů, ale i snížení fitness chráněné populace vlivem genetického driftu a příbuzenského křížení.



Obr. 51: Realizace opatření k zachování genových zdrojů lesních dřevin *ex situ*: a) klonový archiv topolů (Španělsko), b) test a současně i archiv výběrových stromů třešně ptačí (Francie) d) archiv klonů trnovníku akátu (Srbsko), e) banka explantátů (Česká republika) f) klonový archiv „Istebnianskeho“ smrku ztepilého v Beskydech (Polsko)

Přednosti a slabé stránky jednotlivých opatření k zachování genových zdrojů:

Uznané porosty mají omezenou velikost a u větrosnubných i hmyzosnubných dřevin v nich zákonitě dochází ke kontaminaci pylem z okolních porostů. Ochranná lhůta uznaných porostů je dobrovolná a dočasná (i pokud ji lze prodloužit na dobu platnosti dalšího hospodářského plánu nebo osnovy). Přirozená obnova nebo použití reprodukční materiál ze stejného porostu se v uznaných porostech nevyžaduje. Pokud se použije reprodukční materiál z jiných uznaných porostů, nereprodukuje se jenom genofond místní, ale směsi populací.

Semenné porosty slouží k reprodukci genofondu nejkvalitnějších uznaných porostů resp. dílčích populací. Pro reprodukci genofondu v plně šíři jsou zpravidla příliš malé, vyskytuje se v nich jenom jedno ontogenetické stádium lesa a způsob jejich obhospodařování se značně liší od přirozených procesů.

Záchovné semenné sady s vysokým počtem genotypů jsou jedinou možností, jak obnovit životaschopnou, dostatečně velkou populaci dřeviny, která přežívá v izolovaných skupinách, v nichž se nelze vyhnout genetickému driftu a příbuzenskému křížení. Z lesních dřevin jsou to např. izolované zbytkové výskyty tisu, jeřábu břeku nebo i jedle bělokoré. (v obdobné situaci je ovšem řada druhů rostlin i živočichů v izolovaných rezervacích). V záchovném sadu se ovšem reprodukuje genofond jen jedné generace dřeviny. Způsobem založení a obhospodařováním se sad zásadně liší od přirozených porostů i minimálním prostorem pro působení přirozeného výběru.

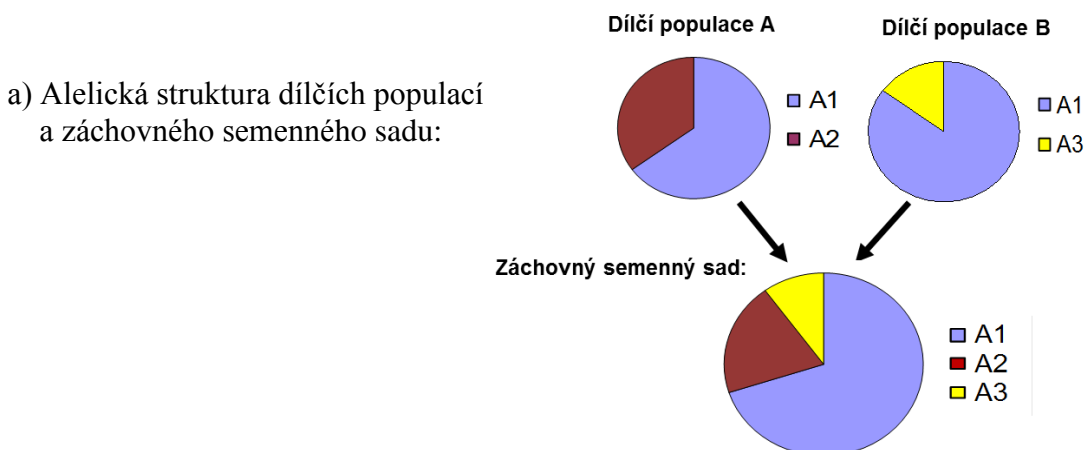
Rodičovské stromy a ortety klonů tvoří populace a ochranná lhůta je jenom dočasné opatření.

V klonových archivech lze uchovat genofond výběrového vzorku populace nebo populací i delší dobu, nelze ho ovšem reprodukovat generativním způsobem.

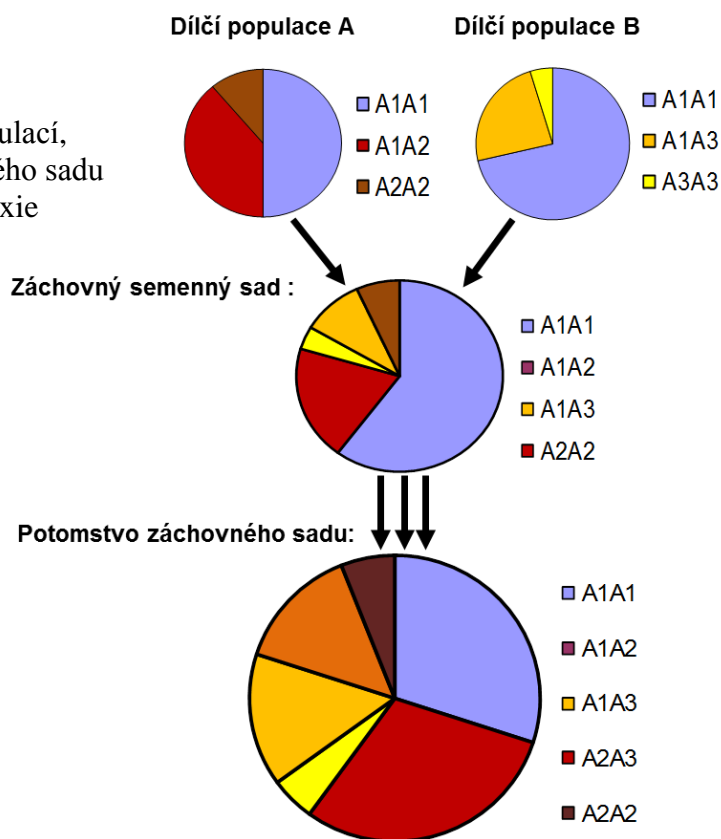
V bance semen lze dlouhodobě skladovat semena, představující reprezentativní vzorky genofondu ohrožených populací. Problémem je ovšem omezený časový rámec a nežádoucí selekce na základě životnosti semen v průběhu jejich dlouhodobého skladování.

V bance explantátů lze uchovávat omezený počet genotypů. Banka explantátů České republiky na Výzkumném ústavu lesního hospodářství a myslivosti VÚLHM v.v.i. Jíloviště - Strnady, má kapacitu 10 000 klonů. Rizikem u tohoto typu opatření je ovšem závislost na lidských vstupech kvůli nutnosti periodického pasážování uchovávaných explantátů na čerstvé substráty. Dalším rizikem je poměrně vysoká náročnost provozu technických zařízení banky explantátů.

Obr. 52: Přínos záchovného semenného sadu vytvořeného z jedinců z reprodukčně izolovaných skupin stromů (dílčích populací) k zamezení projevů genetického driftu a příbuzenského křížení (ilustrace na hypotetickém genovém lokusu):



b) Genotypová struktura dílčích populací, vytvořeného záchovného semenného sadu a jeho potomstva v případě panmixie



Volba priorit ochrany genofondu s ohledem na druhy dřevin a stav jejich populací

Lesní dřeviny jsou většinou extrémně dlouhověké organismy, u kterých je genetická variabilita předpokladem zachování adaptability k měnícím se přírodním podmínkám. Faktory ohrožující lesní genetické zdroje lze rozdělit do několika skupin, které se ovšem prolínají a kombinují:

- odlesňování a fragmentace lesů,
- nevhodné způsoby obhospodařování lesa, zejména vícegenerační umělá obnova lesa nepůvodním reprodukčním materiálem resp. materiálem se zúženou genetickou variabilitou,
- imise, klimatické faktory, tlak nových škůdců a chorob.

Ochrana lesních genetických zdrojů se v tomto kontextu zaměřuje:

- lesní dřeviny, které jsou zřídka přirozeně nebo se zřídka staly v důsledku lidské činnosti,
- na zůstávající původní populace ekonomicky hospodářsky intenzivně využívaných dřevin.

Pokud se opatření *in situ* zaměří na typické rep. geneticky reprezentativní populace, očekává se od nich uchování většiny genetické variability cílové dřeviny nebo dřevin. Na druhé straně v okrajových populacích na extrémních stanovištích a izolovaných populacích lze očekávat adaptaci ke specifickým podmínkám, cenné kombinace znaků a vlastností.

Opatření zaměřená na ochranu původních (autochtonních) populací lesních dřevin se realizují z několika důvodů:

- jsou resp. by měly být adaptovány na místní podmínky prostředí,
- ve srovnání s nepůvodními populacemi vytvořenými umělou obnovou se vyznačují širší genetickou variabilitou,

- lze v nich proto očekávat i kombinace znaků a vlastností umožňujících adaptaci k novým podmínkám prostředí,
- původnost dřevin do velké míry garantuje kontinuitu lesa na dané lokalitě, který je habitatem pro nespočet organismů vázaných na tamní lesní ekosystém,

Cíl resp. účel ochrany genofondu lesních dřevin může být definován různě:

- Prakticky zaměřené programy kladou důraz na adaptivní, produkční a kvalitativní znaky a vlastnosti dřevin. Tento přístup je jistou formou udržovacího šlechtění. Příkladem je Vícep populační systém šlechtění (*Multiple-population Breeding System*), který se zaměřuje na zdrojové populace v různých přírodních podmínkách, nebo na populace v podobných podmínkách, které jsou obhospodařovány použitím různých selekčních kritérií (ERICSSON *et al.* 2013)
- Pokud je prioritou zachování genetické variability jako základní složky biodiverzity, genofond cílové dřeviny se snažíme uchovat v co největší šířce.
- Cílem dynamické ochrany genetických zdrojů *in situ* je podpora adaptační schopnosti cílové dřeviny /dřevin bez ohledu na dnešní hospodářské a politické priority.

Národní zprávy, které vypracovalo 85 zemí pro Celosvětové hodnocení stavu lesních genetických zdrojů (FAO 2015b, s. 147), uvádí následující motivy realizace ochrany genofondu lesních dřevin *in situ* a jejich četnosti:

- specificky zachování genofondu 10%,
- zachování vzácných a ohrožených dřevin 16%,
- všeobecná ochrana lesních společenství 24%,
- produkce semen (zdroje reprodukčního materiálu) 34%,
- ekonomické důvody 14 %.

Klíčovými vstupy do rozhodování o podobě programu ochrany genetických zdrojů lesních dřevin jsou poznatky o reprodukční biologii, areál a heterogenita podmínek, ve kterých se cílová dřevina nebo dřeviny vyskytují, poznatky o vnitrodruhové variabilitě, nejdůležitější ohrožení a rizika.

Tab. 20: Ohrožené druhy a ekotypy lesních dřevin v České republice. O - kritické ohrožení, torza původních populací, N - nedostatečný výskyt v současných porostech (SVOBODA a kol. 2010)

smrk ztepilý z horských poloh	1 Krušné hory, lvs 7-8	O
	21a Jizerské hory, lvs 7-8	O
	25 Orlické hory, lvs 7-8	O
	27 Hrubý Jeseník, lvs 8	O
	40 Beskydy, lvs 7-8	O
smrk ztepilý chlumní	10 Středočeská pahorkatina, lvs 3-4	O
	30 Dražanská vrchovina, lvs 3-4	O
jedle bělokorá	všechny přírodní lesní oblasti	N, 6-7 lvs
borovice lesní náhorní	1 Krušné hory, lvs 5-7	O
	3 Karlovarská vrchovina, lvs 5-7	O
	10 Český les, lvs 5-6	O

borovice lesní náhorní	13 Šumava, lvs 6-7	O
	16 Českomorská vrchovina, lvs 5-6	O
borovice lesní pahorkatin	29 N. Jeseník, slezská BO, lvs 3-4	N
	15 Jihočeské pánve, lvs 3-4	N
modřín opadavý	jesenický ekotyp	N
jilm horský, vaz, polní	původní lokality	N
tis	původní lokality výskytu	O
jasan ztepilý	horské ekotypy (sutě)	N
třešň ptačí	původní lokality	N
hrušeň planá	původní lokality	N
jabloň lesní	původní lokality	N
jeřáb břek	původní lokality	N

Mezinárodní politický a programový rámec ochrany lesních genetických zdrojů

Ministerské konference o ochraně lesů v Evropě (Forest Europe):

Ochrana a reprodukce genofondu lesních dřevin, přírodě bližší druhová skladba a udržování a zvyšování biologické rozmanitosti lesů jsou významnými prioritami trvale udržitelného lesního hospodářství. Politický rámec a cíle trvale udržitelného lesního hospodářství související s genetickými zdroji lesních dřevin jsou zformulovány v následujících rezolucích podepsaných příslušnými ministry signatářských zemí:

- S2 (Štrasburk 1990) Zachování lesních genetických zdrojů,
- H1 (Helsinky 1993) Obecné zásady trvale udržitelného hospodaření v lesích Evropy a H2 Obecné zásady ochrany a trvale udržitelného zachování biodiverzity evropských lesů,
- L2 (Lisabon 1998) Celoevropská kritéria a ukazatele na provozní úrovni pro trvale udržitelné hospodaření v lesích, v rámci kterých se genetických zdrojů týká ukazatel H 4.6,
- V4 (Víděň 2003) Zachování a posílení biologické diverzity lesů v Evropě.

Platnost těchto rezolucí potvrdila i deklarace z ministerské konference ve Varšavě (2007) a zatím poslední konference v Oslo v r. 2011.

Úmluva o biologické rozmanitosti: kromě obecně známých závazků přijatých v rámci úmluvy v r. 1994, Konference smluvních stran úmluvy COP-10 v r. 2010 přijala strategický plán pro biologickou rozmanitost, obsahující cíle na období 2011–2020. Strategický cíl "zlepšit stav biologické rozmanitosti do ochrany ekosystémů, druhů a genetické rozmanitosti" požaduje od signatářských zemí, aby do r. 2020 vypracovali a realizovali národní strategie pro ochranu pěstovaných rostlin a domácích zvířat, jejich plané příbuzné a socio-ekonomicky a kulturně cenné druhy dřevin.

Globální akční plán pro lesní genetické zdroje FAO:

Organizace OSN pro výživu a zemědělství FAO zastřešuje problematiku lesních genetických zdrojů v rámci Výboru pro lesnictví. Za účelem mezinárodní koordinace Rada FAO v roce 2010 zřídila Mezivládní technickou pracovní skupinu pro lesní genetické zdroje (ITWG-FGR, <http://www.fao.org/forestry/fgr>). S cílem shromáždit a zpracovat informace o aktuální situaci ji pověřila uskutečněním první Celosvětové hodnocení stavu genetických zdrojů lesů (<http://www.fao.org/nr/cgrfa/cgrfa-meetings/cgrfa-fogr/en/>), díky kterému byly získány informace o stavu problematiky a realizovaných opatřeních k jejich zachování ve většině

zemí světa. Na základě národních zpráv se vypracovali syntézy pro jednotlivé regiony světa. V r. 2014 FAO zveřejnilo globální zprávu o Stavu lesních genetických zdrojů světa - State of the World's Forest Genetic Resources (<http://www.fao.org/forestry/fgr/64582/en/>).

Globální akční plán pro zachování, udržitelné využívání a rozvoj lesních genetických zdrojů (GPA-FGR) přijala ministerská konference FAO v r. 2013. Jeho účelem je podpora realizace mezinárodních závazků a úmluv prostřednictvím plnění následujících dílčích cílů:

- 1) prohloubení poznatků o lesních genetických zdrojích,
- 2) podpora udržitelného využívání lesních genetických zdrojů,
- 3) rozvíjení a posilování programů zachování genetických zdrojů,
- 4) podpora přístupu a sdílení informací o významu genetické diverzity lesních dřevin.

Program rozvoje venkova Evropské unie je společným programovým dokumentem s pravidly využití finančních zdrojů z Evropského zemědělského fondu pro rozvoj venkova (EAFRD). Na programové období EU 2014-2020 jsou podpořitelná opatření a pravidla poskytování podpory stanovena nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1310/2013 o podpoře pro rozvoj venkova z Evropského zemědělského fondu pro rozvoj venkova. Článek 34 Leso-environmentální a klimatické služby a zachování lesa v § 4 uvádí jako podpořitelná i opatření na podporu ochrany, zachování a využívání lesních genetických zdrojů uskutečněná nad rámec běžného hospodaření subjekty v soukromém i veřejném vlastnictví.

Česká republika v programovacím období 2014-2020 využívá možnosti podpory ochrany a využívání genetických zdrojů ze strany EÚ pro financování opatření realizovaných vlastníky a správci lesů v uznaných porostech, semenných sadech, klonových archivech, včetně sběrů semen a odběrů reprodukčního materiálu. Opatření realizovaná v genových základnách ovšem můžou být podpořeny jen z dotací poskytovaných Ministerstvem zemědělství. Způsob realizace a financování jednotlivých opatření upravuje Národní program ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin na období 2015-2018, vyhlášený Ministerstvem zemědělství České republiky.

Program EU pro genetické zdroje v zemědělství AgriGenRes se realizuje na základě nařízení Rady EÚ 870/2004 o ochraně, charakterizaci, shromažďování a využití genetických zdrojů v zemědělství. Jeho účelem je podpora zachování genetické rozmanitosti, výměna informací a těsná koordinace mezi členskými státy a Evropskou komisí. Pro EU slouží jako platforma plnění mezinárodních závazků z Úmluvy OSN o biologické rozmanitosti, Mezinárodní dohody o ochraně rostlinných genetických zdrojů pro výživu a zemědělství a Globálního akčního plánu FAO-OSN pro ochranu a udržitelné využívání genetických zdrojů rostlin. Díky podpoře z programu AgriGenRes vznikl Evropský informační systém pro lesní genetické zdroje (více níže).

Evropský program pro lesní genetické zdroje EUFORGEN

Účelem programu je mezinárodní koordinace ochrany a udržitelného využívání genetických zdrojů lesů a plnění závazků ministerských konferencí o ochraně lesů v Evropě a Úmluvy o biologické rozmanitosti. Hlavním cílem programu je podporovat zachování a přiměřené využití genetických zdrojů lesů jako nedílné součásti setrvalého hospodaření v lesích. Vznikl v r. 1994 za účelem zabezpečení mezinárodní koordinace i přímého plnění závazků vyplývajících z ministerských konferencí o ochraně lesů a Úmluvy o biologické rozmanitosti.

Program vznikl na základě rezoluce S2 1. ministerské konference o ochraně lesů v Evropě. Do programu je zapojena většina zemí EU, Norsko, Švýcarsko, Turecko a Srbsko. Koordinátorem je mezivládní organizace Bioversity International. Realizován je specialisty nominovanými ministerstvem zemědělství každé členské země.

Prioritami programu jsou:

- 1) Využití genofondu v opatřeních na přizpůsobení lesnictví změně klimatu,
- 2) Strategie a metodické postupy managementu objektů sloužících k ochraně genofondu,
- 3) Shromáždění co nejspolehlivějších informací o stavu a opatřeních k zachování lesních genetických zdrojů v Evropě (viz níže).

Program se realizuje prostřednictvím činnosti pracovních skupin zaměřených na:

1. Strategie ochrany lesních genetických zdrojů v rámci národních lesnických programů a programů adaptace ke klimatickým změnám.
2. Monitoring stavu genofondu lesních dřevin pomocí genetických markerů anebo nepřímo sledováním počtu reprodukcí se jedinců, zastoupení věkových tříd a bohatosti přirozené obnovy v genových základnách.
3. Lesní reprodukční materiál - význam genetické kvality semen a sazenic z hlediska produkce, stability a adaptační schopnosti lesních dřevin ke změně klimatu.
4. Začlenění ochrany genetických zdrojů do národních a mezinárodních programů.
5. Adaptační opatření ke klimatické změně se zaměřením na zachování lesních genetických zdrojů *in situ* a možnosti jejich řízeného přenosu („asistované migrace“) z klimaticky exponovaných stanovišť (jižní Evropy, nižších nadmořských výšek) na klimaticky vhodnější stanoviště.

V rámci Ministerských konferencí o ochraně lesů (Forest Europe) je program gestorem informací o stavu ochrany genofondu lesních dřevin. Slouží i jako platforma pro projekty spolufinancované Evropskou unií. Jeho nejdůležitější výstupy:

EUFGIS - Evropský informační systém o lesních genetických s informacemi o 3 165 objektech zřízených k dlouhodobé dynamické ochraně lesních genetických zdrojů 100 různých druhů dřevin ve 34 zemích Evropy a v Turecku (portal.eufgis.eu)

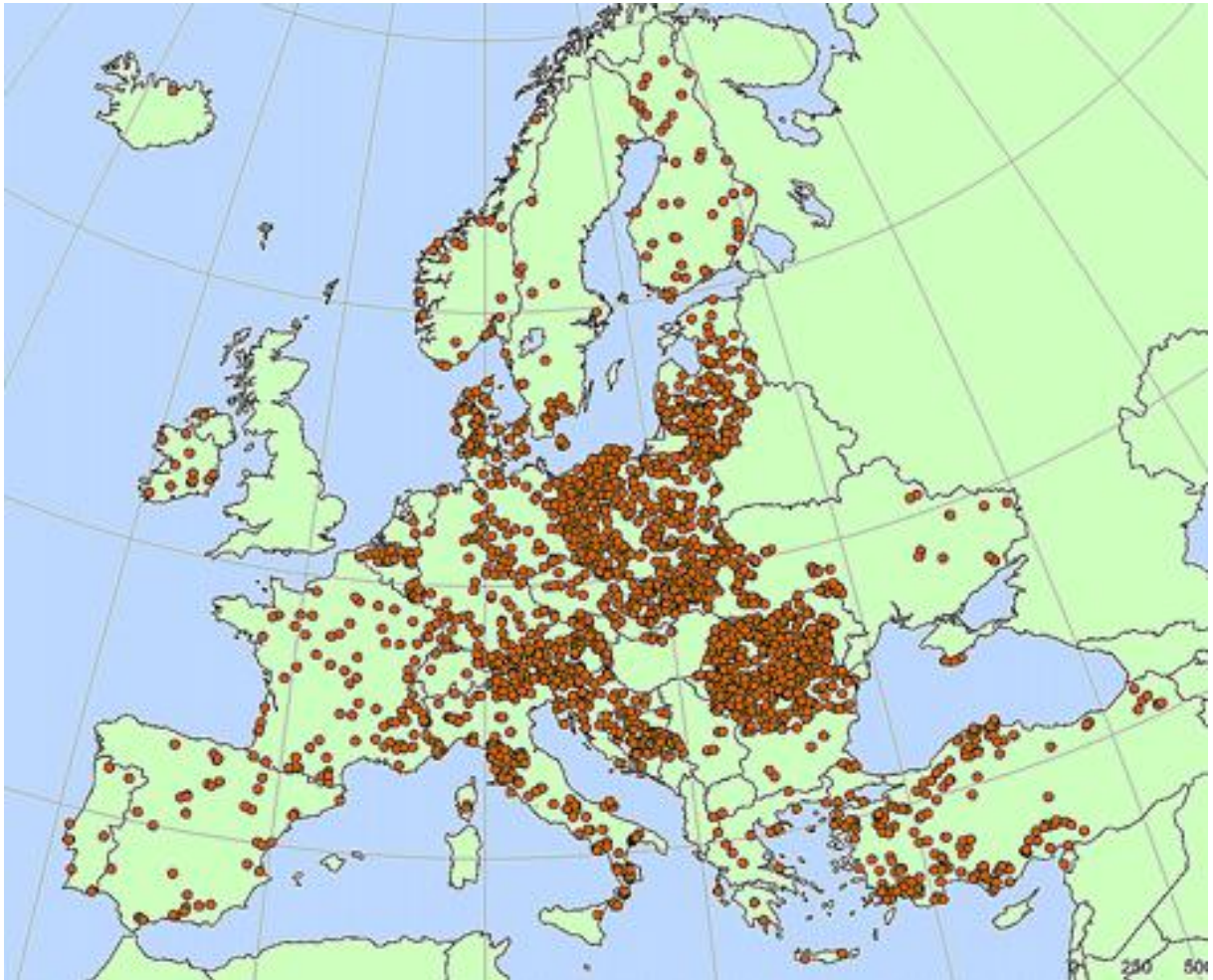
Identifikace klíčových objektů sloužících k dlouhodobému dynamickému uchování genofondu jednotlivých lesních dřevin *in situ*.

Technické instrukce pro ochranu genetických zdrojů 31 druhů lesních dřevin (<http://www.euforgen.org/publications/technical-guidelines/>).

Strategie dlouhodobé ochrany genofondu skupin a rodů lesních dřevin (porostotvorní listnáče, jehličnany, středomořské duby, topoly, cenné listnáče - jilmy, jasany, plané ovocné dřeviny (<http://www.euforgen.org/publications/proceedings/>).

Evropský informační systém pro lesní genetické zdroje EUFGIS

Informační systém EUFGIS (<http://www.eufgis.org>) je strukturovaná databáze s údaji o objektech sloužících na ochranu genofondu lesů v Evropě, které jsou ekvivalentem našich genových základů. Prostřednictvím národních kontaktních bodů jsou v systému EUFGIS shromážděny informace o 4 tisících objektech se 105 druhy dřevin v 31 evropských státech a v Turecku (obr. 53). Každý objekt je v informačním systému popsán 44 identifikátory – od údajů o poloze, rozloze, cílové dřevině a velikosti její populace až po převládající způsob ohospodařování a obnovy cílové dřeviny. Údaje i mapové informace jsou zpřístupněny na internetovém portálu eufgis.org. Vytvoření informačního systému v období 2007-2011 předcházelo vypracování jednotných Minimálních požadavků na objekty pro dynamické zachování genofondu lesních dřevin a závazných datových standardů (formátu dat) pro objekty sloužící v Evropských zemích k uvedenému účelu. Příspěvkem ČR do systému EUFGIS jsou informace o genových základnách, ke zřízení kterých se u nás přikročilo již v roce 1990.



Obr. 53: Evropská síť objektů sloužících k zachování genofondu lesných dřevin, které splňují Minimální požadavky na objekty dynamické ochrany genetických zdrojů lesních dřevin v Evropě. Stav k 31. 12. 2014 (<http://portal.eufgis.eu>)

Minimální požadavky na objekty zřízené k dynamické ochraně genetických zdrojů lesních dřevin v Evropě (<http://www.eufgis.org/outputs>)

A. Základní požadavky:

- 1) Oficiální statut objektu sloužícího k ochraně genetických zdrojů lesních dřevin, oficiálně schválený resp. uznáný příslušnými státními úřady anebo agenturami.
- 2) Plán péče, ve kterém je zachování genetických zdrojů hlavním cílem obhospodařování. V plánu péče je jako cílový druh jasně určena jedna dřevina nebo více druhů dřevin.
- 3) Pro každou cílovou dřevinu je v objektu jasně uveden jeden z těchto cílů ochrany:
 - a) zachování genetické diverzity ve velkých populacích dřevin,
 - b) zachování specifické adaptivní nebo jiné vlastnosti v okrajových nebo zřídkačkových populacích,
 - c) pro zachování vzácných nebo ohrožených druhů dřevin, jejichž zbytkovou populaci tvoří jen malý počet jedinců.

B. Minimální velikost populace cílové dřeviny/dřevin:

Minimální velikost populace cílové dřeviny se různí v závislosti od typu populace a dřeviny:

Případ 1: Je-li účelem zachovat genetickou rozmanitost populací porostotvorných jehličnatých nebo listnatých dřevin, s velkým areálem, musí být v objektu chráněno 500 a více dospělých stromů schopných reprodukce.

Případ 2: Jestliže byla jednotka zřízena za účelem zachování okrajových anebo izolovaných populací kterékoliv dřeviny, musí se v objektu nalézat nejméně 50 reprodukujících se stromů. V případě dvoudomých dřevin se sexuálním dimorfismem (pohlavím) je minimální populace větší – požaduje se 50 plodících stromů.

Případ 3: Pokud je účelem zachovat genofond reliktních populací vzácných a ohrožených dřevin, minimální velikost populace je 15 nepříbuzných reprodukujících se stromů.

C. Aktivní management:

Pěstební zásahy jsou přípustné a dle potřeby se i aktivně využívají za účelem:

- 1) zajištění kontinuální existence populací cílových dřevin a
- 2) příznivých podmínek pro růst a vitalitu cílových dřevin a dosažení jejich přirozené obnovy.

D. Monitoring:

Inventarizace se v terénu se provádí jednou za pět nebo deset let na to, aby se posoudila úspěšnost obnovy, velikost populace a aktualizovat plán péče o cílovou dřevinu. Mezi podrobnými inventarizacemi jsou jednotky kontrolovány kvůli tomu, zda jsou schopny plnit svůj účel, nebyly narušeny poškozeny nebo poškozeny.

Legislativní a programový rámec ochrany a reprodukce genofondu v České republice

Podmínky ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin v ČR, včetně vyhlášení Národního programu, byly stanoveny novelou zákona 149/2003 o obchodu s lesním reprodukčním materiálem ve znění zákona 232/2013 Sb. Konkrétně Hlavou II zákona o obchodu s lesním reprodukčním materiálem. Nezbytné podrobnosti týkající se problematiky poskytuje vyhláška 29/2014 o ochraně a reprodukci genofondu lesních dřevin.

Národní program ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin

Národní program upravuje podmínky a postupy ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin lesnicky významných druhů lesních dřevin původních na území České republiky. Program platný na období 2014-2020 vyhlásilo Ministerstvo zemědělství ČR. V plném znění je dostupný na http://eagri.cz/public/web/file/319331/Narodni_prog_ochrany_a_reprodukce_genofondu_lesnich_drev_2014_az_2018.pdf.

Účelem programu je zachovat a reprodukovat genofond lesních dřevin jako součást národního bohatství pro budoucí generace. Soubor opatření realizovaných v rámci národního programu by měl vytvořit předpoklady pro efektivní a setrvalé využívání genetických zdrojů lesních dřevin v souladu s potřebami lesního hospodářství a zásadami trvale udržitelného hospodaření v lesích.

Základní opatření k naplnění cílů programu ((<http://www.uhul.cz/kdo-jsme/aktuality/440-narodni-program-ochrany-a-reprodukce-genofondu-lesnich-drevin>)) jsou:

- podpora existence a řádného obhospodařování genových základů,
- podpora existence a využívání zdrojů selektovaného reprodukčního materiálu – porostů fenotypových tříd „A“ a „B“ a
- podpora uznaných zdrojů kvalifikovaného reprodukčního materiálu – semenných sadů, směsí klonů, rodičů rodin, ortetů a klonů.

V rámci Národního programu je zřízena Národní banka osiva a explantátů lesních dřevin. Její koncepce je přílohou programu.

Pověřená osoba a koordinátor Národního programu je Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem. Provádí jeho hodnocení, ukládá opatření k záchraně ohroženého genetického zdroje lesních dřevin, zařazuje, mění nebo zrušuje zařazení genetického zdroje do Národního programu, vede ústřední evidenci, ukládá předání dokumentace o genetických zdrojích a vzorků genetických zdrojů a provádí kontrolu v oblasti Národního programu.

Ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin ex situ v Bance osiva a explantátů lesních dřevin zajišťuje určená osoba Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti v.v.i. Jíloviště-Strnady.

Účastníci národního programu jsou vlastníci genetických zdrojů, jimiž se rozumí:

- a) vlastník zdroje reprodukčního materiálu,
- b) vlastník reprodukčního materiálu, nebo
- c) vlastník genové základny.

Zařazení genetického zdroje lesních dřevin do Národního programu:

Žádost o zařazení genetického zdroje lesních dřevin do Národního programu může pověřené osobě podat vlastník genetického zdroje.

Pokud je z hlediska ochrany nebo reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin žádoucí zařadit genetický zdroj lesních dřevin do Národního programu, může pověřená osoba na základě žádosti vlastníka genetického zdroje zařadit genetický zdroj lesních dřevin do Národního programu. Doba zařazení genetického zdroje do Národního programu trvá nejdéle do ukončení doby jeho platnosti.

Porosty zařazené do Národního programu lze zařadit do kategorie lesa zvláštního určení

Seznam druhů lesních dřevin, které mohou být zařazeny do Národního programu, stanovuje vyhláška 29/2014 .

Zásady ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin:

Ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin zajišťují účastníci Národního programu. Každý účastník Národního programu je povinen

- a) chránit a reprodukovat genetické zdroje lesních dřevin *in situ* a *ex situ* ve všech jejich částech a vývojových stádiích,
- b) uchovávat vzorky genetických zdrojů lesních dřevin ve vhodných podmínkách tak, aby nedošlo k jejich poškození nebo zničení,
- c) v případě potřeby umožnit reprodukci nebo obnovení genetických zdrojů,
- d) v případě zjištění nebezpečí znehodnocení genetických zdrojů lesních dřevin zajistit nezbytná opatření k jejich záchraně,
- e) oznámit pověřené osobě změnu údajů týkajících se genetických zdrojů lesních dřevin, a to nejpozději do 30 dnů ode dne, kdy k této změně došlo.

Při ohrožení genetického zdroje lesních dřevin může pověřená osoba uložit převedení vzorků ohroženého genetického zdroje lesních dřevin do vlastnictví jiného účastníka Národního programu.

Financování ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin:

Finanční prostředky pro shromažďování, hodnocení, dokumentaci, ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin v rámci Národního programu jsou poskytovány ze státního rozpočtu prostřednictvím kapitoly ministerstva:

- určené osobě v rámci finančních vztahů stanovených ministerstvem.
- účastníkům programu formou dotací.

Alternativně mohou být finanční prostředky na ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin poskytnuty prostřednictvím Programu rozvoje venkova České republiky na období 2014 – 2020.

INTRODUKCE LESNÍCH DŘEVIN

Introdukce je činnost zaměřená na zavádění druhů do nových oblastí, v širším smyslu slova jde o jejich šíření mimo původní areál. Dle POLANSKÉHO (1934) je introdukovaná, neboli exotická dřevina obecně druh, pěstěný mimo svůj přirozený areál. V tomto smyslu slova bychom ovšem museli ve střední Evropě k introdukovaným dřevinám zařadit smrk ztepilý, modřín opadavý a borovice lesní všude tam, kde se pěstují mimo jejich přirozených areálů. V některých případech máme sklon řadit k introdukovaným dřevinám i ty, které se nevyskytují v politických hranicích konkrétního státu bez ohledu na jeho velikost – ve střední Evropě je typickým příkladem borovice černá, přirozeně se vyskytující ve Vídeňském lese několik desítek kilometrů od hranic České republiky a Slovenska. V užším smyslu slova je tedy introdukovanou dřevinou dřevina pěstovaná mimo biogeografickou oblast, ve které je původní. Tento náhled koresponduje s definicí geograficky nepůvodního druhu rostliny nebo živočicha jako druhu, který není součástí přirozených společenstev určitého regionu.

Motivy introdukce lesních dřevin zůstávají do velké míry stejné už od jejich počátků:

- nedostatek zdrojů dřeva pro pilařské zpracování a stavební účely – vedlo např. k introdukci modřínu, smrku, douglasky, smrku sitkanského do severozápadní Evropy a v současnosti vede k rozšiřování borovice montereyské a borovice karibské v subtropích a tropech.
- snaha o zvýšení produkce z jednotky plochy, zintenzivnění produkce – topoly, eukalypty,
- adaptabilnější alternativa k domácím dřevinám – douglaska, dub červený, trnovník akát,
- zalesňování extrémních stanovišť – trnovník akát, borovice černá, jilm sibiřský,
- produkce plodů – jírovec maďal nebo plodů v kombinaci se zajímavými sortimenty dřeva, např. u ořešáků nebo kaštanovníka setého.

Na rozdíl od lesních dřevin zemědělské plodiny jsou téměř v kterékoliv části světa (možná s výjimkou horských a tropických oblastí jižní Ameriky) převážně nepůvodní. V Evropě jsou autochtonní jen některé zeleniny (řepa, ředkev, odrůdy zelí), ovocní dřeviny (jabloň, hrušeň, slivoň, rybíz, jahodník, fik, olivovník) a několik druhů píceň.

S ohledem na pozitivní i negativní zkušenosti předpokládáme u introdukovaných dřevin splnění řady kritérií. Z lesnického hlediska by introdukované dřeviny mely vyhovět následujícím požadavkům (BERAN a ŠINDELÁŘ 1996):

1. Dostatečná produkční schopnost.
2. Jakost dřeva.
3. Přizpůsobivost stanovišti.
4. Pozitivní nebo alespoň indiferentní vliv na půdu.
5. Odolnost faktorům abiotickým, škůdcům a chorobám.
6. Vyloučení možností šíření chorob.
7. Přijatelná citlivost, resp. odolnost případným změnám klimatu.
8. Vyloučení invazního působení na domácí vegetaci.
9. Vhodnost pro porosty s domácími dřevinami.
10. (Schopnost přirozené obnovy.)

Z hlediska využití v lesích lze introdukované dřeviny rozdělit do několika skupin (doplňeno dle POLANSKÉHO 1934):

- rychlerostoucí se značnou zásobou dřevní hmoty (*Pseudotsuga menziesii*, *Pinus strobus*),
- vhodné jako pomocné dřeviny (*Pinus banksiana*, *P. peuce*, *P. strobus*),
- vhodné na zvýšení produkce nízkých lesů (*Juglans nigra*, *Quercus rubra*),
- odolnější vůči poškozování zvěří, imisemi, klimatickými extrémy (*Pinus peuce*, *Picea pungens*, *Picea omorika*, *Ulmus sibirica*),
- vhodné pro zalesňování extrémních stanovišť – v sušších oblastech *R. pseudoacacia*, ve vysokých polohách *Pinus leucodermis*, *Pinus cembra*,
- pro plantáže na produkci jedlých plodů (*Castanea sativa*, *Juglans regia*),
- vhodné na zvýšení estetické funkce lesa: *Liriodendron tulipifera*, *Platanus sp.*, *Abies sp.*, *Picea pungens*, *Picea omorika*).

Box XXIV Příčiny, proč jsou introdukované dřeviny schopny předčít původní druhy (PAULE 1992):

- 1) Přirozený výběr je zaměřen na schopnost přežití a reprodukce víc, než na ekonomicky významné znaky. Přirozené lesní společenstvo tak může být velmi dobře adaptováno k místním přírodním podmínkám a může produkovat téměř maximální množství sušiny z jednotky plochy. Nemusí ovšem, poskytovat všechny produkty (např. sortimenty dřeva) potřebné pro člověka. Typickým příkladem jsou části světa (i Evropy), ve kterých se přirozeně nevyskytují jehličnany.
- 2) Evoluce nereaguje dostatečně rychle na změny prostředí. Ve člověkem změněných podmínkách tedy introdukce nových druhů kompenzuje nedostatečnou evoluční odezvu druhů původních. Po náhlých změnách vyžaduje adaptace druhu množství generací a dřeviny jsou dlouhověké organismy. Ve změněných podmínkách můžou nové introdukované druhy nahradit nedostatečně adaptovaný původní druh nebo druhy.
- 3) Evoluční možnosti druhů, rodů a čeledí lesních dřevin v daném čase na daném místě jsou omezené. Jsou nepřímou úměrné dlouhověkosti. Například v Austrálii roste 300 - 500 druhů eukalyptů, a každý zajímá jinou ekologickou niku. Umožnilo to rychlé střídání generací a časné plození. Podobným příkladem jsou topoly, rod s cirkumpolárním rozšířením, kde každý druh osídluje areál s jinými podmínkami prostředí.

Předpoklady úspěšné introdukce lesních dřevin

1) Vysoký produkční a adaptivní potenciál kandidátské dřeviny (očekávaná schopnost přizpůsobit se novým podmínkám):

- Douglaska tisolita, jedle obrovská a borovice hladká růstovým potenciálem a produkcí převyšují růstové schopnosti Evropských jehličnatých dřevin. Mají rozlehlé přirozené areály, vyznačují se velkou vnitrodruhovou variabilitou a vysokou adaptační schopností.
- Eukalyptů je v Austrálii a Indonézii dohromady 400-500 druhů přizpůsobených rozmanitým podmínkám ve svém původním areálu prostředí. Lze je pěstovat na různých stanovištích, vegetativně množit, mají krátký generační čas a mimořádný potenciál pro aplikaci vnitrodruhové a mezidruhové hybridizace.
- Topoly se v mírném pásmu severní polokoule vyznačují druhovou pestrostí, velkými areály

a tudíž adaptací na široké spektrum stanovišť. Souvisí s tím vysoká vnitrodruhová proměnlivost otevírající možnosti jejich novošlechtění hybridizací.

- Douglaska tisolistá je druh s obrovským přirozeným areálem s extrémně širokým spektrem stanovišť s několika poddruhy. Má omezený počet patogenů a škůdců. I borovice karibská (*P. caribea*) nebo borovice černá s nesouvislým areálem s rozmanitými přírodními podmínkami vyskytují v několika poddruzích.
- Smrk sitkanský (*P. sitchensis*), borovice montereyská (*Pinus radiata*), borovice karibská a paulovnie mají mimořádnou schopnost využít příznivá stanoviště, vyznačují se vysokou adaptabilitou a šlechtitelským potenciálem.

2) Podobnost přírodních podmínek - nejen klimatických – oblasti původu a introdukce:

- množství a distribuce srážek v průběhu roku,
- teplotní a srážkové extrémy – i za více let,
- pH půd, deficit nebo nadbytek živin,
- Škůdci rostlinného a živočišného původu.

3) Kompetentní ověření a rozhodování:

- Ověření druhové vhodnosti,
- Poznání vnitrodruhové variability,
- Odhad rizika inváznosti (spontánního šíření semeny, nekontrolovatelného vymlazování, možné hybridizace s domácími dřevinami).

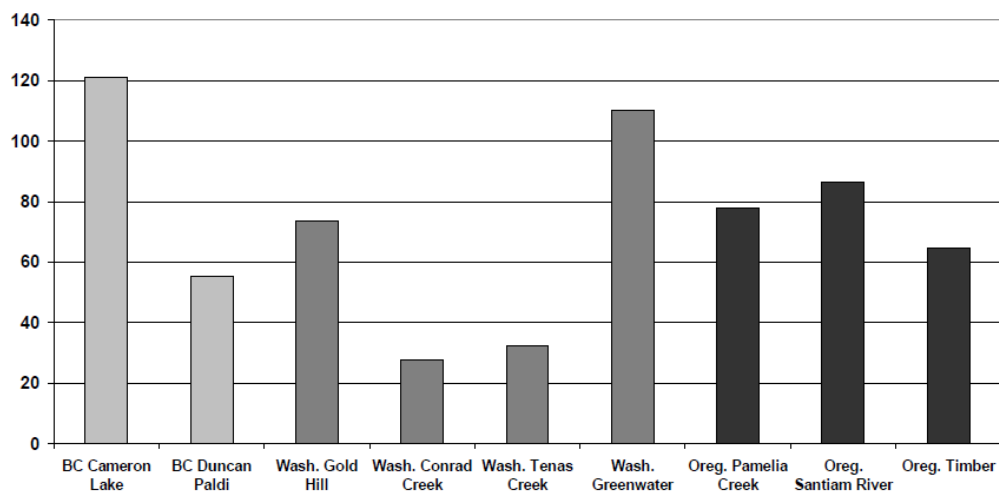
Box XXV Borovice montereyská má přirozený areál velikosti jen 8 000 ha. Pozůstává z pěti izolovanými populací, které se přizpůsobili relativně extrémním stanovištím na pevnině jižně od San Francisca a dvou ostrovech u jižní Kalifornie. Druh se přesto vyznačuje překvapivě vysokou adaptabilitou a velkým potenciálem pro novošlechtění hybridizací.

Praktické aspekty introdukce lesních dřevin

Výzkum možností introdukce a ověření vhodnosti konkrétní dřeviny nebo dřevin do velké míry spoléhá na provenienční výzkum a z hlediska logické posloupnosti v něm lze rozlišit 3 na sebe navazující fáze:

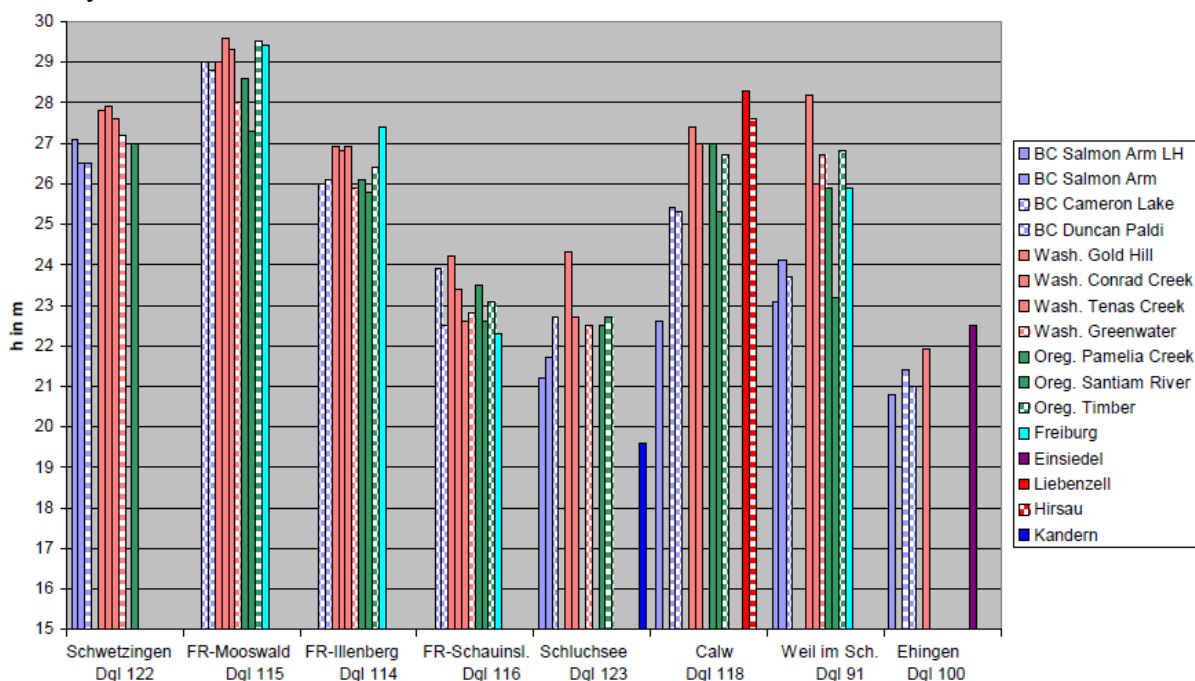
1) Základní ověření vlastností cílové dřeviny kombinací druhových (srovnání více dřevin) a provenienčních pokusů. Každá dřevina by měla být zastoupena několika proveniencemi z různých částí jejího přirozeného areálu. Účelem ověření je získat základní informace o proměnlivosti a vlastnostech introdukované dřeviny:

- jak velká je její vnitrodruhová variabilita a u kterých znaků a vlastností se projevuje nejvíc.
- Které znaky a vlastnosti dřeviny, případně stanovištní podmínky, choroby a škůdci mohou limitovat jejich introdukci a je jim potřeba věnovat zvýšenou pozornost.



Obr. 54: Porovnání proveniencí douglasky z různých částí areálu (Britská Kolumbie, Washington, Oregon) v zásobě na hektar (m^3 s kůrou) na pokusné ploše v Bádensku-Württembersku v 480-520 m n. m. (zdroj: KENK a EHRING 2001)

2) Identifikace vhodných proveniencí pro konkrétní oblast prostřednictvím provenienčních pokusů založených v co nejrozmanitějších přírodních podmínkách. Zjišťuje se ekvalence dřeviny v cílové oblasti, tj. možnosti a limity využití na různých typech lesních i nelesních stanovištích. Současně identifikujeme vhodné genové zdroje v oblasti původního výskytu dřeviny.



Obr. 55: Příklad pokusu sloužícího k bonitaci stanovišť a současně i k vytipování vhodné oblasti proveniencie pro douglasku a geograficky menší území: střední výšky 16 proveniencí na sérii 8 pokusných ploch v Bádensku-Württembersku (zdroj: KENK a EHRING 2001)

3) Zvládnutí praktických aspektů:

- Výzkum zakládání porostů a pěstění dřeviny v lesních porostech, speciálních výsadbách nebo doprovodní vegetaci mimo les,
- Selekce, šlechtění a péče o genofond introdukovaného druhu.



Obr. 56: Klonový test a současně i archiv klonů trnovníku akátu, jižní Slovensko, věk 24 let

Přehled výsledků introdukce v lesnictví

1) Globálně rozšířené introdukované dřeviny:

- Eukalypty (rod): globálně se pěstuje na přinejméně 20 milionech ha v tropech, subtropích a teplejších oblastech mírného pásma včetně Středomoří. Nejvíce velkoplošných („průmyslových“) plantáží eukalyptů se nalézá v Jižní Americe, v samotné Brazílii jich je víc než 5 miliónů hektarů. Ve většině oblastí, do kterých byli eukalypty introdukované, se ovšem stali invazními dřevinami.
- Topoly (rod) se v mírném a subtropickém pásmu severní i jižní polokoule pěstují v kulturách a na plantážích na ploše 13 mil ha (FAO 2010). Téměř třetina (30%) všech výsadeb topolů je součástí agrolesnických systémů. Šlechtěné topoly zajsou vysazeny na 6,7 milionech ha, z nichž 56 % slouží především k produkci dřeva a 44 % jsou víceúčelové a ochranné výsadby. Největší plochu mají topolové kultury v Číně - 4,9 mil. ha a Indii - 1 mil. ha (BALL et al. 2011).
- Borovice montereyská: 4,2 miliónů ha (2012) v subtropích Čile, Nového Zélandu, Austrálie, Španělska a Jižní Afriky.
- Borovice karibská se mimo svůj přirozený v Hondurasu, na Kubě a Bahamách pěstuje na 2 mil. ha v Karibské oblasti, východní Africe, jižní Asii a v Tichomoří.
- Paulovnie (rod): několik druhů se v Číně v kulturách pěstuje na přibližně 1 mil. ha, po r. 2000 se její pěstování šíří do Austrálie, Spojených států i Evropy. Potenciálně invázní. *P. tomentosa* je klasifikována jako invázní druh na JV Spojených států a v Japonsku.

2) Introdukované dřeviny v Evropě:

Jehličnany: *Pinus pinea*, *Cedrus* a *Cupressus sempervirens* boli do evropské části Středomoří rozšířeny již ve starověku. *Pinus nigra* je v lesích střední Evropy zaváděna od přelomu 18. a 19. století. Douglaska, jedle obrovská a smrk sitkanký dosáhly největšího rozšíření ze všech introdukovaných dřevin od půlky 19. století v severozápadní a střední Evropě. Borovice

přímořská (*Pinus pinaster*) byla introdukována do centrálního a východního Středomoří z Pyrenejského poloostrova a severozápadní Afriky v 18. a 19. století, přičemž v nových oblastech se stává je problémovou dřevinou z hlediska invazivnosti a náchylnosti jejich porostů k lesním požárům. Ve 2. polovině 20. století byla borovice pokroucená (*P. contorta*) ve Švédsku vysazena na téměř půlmilionu hektarů a borovice montereyská na několikastech tisících hektarů v severozápadní části Pyrenejského poloostrova. Ve stejném období se k produkci vánočních stromků v severozápadní Evropě (zčásti i v lesních porostech) začaly využívat jedle *Abies nordmanniana*, *A. procera*, *A. koreana*, *A. lasiocarpa*.

Listnaté dřeviny: Kaštanovník setý (*Castanea sativa*), ořešák vlašský (*Juglans regia*) a oskeruše (*Sorbus domestica*) byly ve starověku rozšířeny do téměř všech částí Římského impéria. Trnovník akát (*Robinia pseudoacacia*) se v Evropě objevil kolem r. 1600 a od konce 18. století se využívá na obtížně zalesnitelných stanovištích, na stabilizaci váťých písků a svahů. I díky nekontrolovatelnému šíření jeho semen aviochorií se od první půle 20. století stal běžnou dřevinou ve všech zemích střední a jižní Evropy. Jeho podíl na dřevinové skladbě lesů je nejvyšší v Maďarsku - 22%. V řadě oblastí západní a střední Evropy se vysazuje také dub červený a ořešák černý.

Eukalypty (zejména *E. globulus* a *E. nitans*) se v Evropě ve větším rozsahu začali lesnický využívat ve Středomořské oblasti od poloviny 20. století. Odhadem jejich porosty zajímají 1,5 mil. ha (http://treebreedex.eu/IMG/pdf/VegProp_0409_pres_Dehon_G.pdf). Největší plochu zajímají v Portugalsku - 0,7 mil. ha a ve Španělsku - 0,5 mil. ha.

Topoly (*Populus sp.*) v Evropě nejsou introdukovanými dřevinami v užším smyslu slova, od 30. let 20. století se zejména v lužních ekosystémech západní, střední a jižní Evropy vysazují šlechtěné topoly *Populus* × *euramericana*, které jsou výsledkem mezidruhové hybridizace evropských a amerických druhů topolů (včetně topolu kanadského *Populus* × *canadensis* MOENCH (pro sp.) [*deltoides* × *nigra*]). Rodičovskými druhy jsou topol černý (*P. nigra*), topol bavlíkový (*P. deltoides*), balzámové topoly *P. balsamifera*, *P. trichocarpa*, *P. maximowiczii*. V jižnějších oblastech Evropy se využívají i klony čistého topolu bavlíkového. Plocha porostů šlechtěných topolů dle FAO (2014) v Evropě přesahuje 1 mil. ha, největší plochu výměru zajímají ve Francii (236 tis. ha), Maďarsku (130 tis. ha) a Itálii (116 tis. ha).

Z Evropy do jiných částí světa byl do Severní Ameriky introdukovaný smrk ztepilý a modřín opadavý. V Jižní Americe a Číně se vysazují v Evropě vyšlechtěné topoly, u kterých je obvykle jedním z rodičů topol černý.

3) Introdukované dřeviny v České republice:

Cizokrajní dřeviny rostou na porostní ploše přibližně 47 000 ha, co činí 1,82 % celkové plochy lesů. Mimo trnovníku akátu (14 000 ha) jsou relativně častými dřevinami především douglaska tisolistá (4 900 ha redukované porostní plochy), borovice černá (3 700 ha), vejmutovka (3 100 ha), dub červený (5 100 ha). Smrkové exoty (12 000 ha) byli použity jako dočasná náhrada původních dřevin v imisních oblastech Krušných hor a Jizerských hor. Zastoupeny jsou zejména smrkem pichlavým, v menší míře smrkem sivým a omorikou. Méně častá je jedle obrovská (1 000 ha), jírovec maďal (550 ha), ořešák černý (500 ha) i krajně nežádoucí, nekontrolovaně se šířící javor jasanolistý (350 ha). K introdukovaným lesním dřevinám lze zařadit i šlechtěné topoly, které na lesních pozemcích rostou na přibližně 1 900 ha.

Tab 21: Doba introdukce vybraných lesních dřevin do Evropy a na území ČR. Zdroje informací o introdukci do Evropy ZOBEL et al. 1987, KOWNATZKI et al. 2011, o introdukci do ČR TICHÁ, ÚRADNÍČEK 2014

<i>Abies grandis</i>	1831	1839	<i>Castanea sativa</i>	antika	13. stol.
<i>Pinus strobus</i>	1553	1705	<i>Juglans regia</i>	antika	1629
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	1830	1842	<i>Juglans nigra</i>	1629	1865
<i>Picea pungens</i>	1856	1910	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	1948	1948
<i>Picea sitchensis</i>	1831	1910	<i>Platanus occidentalis</i>	1640	1923
<i>Pinus strobus</i>	1705	1812	<i>Quercus rubra</i>	1691	1724
<i>Thuja occidentalis</i>	1534	1809	<i>Robinia pseudoacacia</i>	1601	1710

Box XXVI: Nežádoucí důsledky introdukce lesních dřevin:

- Nekontrolovatelné šíření v důsledku velké produkce semen, šíření a perzistence semen v půdě: *Robinia pseudoacacia*, *Negundo aceroides*, *Fraxinus americana* /*F. pennsylvanica*, *Pinus strobus* v NP České Švýcarsko, *Acer pseudoplatanus* na Britských ostrovech, *Pinus pinaster* v severovýchodním Středomoří a Jižní Africe. Potenciálně problémové jsou kvůli produkci a šíření semen i příslušníci rodu *paulovnie*.
- Obtížně kontrolovatelné vymlazování: *Robinia pseudoacacia*, *Eucalyptus sp.* (*E. globosa*), *Rhus typhina*.
- Schopnost potlačovat původní vegetaci a negativní vliv na půdu: *R. pseudoacacia*, *Eucalyptus sp.*, *Negundo aceroides*.
- Hybridizace s původními domácími druhy: *Abies sp.*, *Populus x euramericana*.

Legislativní omezení používání nepůvodních lesních dřevin v České republice:

Podle zákona ČNR č. 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny § 5 ods. 4: „Záměrné rozšíření geograficky nepůvodního druhu rostliny či živočicha do krajiny je možné jen s povolením orgánu ochrany přírody; to neplatí pro nepůvodní druhy rostlin, pokud se hospodaří podle schváleného lesního hospodářského plánu nebo vlastníkem lesa převzaté lesní hospodářské osnovy. Geograficky nepůvodní druh rostliny nebo živočicha je druh, který není součástí přirozených společenstev určitého regionu.“ (pozn.: v rámci ČR).

„Povolovat nebo uskutečňovat záměrné rozšiřování geograficky nepůvodních druhů rostlin a živočichů“ je zakázáno v národních parcích (§ 16), chráněných krajinných oblastech (§26), národních přírodních rezervacích (29), přírodních rezervacích (§ 34).

Kulturní a plantážní lesy

Dle definice FAO (2015a) se jedná o intenzivně obhospodařované porosty původních dřevin nebo o lesní porosty introdukovaných dřevin, které jsou tvořeny jenom 1 nebo 2 dřevinami, jsou stejnověké a byly založeny výsadbou nebo sítí v pravidelném sponu. Rozlišují se:

- produkční výsadby založené za účelem produkce dřeva a /anebo nedřevních produktů a
- ochranné výsadby založené za účelem poskytování environmentálních služeb.

Celosvětově je lesních kultur a plantáží 264 milionů ha (2010), kdežto v r. 1991 to bylo jen 174 mil. ha. Ročně jich přibývá přibližně 5 mil. ha (<http://www.fao.org/forestry/plantedforests>) a i když zajímají 7% celkové plochy lesů, na celosvětových dodávkách dřeva

pro průmyslové zpracování se podílejí více než 40%. Očekává se, že po r. 2020 dodávky dřeva z tohoto typu lesních porostů ve světě zcela převládnu.

Problematika invazních druhů

Invazním organismem je druh, který není v konkrétním ekosystému původní, jehož introdukce a šíření způsobilo nebo pravděpodobně způsobí sociálně-kulturní, ekonomické a environmentální škody, anebo je škodlivý pro lidské zdraví.

V Evropě je dohromady přítomno 12,000 nepůvodních druhů rostlin a živočichů, z nichž se 10–15% vyznačuje invazivností. Podle přehledu Evropské environmentální agentury (<http://ec.europa.eu/environment/nature/invasivealien/docs/ias-brochure-en-web.pdf>) je na území České republiky 19 problémových nepůvodních druhů.

Box XXVII: Základní legislativní předpis EU a definice invazního druhu

Invazní druhy jsou v Evropě podobně jako v řadě jiných regionů světa závažným ekologickým a ekonomickým problémem a hrozbou pro biodiverzitu. V EU se na ně vztahuje nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1143/2014 o prevenci a regulaci zavlečení, vysazování a šíření invazních nepůvodních druhů.

Invazní nepůvodní druh je v něm definován jako nepůvodní druh, jehož zavlečení, vysazení nebo šíření ohrožuje biologickou rozmanitost a související ekosystémové služby, anebo na ně má nepříznivý dopad.

KŘIVÁNEK (2003) uvádí pro lesní společenstva jako nepůvodní invazní druhy dřevin (stromy a keře): javor jasanolistý, pajasan žlaznatý, štědřenec odvislý (*Laburnum anagyroides*), kustovnice cizí (*Lycium barbatum*), mahonie cesmínolistá (*Mahonia aquifolium*), borovice vejmutovka, topol kanadský, dub červený, trnovník akát (více viz. SCHWARZ *et al.* 2003, <http://www.uhul.cz/nase-cinnost/narodni-lesnicko-program/podklady/271-studie-nlp-i>).

Literatura

- BALL, J., CARLE, J., DEL LUNGO A., 2011: Contribution of poplars and willows to sustainable forestry and rural development. FAO – International Poplar Commission. (<http://www.fao.org/docrep/008/a0026e/a0026e02.htm>)
- BERAN, F., ŠINDELÁŘ, J., 1996: Perspektivy vybraných cizokrajných dřevin v lesním hospodářství České republiky, Praha, Lesnictví – Forestry 42(8): 337 – 355.
- BRIGGS, D., WALTERS, S.M., 2001: Proměnlivost a evoluce rostlin. Univerzita Palackého, Olomouc, 531 s.
- ERIKSSON, G., EKBERG, I., CLAPHAM, D., 2013: Genetics Applied to Forestry. An Introduction. SLU, Genetic Center, Department of Plant Biology and Forest Genetics, Uppsala, 206 s.
- FAO, 2010: Global Forest Resources Assessment 2010, Main Report. FAO Forestry paper 163, Rome, 378 pp.
- FAO, 2014: International Poplar Commission (<http://www.fao.org/forestry/ipc/69994/en/>).
- FAO 2015a: Global Forest Resources Assessment 2015 - Terms and Definitions. Forestry Department (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Forestry Department), FAO Working Paper 144/E, 27 pp.
- FAO, 2015b: The State of the Worlds Forest Genetic Resources. Commission on the Genetic Resources for Food and Agriculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Rome, 276 s.
- FAO, FLD, IPGRI, 2004: Forest genetic resources conservation and management: overview, concepts and some systematic approaches. Vol. 1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome (Italy), 106 pp. ISBN 978-92-9043-648-5.
- FAO, FLD, IPGRI, 2004: Forest genetic resources conservation and management: In managed natural forests and protected areas (*in situ*): Vol. 2. International Plant Genetic Resources Institute, Rome (Italy), 90 pp. ISBN 978-92-9043-472-6.
- FAO, FLD, IPGRI, 2004: Forest genetic resources conservation and management: In plantations and genebanks (*ex situ*). Vol. 3. International Plant Genetic Resources Institute Rome (Italy), FAO, 86 pp. ISBN 978-92-9043-649-2.
- FLEGR, J., 2009: Evoluční biologie. Academia Praha, 572 s.
- GEBUREK, TH., TUROK, J. (eds), 2005: Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arbora Publishers, Zvolen, 700 pp., ISBN 80-967088-1-3.
- KOWATZKI, D., KRIEBITSCH, W.-U, BOLTE, A., LIESEBACH, H, SCHMITT, U., ELSASSER, P., 2011: Zum Douglasienanbau in Deutschland. Landbauforschung vTI Agriculture and Forestry Research, Sonderheft 344, 67 s.
- KENK, G., EHRING, A., 2001: Variation in Herkunftsversuchen Veränderungen in der Höhenwuchsleistung (h200) beim Internationalen Douglasien-Provenienzversuch 1958 in Baden-Württemberg. In: HUSSENDÖRFER, E., ALDINGER, E., (eds.), 2001: Herkunftsicherung und Zertifizierung von forstlichem Vermehrungsgut. Forum Genetik-Wald-Forstwirtschaft. Berichte Freiburgerische Forschung, Heft 54, s. 79-89 (http://www.fva-bw.de/publikationen/fff_bericht/fff_h_54_gesamt.pdf)
- KŘIVÁNEK, M., 2003: Současné poznatky o chování invazních druhů vyšších rostlin a prognóza pro lesní hospodářství. In: MOUCHA, P. (ed.): Nepůvodní dřeviny a invazní rostliny. Sborník přednášek z celostátního semináře konaného 24. 9. 2003 ve Žluticích. ČLS, Praha, s. 30 – 38.
- LINDGREN, D., 2008: A way to utilise the advantages of clonal forestry for Norway spruce. Working Papers of the Finnish Forest Research Institute 114: 8-15.
- LONGAUER, R., PACALAJ, M., GÖMÖRY, D., STRMEŇ, S., KRAJMEROVÁ, D., 2012: Rast a prežívanie smreka na plochách provenienčného pokusu IUFO 1972 vo veku 38 rokov.

- Acta Facultatis Forestalis 54(1): 93-110.
- LONGAUER, R., PACALAJ, M., STRMEŇ, S., GÖMÖRY, D., 2013: Rola proveniencie a kvality zdroja lesného reprodukčného materiálu. In: Proceedings of Central European Silviculture. Česká zemědělská univerzita v Praze, s. 136-150.
- KLEINSCHMIT, J., 1993: Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. *Annales des Sciences Forestieres* 50 (Suppl1): 166-185.
- KÖNIG, A.O., 2005: Provenance research: evaluating the spatial pattern of genetic variation. In: T. GEBUREK, J. TUROK (eds.), Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe, Arbora Publishers, Zvolen, Slovakia, s. 275–333.
- KOSKELA, J., ET AL., 2013. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biological Conservation* 157: 39–49.
- KOSKELA, J.; BUCK, A.; TEISSIER DU CROS, E. (EDS.) 2007: Climate change and forest genetic diversity: Bioersivity International, Rome (Italy). European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN), 111 p. ISBN 978-92-9043-749-9
- KRAHL-URBAN, J., 1959: Die Eichen. Paul Parey Verlag, Hamburg, 288.
- MÖHRING, B., 2006: Welche Bezüge gibt es zur Forstgenetik und Forstpflanzen- züchtung? Wertschöpfung , Wirtschaftlichkeit und nachhaltiger Erfolg. *AFZ - Der Wald.* 61(8): 424-426.
- MENDEL, J.G., 1866: Versuche über Pflanzenhybriden. Verhandlungen des naturforschenden Vereins in Brünn. IV. Band. Brünn, 47 s.
- MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ 2014: Národní program ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin 2014-2018. http://eagri.cz/public/web/file/319331/Narodni_prog_ochrany_a_reprodukce_genofondu_lesnich_drev_2014_az_2018.pdf.
- NOVOTNÝ, P., BURIÁNEK, V., FRÝDL, J., ČÁP, J., 2009: Integrace českých genových základů do evropské struktury GCU (Gene Conservation Units). In: Možnosti přírodě blízkého lesního hospodářství v Českých zemích. Sborník z konference, Kostelec nad Černými lesy 23. 9. 2009. FLD ČZU v Praze: 37-40.
- NYSTEDT, B. *et al.*, 2013: The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. *Nature* doi:10.1038/nature12211.
- ODUM, E.P., 1953: Fundamentals of Ecology. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 383 s.
- PAULE, L., 1992: Genetika a šľachtenie lesných drevín. Príroda a.s., Bratislava, 304 s.
- POLANSKÝ, B., 1934: Lesnické pěstování dřevin cizokrajných se zřetelem na poměry v ČSR. Díl první. Ministerstvo zemědělství ČSR, Praha, 148 s.
- SCHOBER, R. 1985. Neue Ergebnisse des II. Internationalen Lärchenprovenienzversuches von 1958/59 nach Aufnahmen von Teilversuchen in 11 europäischen Ländern und den USA. Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 83.
- SCHUELER, S., FALK, W., KOSKELA, J., LEFÈVRE, F., BOZZANO, M., HUBERT, J., KRAIGHER, H. LONGAUER, R., OLRİK, D., 2014: Vulnerability of dynamic genetic conservation units of forest trees in Europe to climate change. *Global Change Biology* 20(5): 1498-1511.
- SCHWARZ, O., HYNEK, V., VACEK, S., 2003: Návrh novelizace vyhlášky zákona č.114/1992 Sb. o přesném vymezení definice a rajonizace geograficky nepůvodních druhů (c6). Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Strnady, 13 s. (<http://www.uhul.cz/nase-cinnost/narodni-lesnicky-program/podklady/271-studie-nlp-i>).
- SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., 2009: Genetika. Masarykova univerzita, Brno, 894 s.
- SVOBODA, J, DOHNAL, M., DOHNANSKÝ, T., FIŠER, K., HRDLÍČKA, O., JURÁSEK, M., KOTRLA, P., KRCHOV, V., MORÁVEK, F., NEZNAJOVÁ, Z., PAŘÍZEK, M., PŮLPÁN, L., STONAWSKI, J., 2010: Koncepce zachování a reprodukce genových zdrojů lesních dřevin u Lesů České republiky, s.p. na období 2010-2019. Lesy České republiky, státní podnik, 37 s.

- ŠINDELÁŘ, J., 1990. Genové základny v České republice. Lesnický průvodce 2 (1990), 45 s.
- TICHÁ, S., ÚRADNÍČEK, L., 2014: Woody plants introduced from North America. Skripta, Mendelova univerzita v Brně, 139 s. (https://akela.mendelu.cz/~xcepl/inobio/skripta/Intr_dreviny_woody_plants/).
- TRAILL, L.W., BRADSHAW, C.J.A., BROOK, B.W., 2007: Minimum viable population size: a meta-analysis of 30 years of published estimates. *Biological Conservation* 139:159–166.
- SCHÖBER, R. 1985. Neue Ergebnisse des II. Internationalen Lärchenprovenienzversuches von 1958/59 nach Aufnahmen von Teilversuchen in 11 europäischen Ländern und den USA. Schriften aus der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen und der Niedersächsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Band 83.
- PENTY et al. 2005: Benefits of using selected reforestation materials. FGC Extension Notes 3, 20 s. (<http://www.fgcouncil.bc.ca/doc-extn.html>).
- TANZ, J.S., 2001: Incorporating Genetic Gain in Timber Supply Analysis. Cortex Consultants Inc. for Forest Genetics Council of British Columbia. FGC Extension Note 1, 15 s. (<http://www.fgcouncil.bc.ca/doc-extn.html>).
- TULSTRUP, N.P., 1959: International trade in forest tree seed. *Unasylva* 13(4): 196-201
- WEISGERBER, H.; SINDELAR, J. 1992. IUFRO's role in coniferous tree improvement. History, results, and future trends of research and international cooperation with European larch (*Larix decidua* Mill.). *Silvae Genetica* 41 (3) : 150-161
- WHITE, T.L., ADAMS, W.T., NEALE, D.B., 2000 *Forest Genetics*. CAB International, Wallingford, United Kingdom. 704 s.
- ZOBEL, B.J., VAN WYK, G., STAHL, P., 1987: *Growing exotic forests*. John Wiley and Sons Inc., New York, 508 s.

Citované legislativní předpisy:

Zákon 149/2003 Sb.: Zákon o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin) ve znění pozdějších právních předpisů.

Vyhláška 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2003 Sb. o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin, ve znění pozdějších právních předpisů.

Vyhláška 132/2014 Sb. o ochraně a reprodukci genofondu lesních dřevin.

