



Výzkumný ústav
lesního hospodářství
a myslivosti, v. v. i.

Genetická diferenciace a struktura vybraných významných populací tisu v ČR z pohledu doplnění klonů do registrovaného semenného sadu v Lužických horách

**Petr Novotný, Martina Komárková,
Helena Cvrčková, Pavlína Máchová**

Děčín, 5. 8. 2022

ZATLOUKAL et al. (2001):

- nelze vysledovat spojité regiony příbuzných populací (genetická podobnost i mezi geograficky vzdálenými nebo naopak značné genetické rozdíly mezi blízkými výskyty)

ROMŠÁKOVÁ (2007):

- z řady prací vyplývá, že se u TS projevuje vysoká míra genetické variability (v porovnání s ostatními jehličnany jeden z nejvariabilnějších)
- i v malých reliktních porostech mu příliš nehrozí nebezpečí náhlé genetické ztráty (na rozdíl od jiných jehličnanů totiž při vysoké genetické diverzitě vykazuje i vysokou genetickou diferenciaci)
- k příčinám nízké genetické diferenciace sice patří dlouhověkost (dlouhé trvání generací), anemogamie a cizosprašnost, ale u TS ji zvyšuje izolovanost zbytkových výskytů

MAYOL et al. (2015):

- existence 2 geneticky homogenních oblastí na Z a V areálu, mezi kterými prochází neostrá přechodná zóna (mj. právě přes území ČR) – moravské populace spíše V, české spíše přechodné a Z

VÝZKUMNÝ ÚSTAV LESNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ A MYSLIVOSTI, V. V. I.

Genetická proměnlivost zakládaného semenného sadu
tisu červeného (*Taxus baccata* L.) v Lužických horách

Laboratorní zpráva

Ing. Pavlína Máchová, Ph.D.
Mgr. Martina Komárková, Ph.D.
Ing. mult. Bc. Petr Novotný, Ph.D.

2020



Article

The Genetic Differences and Structure of Selected Important Populations of the Endangered *Taxus baccata* in the Czech Republic

Martina Komárková *, Petr Novotný, Helena Cvrčková and Pavlína Máchová

Forestry and Game Management Research Institute, Straný 136, 252 02 Jilovské, Czech Republic;
pnovotny@vulhm.cz (P.N.); cvrckova@vulhm.cz (H.C.); machova@vulhm.cz (P.M.)

* Correspondence: komarkova@vulhm.cz

Abstract: *Taxus baccata* L. (common yew) is an endangered tree species in the Czech Republic. However, its natural occurrence has not been adequately protected in all areas of the country. The aim of this study is to determine whether the yew population in the newly established Mařenický seed orchard (TS_L) enables mixing with other Czech yew populations. Using a set of nuclear microsatellites, the genetic diversity in the Lužické Mountains (TS_L) and in selected wild-provenance populations from the Czech Republic (Jilovské yews, TS_J; Březinské yews, TS_B, and yews from Moravský Karst, TS_M) was studied, as they could be donor sources for potential translocation activities. We observed that the level of genetic diversity within the four Czech yew units that were investigated was high. An analysis of the molecular variance (AMOVA) showed 7% variation among populations, and the genetic differentiation values were low to moderate ($F_{ST} = 0.042\text{--}0.108$). According to a STRUCTURE analysis, high genetic similarity was observed between the TS_L and TS_B units. Our results provide important genetic suggestions on how conservation management can be designed to maximize its success.

Keywords: endangered species conservation; genetic differentiation; genetic structure; seed orchard; SSR analysis; *Taxus baccata* L.



Citation: Komárková, M.; Novotný, P.; Cvrčková, H.; Máchová, P. The Genetic Differences and Structure of Selected Important Populations of the Endangered *Taxus baccata* in the Czech Republic. *Forests* **2022**, *13*, 137. <https://doi.org/10.3390/f13020137>

Academic Editors: Carol A. Loopstra and Dušan Gienový

Received: 30 November 2021

Accepted: 14 January 2022

Published: 18 January 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

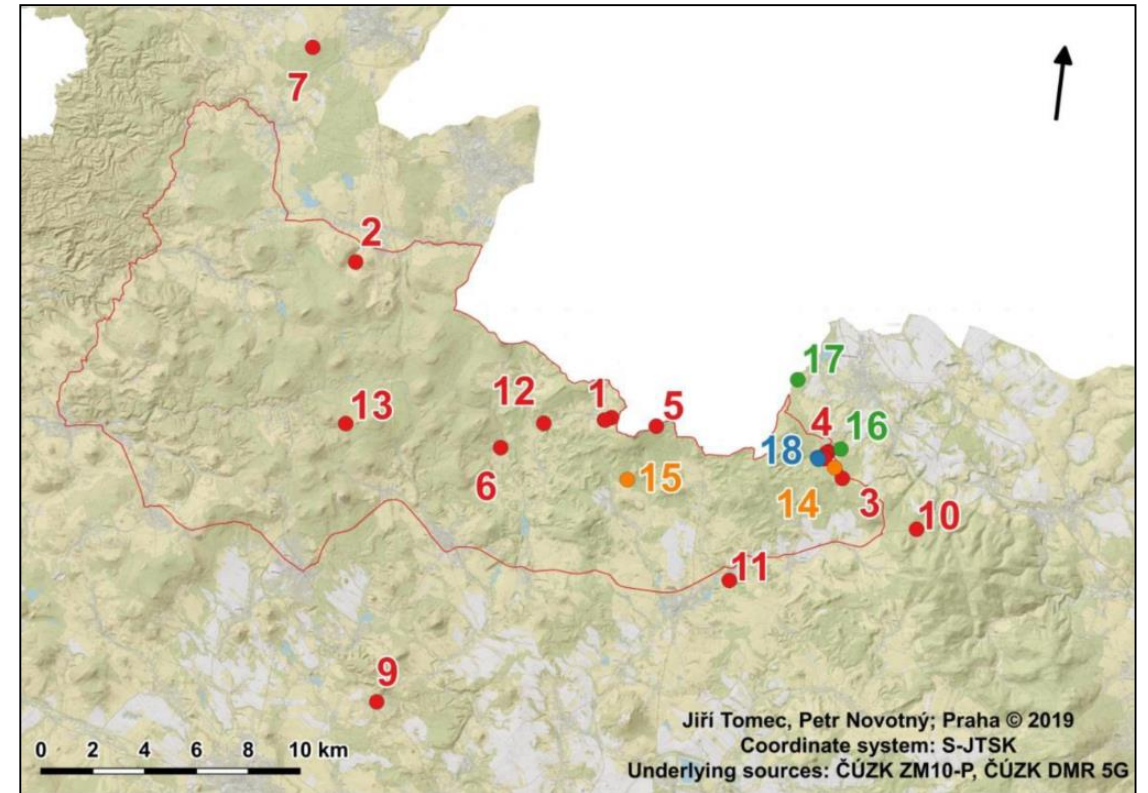
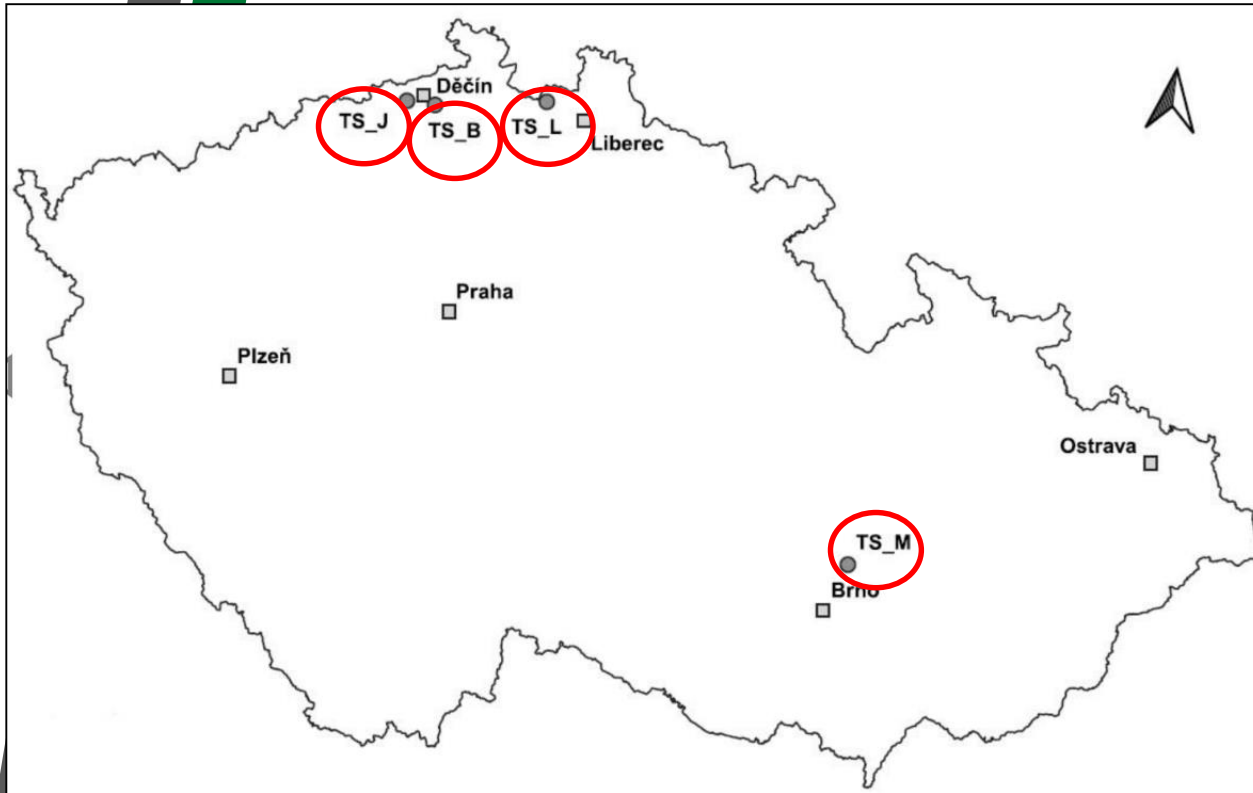


Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Forests cover 33.8% of the total area of the Czech Republic [1], with a major proportion comprising Norway spruce, Scots pine, and European beech. Shaped by past human activities, most Czech forests have lost their original biodiversity, even at the tree species level. One type of tree that previously had a higher abundance is undoubtedly *Taxus baccata* L. (common yew), a long-lived dioecious species that is well known for its taxol content [2], which is significant for the treatment of cancer from a pharmaceutical point of view. In the Czech Republic, there are a number of isolated localities (almost obligatorily declared as specially protected areas) that contain a total of about 13,000 yews, but it is mostly in limited numbers. The largest populations in Bohemia are the Křivoklátsko Protected Landscape Area (PLA), which has approx. 3000 individuals, the Vltava River Region (approx. 2000), the foothills of the Šumava Mountains (hundreds), and the Lužické (Lusatian) Mountains PLA (dozens); in Moravia, the largest populations are in the Moravian Karst PLA (approx. 3000) and the Svitavy Region (several hundred). The species is also used for ornamental gardening in cities, gardens, and parks. Originally, it was much more abundant, as evidenced by a number of toponyms. Today's small localities thus represent fragments of the original distribution [3]. Due to its slow growth rate and shorter height, *T. baccata* is outcompeted by *Abies*, *Fagus*, and *Picea* [4] and rarely occurs in large numbers. It is a plant species according to valid national Czech legislation (Act no. 395/1992 Coll.) and is classified as being a "highly endangered" species in the Red List of Vascular Plants of the Czech Republic [5], the common

Materiál

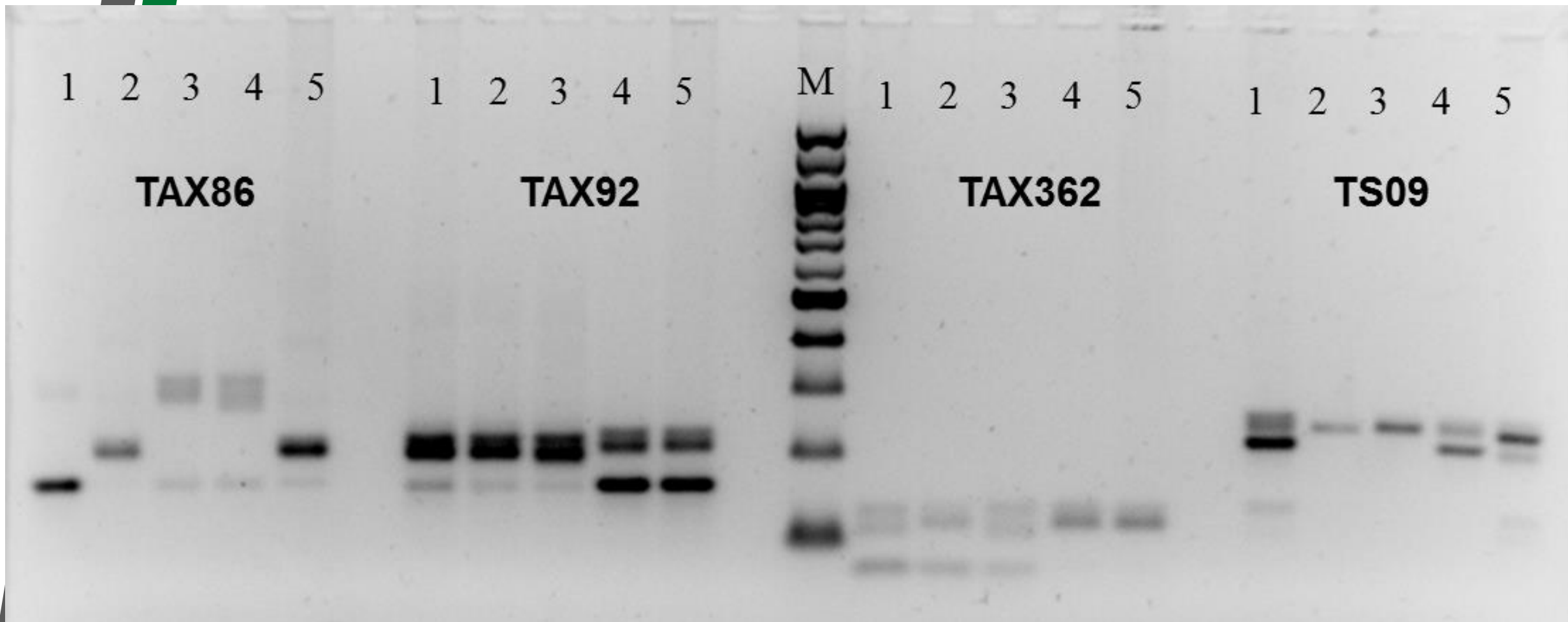


- **ČSOP ZO 32/10 Meles, LÚ Děčín, AOPK ČR (SCHKO Labské pískovce, SCHKO České středohoří, SCHKO Moravský kras)**

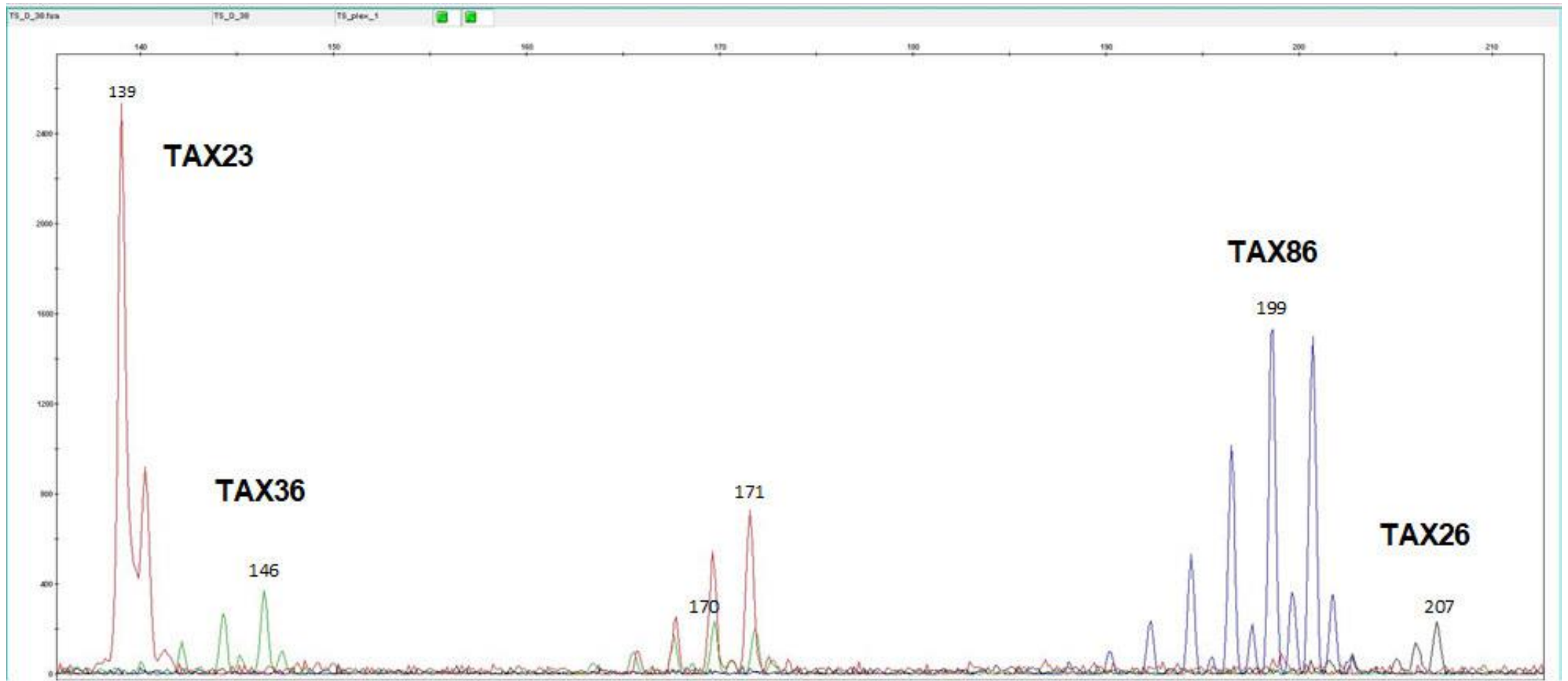
Postup analýzy DNA (Metodika)

	Location	Source Population Size (Trees More Than 1 m) ¹	Code of Population	Geographic Coordinates (WGS84)	Individuals Analysed
Seed Orchard Mařeničky	PLA Lužické (Lusatian) Mountains	150	TS_L	50°49'4.49776'' N; 14°50'58.00724'' E	40
	NM Jílovské yews	385	TS_J	50°45'21.87152'' N; 14°5'52.63455'' E	40
Natural Populations	NNR Březinské yews	176	TS_B	50°45'13.11222'' N; 14°15'1.90919'' E	40
	PLA Moravský Kras (Moravian Karst)	app. 2500	TS_M	49°20' 54.11839'' N; 16°43'0.07176'' E	45

- **Odběr vzorků** (2016, 2017)
- Pro analýzu DNA zvoleny **SSR markery** (patří k nejvariabilnějším oblastem genomu, umožňují rozlišit homozygoty a heterozygoty, ...)
- **Izolace DNA, vytipování 7 vhodných lokusů SSR** z literatury, optimalizace **PCR**
- **Všech 7 markerů** vykázalo **vysokou polymorfnost**
- Předběžné hodnocení na 2% agarózových gelech (šetření financí a kapacity)
- **Fragmentační analýza** produktů PCR s fluorescenčně značenými primery na genetickém analyzátoru
- **Sekundární analýza dat** s využitím programu GeneMapper 4.1
- Genetická **variabilita**, genetická **diferenciace** (GenAlEx v. 6.501, CERVUS 3.0.7), genetická **struktura** (STRUCTURE v. 2.3.4)



Elektroforetický gel pro **5 jedinců** TS (**1–5**) a **4 lokusy** DNA (markery **TAX86**, **TAX92**, **TAX362**, **TS09**) dokládající **vysokou polymorfnost** zvolených **markerů**; M – standard



Příklad výstupu programu GeneMapperR 4.1 pro multiplex 4 markerů u jedince TS_D_38 (markery **TAX23** a **TAX 36** – **HETEROzygot**, markery **TAX86** a TAX26 – **HOMOZYGOT**)

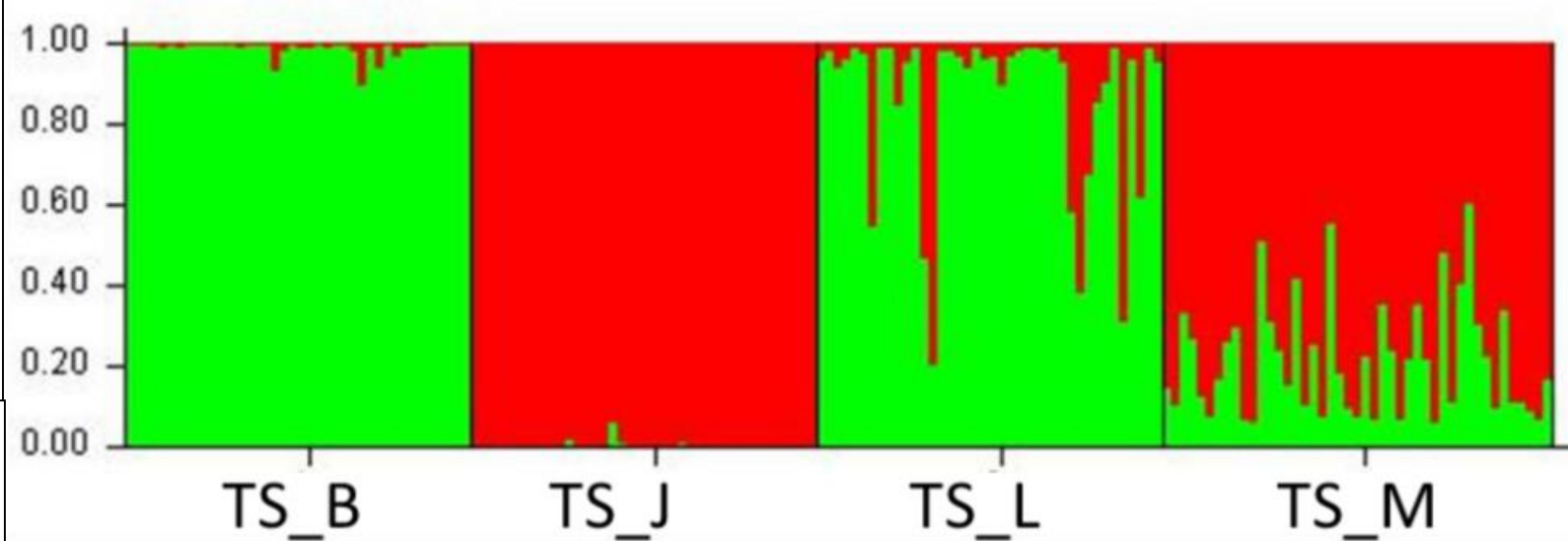
	Multiplex 1							
	DINUCLEOTIDE		DINUCLEOTIDE		DINUCLEOTIDE		DINUCLEOTIDE	
Sample name	TAX23		TAX26		TAX36		TAX86	
TS_M_1	141	141	203	203	126	126	293	295
TS_M_2	139	155	203	269	142	172	201	201
TS_M_3	139	183	241	245	128	156	105	113
TS_M_4	141	141	203	207	128	128	291	299
TS_M_5	139	183	203	245	128	128	295	295
TS_M_6	139	175	203	269	176	182	105	113
TS_M_7	139	151	203	249	156	182	105	113
TS_M_8	139	177	235	241	156	156	105	113
TS_M_9	139	171	203	203	126	126	293	293

Příklad odečtených **velikostí alel** u **9 jedinců tisu** z Moravského krasu pomocí programu GeneMapperR 4.1 (**identické velikosti** alel téhož vzorku v obou sloupcích barevně odlišených markerů značí **homozygotnost**, **rozdílné hodnoty heterozygotnost** daného lokusu)

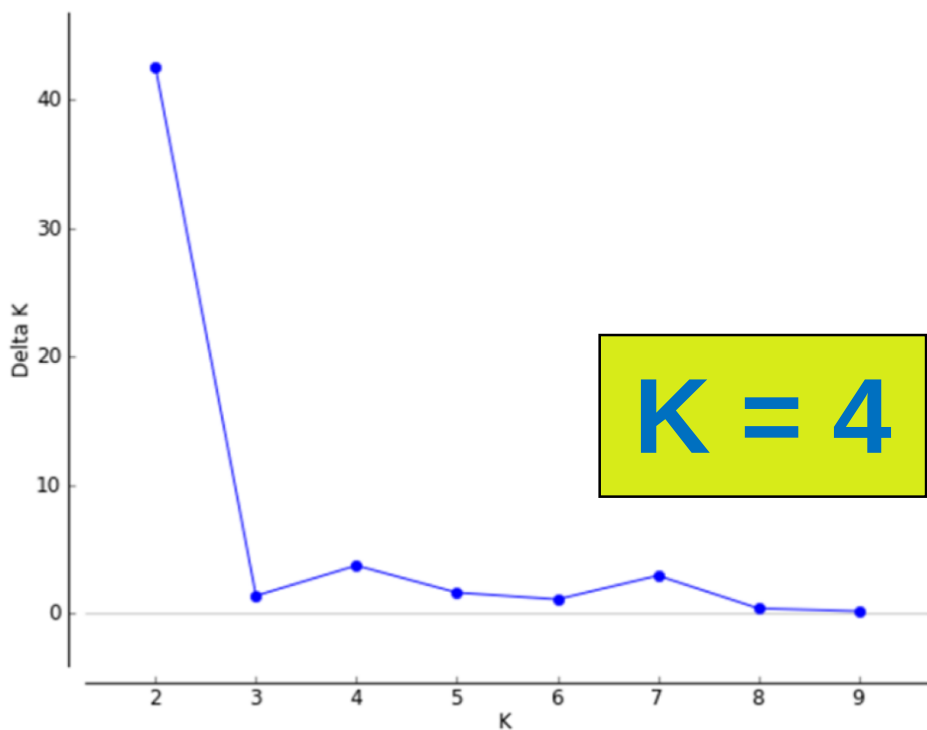
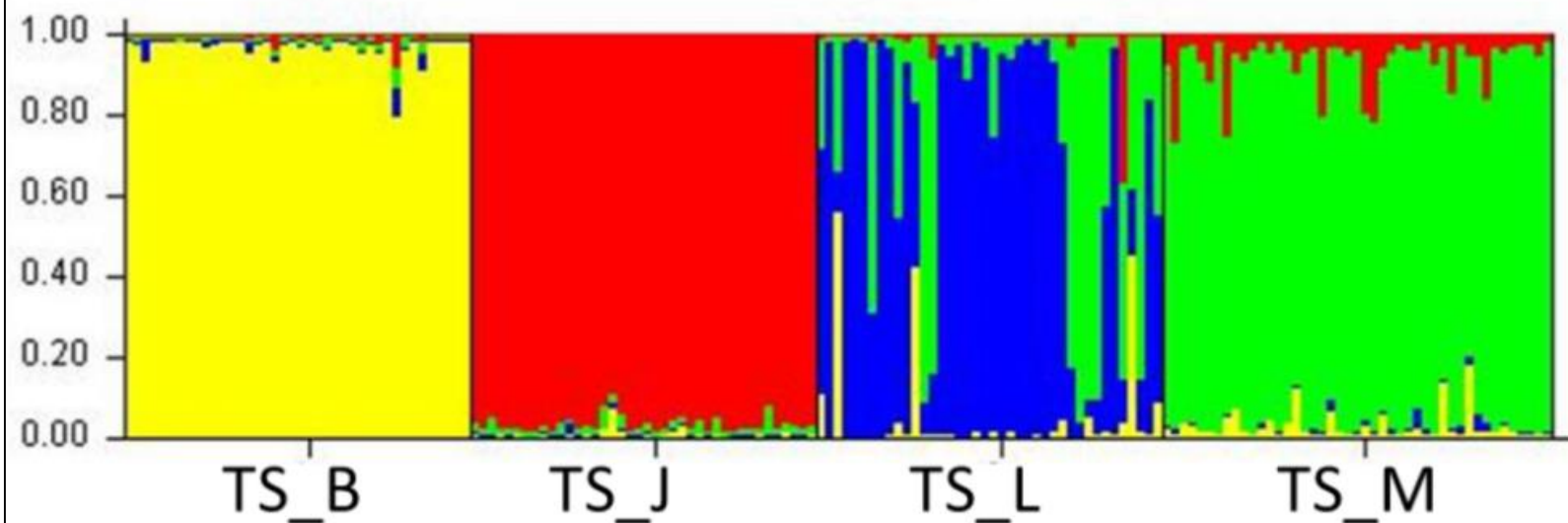
Výsledky:

- Zjištěna **dostatečná genetická diverzita** sledovaných **dílčích populací**
- Zjištěna **nižší až střední míra genetické diferenciace** mezi populacemi ve srovnání s hodnotami pro jiné evropské populace (nicméně vyšší než u jiných domácích dřevin, např. SM, BK)
- Analýza **genetické struktury** naznačila jako **optimum 2** shluky (populace), **maximálně pak 4 dílčí populace**; nejbližší k Lužickým horám jsou Březinské tisy

K = 2



K = 4



Grafický výstup s využitím STRUCTURE HARVESTER WEB v. 0.6.94

Závěry:

- Nezařazovat Jílovské a Březinské TS do SS
- Maximálně **početně namnožit LH populaci** = zvýšit genetickou diverzitu (1. krok)
- **Hybridizace** s jinými zbytkovými populacemi v ČR až **přirozeně** expanzí

Děkujeme za pozornost:

pnovotny@vulhm.cz, komarkova@vulhm.cz, cvrckova@vulhm.cz, machova@vulhm.cz

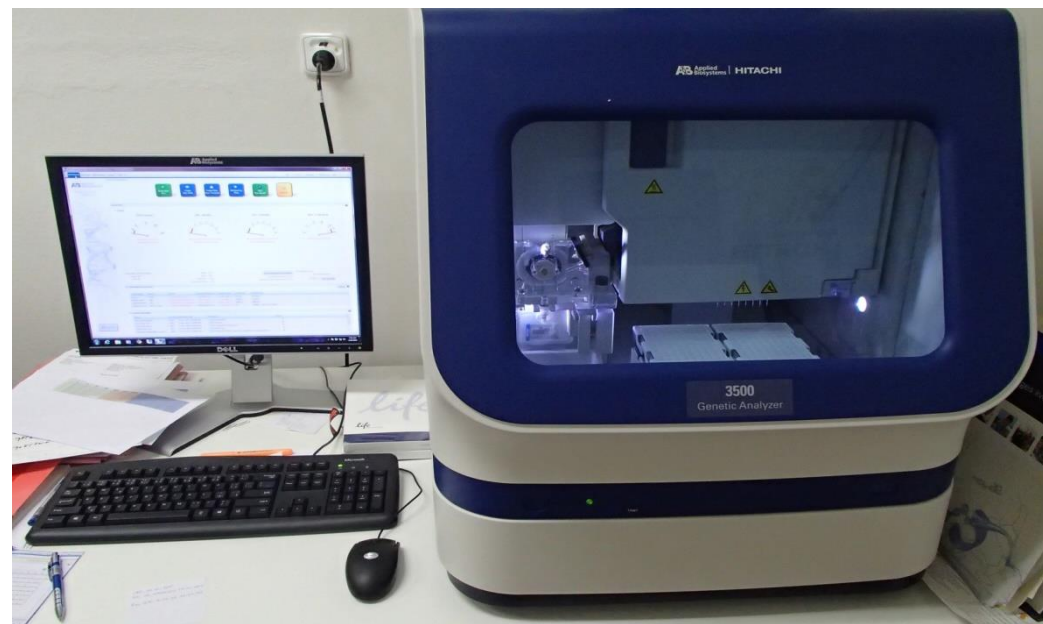
KOMÁRKOVÁ M., NOVOTNÝ P., CVRČKOVÁ H., MÁCHOVÁ P. 2022. The genetic differences and structure of selected important populations of the endangered *Taxus baccata* in the Czech Republic. *Forests*, 13 (2) 137.

MÁCHOVÁ P., KOMÁRKOVÁ M., NOVOTNÝ P. 2020. Genetická proměnlivost zakládaného semenného sadu tisu červeného (*Taxus baccata* L.) v Lužických horách. Laboratorní zpráva. Strnady, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti: 15 s., přílohy. MS, Dep.: VÚLHM.

MAYOL M. et al. 2015. Adapting through glacial cycles: insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*). *New Phytologist*, 208: 973–986.

ROMŠÁKOVÁ I. 2007. Genetic variability of populations of English yew (*Taxus baccata* L.). In: Ohrožené dřeviny České republiky. *Geobiocenologické spisy*, 12: 124–133.

ZATLOUKAL V. et al. 2001. *Inventarizace a genetická diverzita tisů červeného ve ZCHÚ ČR jako podklad pro záchranná opatření a pro jeho reintrodukcii. Závěrečná zpráva grantu VaV/610/1/99 – 3.2. za léta řešení 2000–2001.* Vimperk, Správa NP a CHKO Šumava: 119 s.



Výzkumný ústav
lesního hospodářství
a myslivosti, v. v. i.