

GENETICKÁ CHARAKTERIZACE TISU ČERVENÉHO (*TAXUS BACCATA* L.) V ŠIRŠÍ OBLASTI PODYJÍ/THAYATAL A NA SVITAVSKU S VAZBOU NA OCHRANÁŘSKÝ MANAGEMENT

GENETIC CHARACTERIZATION OF COMMON YEW (*TAXUS BACCATA* L.) IN WIDER AREA OF THE PODYJÍ/THAYATAL AND IN THE SVITAVY REGION WITH A LINK TO CONSERVATION MANAGEMENT

PETR NOVOTNÝ¹⁾ ✉ - MARTINA KOMÁRKOVÁ¹⁾ - JAROSLAV PONIKELSKÝ²⁾ - HELENA CVRČKOVÁ¹⁾ - JAROSLAV DOSTÁL¹⁾ - PAVLÍNA MÁCHOVÁ¹⁾

¹⁾ Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Strnady 136, 252 02 Jíloviště, Czech Republic

²⁾ Správa národního parku Podyjí, Lesní správa Podmolí, 669 02 Podmolí 90, Czech Republic

✉ e-mail: pnovotny@vulhm.cz

ORCID: P. Novotný 0009-0008-0740-9470

H. Cvrčková 0009-0002-9220-706X

P. Máchová 0009-0002-7615-3217

ABSTRACT

The aim of the work is to determine the genetic diversity, genetic differentiation and genetic structure of subpopulations of the specially protected common yew in the area of South Moravian Podyjí (Czech Republic), Thayatal (Austria) and in the Svitavy region (Czech Republic) using DNA analyses (nSSR-nuclear Simple Sequence Repeats). The subjects of the analyses were yews of 1) natural occurrences in the territory of the Podyjí National Park (NP), 2) cultural origin in the Podyjí NP, 3) natural occurrences in the Thayatal NP (Austria), 4) natural occurrences outside the Podyjí NP, and 5) cultural origin in the Podyjí region outside the NP. For the comparison and better interpretation of results there also were analysed geographically more distant subpopulations, 6) natural occurrences in the Hřebečský ridge (NW Moravia), 7) cultural yew occurrences in the Svitavy region (NE Bohemia & NW Moravia), 8) natural occurrences in the Jílovské yews (N Bohemia), and 9) natural occurrences in the Moravian Karst (S Moravia). We observed higher level of genetic diversity ($H_o = 0.54$; $H_e = 0.77$), the F_{ST} with ENA correction ranged from 0.007 to 0.123. According to a STRUCTURE analysis, high genetic similarity was observed between samples from the Podyjí NP and Hřebečský ridge. The impact of the analysis results on the conservation management of tested populations was outlined.

For more information see Summary at the end of the article.

Klíčová slova: *Taxus baccata*; zachování genofondu; molekulární genetika; analýzy DNA; zvláště chráněné rostliny; Česká republika

Key words: *Taxus baccata*; gene pool conservation; molecular genetics; DNA analyses; specially protected plants; Czech Republic

ÚVOD

Tis červený byl v minulosti z různých příčin dlouhodobě vytlačován na méně přístupná extrémní stanoviště a postupně se stal silně ohroženým rostlinným druhem. Do současnosti (ZATLOUKAL et al. 2013; ÚRADNÍČEK et al. 2017) se v České republice zachovalo jen několik významnějších oblastí přirozeného výskytu a větší počet drobných lokalit, převážně v chráněných územích. Na druhé straně jsou poměrně časté tisy kulturního, většinou blíže neurčeného původu, vysazované v minulosti i současnosti v rámci okrasného zahradnictví a parkovnictví, které jsou z pohledu ochrany přírody a krajiny významné

vzhledem k možným negativním vlivům (křížení, genetická eroze) na dochovaný genofond přirozených populací (zdroj pylu a semen nesoucích pohlavní buňky, v jejichž DNA jsou zastoupeny z hlediska místních populací cizorodé alely genů). Zatímco opylování tisu zajišťuje vítr (anemogamie), semena jsou šířena endozoochoricky, tj. požitím ptáky či savci, projitím jejich trávicím traktem a následným vyloučením v nestrávené podobě spolu s exkrementy.

Některé zbytkové populace tisu v ČR dosud trpí nepříznivými následky (pokles vitality a početnosti) dříve aplikovaného tzv. konzervačního (statického) pojetí ochrannářského „managementu“, jehož hlavní

zásadou bylo nezasahovat do vývoje předmětu ochrany, tj. zejména eliminovat veškeré lidské intervence. Novodobá druhová ochrana však již disponuje bázi odborných poznatků oboru biologie ochrany přírody (např. PRIMACK et al. 2001, 2011), což se mj. odráží v moderních *in situ* i *ex situ* aplikacích aktivního (dynamického) managementu populací, který již standardně využívá i postupy molekulárně genetických analýz (v případě tisů červeného např. ROMŠÁKOVÁ 2007; ROMŠÁKOVÁ, PAULE 2009; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al. 2010; MAYOL et al. 2015; LITKOWIEC et al. 2018; KOMÁRKOVÁ et al. 2022; HEMAT-ZADEH et al. 2023).

K poznání historického rozšíření tisů v regionu Podyjí přispěla řada prací. Již v roce 1867 zastihl v revíru Braitava několik pěkných stromů NIESSL (1868). Řídkou přítomnost tisů ve stinných lesích a hlubokých roklicích v oblasti Braitavy u Vranova, v údolích Dyje, resp. Fugnitzu u Hardeggu a údajně i Želetavy u Vranova zmiňuje OBORNÝ (1879), na nějž postupně navázali další autoři (HAYEK 1914; PODPĚRA 1924; PROCHÁZKA, PILÁT 1928; UHROVÁ 1929; ROSENKRANZ 1934; FIETZ 1942; OPRAVIL 1967; HOFMAN 1969a; HOFMAN, VÁCKOVÁ 1969; MÁLEK 1972; GRULICH 1986, 1997; ZATLOUKAL et al. 2001, 2013; VRŠKA, ADAM 2005a, 2005b; MACKOVČIN et al. 2007; NĚMEC, NĚMCOVÁ 2010, 2014a, 2014b; NĚMEC 2011, 2021; NĚMEC et al. 2014). Aktuální stav znalostí lokalit zachycuje databáze české flóry a vegetace Pladias (www.pladias.cz), která zahrnuje i data z mapování biotopů ČR. Na území národního parku (NP) Podyjí a NP Thayatal roste v současnosti tis vzácně na zastíněných úpatích suťových svahů v inverzních polohách na pravém břehu Dyje mezi Braitavou a Hardeggem a dále před Umlaufbergem, na levém břehu pak v okolí Hardeggské vyhlídky a Širokého pole (NĚMEC 2021). Tvoří zde součást keřového patra asociace *Tilio cordatae-Fagetum*, která byla zmapována na severních svazích v západní části území, kde zůstala dodnes zachována antropicke relativně nenarušená, někdy až pralesovitá společenstva (CHYTRÝ, VICHÉREK 2000).

Aktuální informaci o stavu lokalit v NP Podyjí a v širším okolí podal na základě vlastních poznatků PONIČEKSKÝ (2022). Již v roce 1998 provedl Ing. P. Vančura průzkum výskytu tisů v území, vč. zaměření jejich polohy a zpracování geoinformační vrstvy. V době zahájení aktivního managementu v roce 2015 sestávala zbytková populace v NP Podyjí pouze ze 2 souší, 1 odumírajícího a 20 ± vitálních, převážně samčích jedinců na celkem 4 lokalitách (Braitava, Gáliš, Široké pole, prostor levého břehu Dyje naproti Hardeggu), přičemž pouze na Gáliši a Braitavě byl zjištěn i výskyt semenáčků, z nichž ca 40 jich bylo později ochráněno oplocením (PONIČEKSKÝ 2022). Před zahájením záchranného managementu by se tak z hlediska charakteru a rizikovosti jednalo o slabou, nicméně dosud životaschopnou populaci s četností 30–100 jedinců, i když z pohledu efektivní velikosti populace N_e (i s ohledem na dvoudomost tisů) reálně spíše o neživotaschopný fragment s četností do 20 jedinců (JELÍNKOVÁ, ZATLOUKAL 2001). V rámci řízeného posilování této populace bylo proto v letech 2015–2023 na vhodná stanoviště vysazeno již 340 výpěstků místního, převážně generativního původu. Mnohem četnější přirozené výskyty se nacházejí na protilehlé straně Dyje v rakouském NP Thayatal, kde byly recentně pozorovány minimálně desítky vitálních dospělých, převážně samičích tisů (PONIČEKSKÝ 2022), spíše zde však odhadem rostou řádově stovky jedinců stromovitěho vzrůstu (podrobná inventarizace není dle sdělení rakouské strany k dispozici).

V moravské části Podyjí mimo území NP rostou další dospělé tisy v suťových lesích svazu *Tilio-Acerion* v přírodní rezervaci (PR) Bílý kříž (ca 15 ks) a PR Tisová stráž (ca 30 ks), které jsou obě součástí širšího porostního pásu s přírodě bližším charakterem táhnoucího se podél obou břehů Dyje zhruba od Uherčic k Vranovu nad Dyjí. Do tohoto pásu spadá rovněž osamocený výskyt vzrostlého samčího tisů na lokalitě Kolikron naproti ostrohu Babka v katastrálním území Jazovice (obr. 1). Jde pravděpodobně o ve starší literatuře zmiňovaný výskyt Jazovice. Přirozená společenstva s výskytem tisů (CHYTRÝ, VICHÉREK

2000) se v okolí Vranovské přehrady a Uherčicka vyskytují pouze ojediněle a jejich potenciální souvislý výskyt začíná až v oblasti Českomoravské vrchoviny na Jemnicku a Moravskobudějovicku. Z Jemnicka (u Budkova) historický výskyt tisů nepřímo dokládá zmínka z roku 1360 o zaniklé osadě Tisová (MÁLEK 1984). Směrem na západ byly bučiny s pravděpodobnou příslušností k *Tilio cordatae-Fagetum* zjištěny na Dyji v okolí Kolmitzdörf, mezi městy Raabs a Drosendorf. Asociace byla dříve uváděna jen ze submontánních poloh středních, jižních a severozápadních Čech, podobná společenstva z Rakouska byla popsána z dunajské terasy mezi obcemi Haslau a Regelsbrunn ze 160 m n. m. a z údolí řeky Kamp (CHYTRÝ, VICHÉREK 2000). Na historický výskyt tisů odkazuje také název hradu a osady Eibenstein na Dyji poblíž Drosendorfu. Nověji řadí BOUBLÍK et al. (2013) podyjské výskyty tisů zejména k asociaci *Seslerio albicantis-Tilietum cordatae* (pěchavové skalní lipiny), v níž je tis jedním z diagnostických druhů. Vzácný výskyt asociace je vázán na vápencové oblasti v nižších polohách ČR (Džbán, Krivoklátsko, Český, Moravský a Javoříčský kras, údolí Oslavy, Jihlavy, Rokytne, Jevišovky na jz. Moravy, Pálava), přilehlé části Dolních Rakous (údolí Dyje a Fugnitzu u Hardeggu) a okraj hornorakouských vápencových Alp u Travenského jezera (Traunsee).

Z důvodu přiblížení v metodické části je výzkum směřován i na tzv. mladějovské tisy rostoucí v suťových lesích a květnatých bučinách na Hřebečském hřbetu v přírodní památce (PP) Pod Skálou a PR Hřebečský les a na nejvýznamnější tisy kulturního původu na Svitavsku (např. OTT 1852; LEDEL 1922; PROCHÁZKA, PILÁT 1928; UHROVÁ 1929; SKUTIL 1937; FIETZ 1942; HOFMAN 1966, 1969a, 1969b; KÜHN 1968; MACÁK 1971; ZATLOUKAL et al. 2001, 2013; BIS 2005; BAČOVSKÝ 2012; AOPK 2018; ŠIMEK 2018). Z dosud geneticky charakterizovaných domácích lokalit (KOMÁRKOVÁ et al. 2022) byla pro srovnání zvolena ještě geograficky vzdálenější PP Jílovské tisy na Děčínsku, kde je tis rovněž přimíšen v suťových lesích (např. HOFMAN 1966; ZATLOUKAL et al. 2001, 2013; BUK et al. 2013; KRIVÁNEK, NOVÁK 2023) a také geograficky blízká a podle analýz enzymových systémů (ZATLOUKAL et al. 2001) nejpříbuznější subpopulace Moravský kras (např. PROCHÁZKA, PILÁT 1928; HOFMAN 1950a, 1950b, 1966, 1969b; ČEŘOVSKÝ 1954; ŠVEHLOVÁ 1997; ZATLOUKAL et al. 2001, 2013; AOPK 2019).

Tato práce si klade za cíl stanovit s využitím analýz DNA (nSSR) genetickou diverzitu, strukturu a diferenciaci tří geograficky blízkých přirozených výskytů tisů červeného (NP Podyjí, oblast vně NP Podyjí, NP Thayatal) a regionálních souborů tisů s předpokládaným kulturním původem za účelem srovnání s jinými domácími zbytkovými subpopulacemi, což v další fázi na základě srovnání s excerpovanými historickými informačními zdroji umožní objektivními argumenty podložené nastavení vhodného aktivního ochrannářského managementu (regionálního akčního plánu) podyjské tisové populace.

MATERIÁL A METODIKA

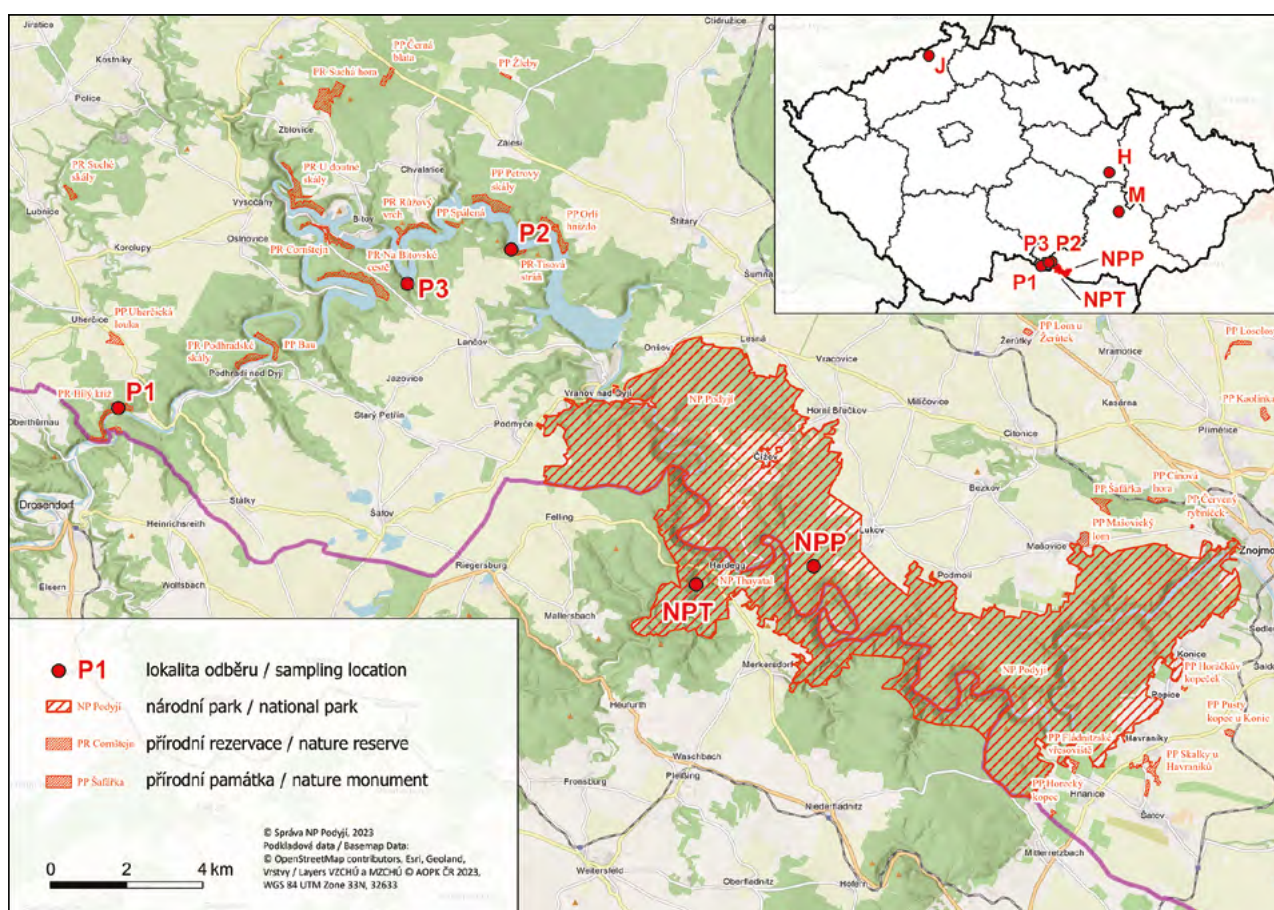
V letech 2021 a 2022 byly se souhlasem příslušných orgánů ochrany přírody ČR a Rakouska odebrány soubory vzorků (rašicích jehlic) přirozeně rostoucích tisů z lokalit 1) uvnitř NP Podyjí (NPP), dále 2) z údolí Dyje, Fugnitzu a z lokality Einsiedler v NP Thayatal (NPT), 3) z PR Bílý kříž (P1), PR Tisová stráž (P2), z lokality Kolikron (P3), 4) z tisů kulturního původu na lokalitách Lukov a Znojmo na území NP Podyjí (NPPK), resp. 5) v jeho širším okolí na lokalitách pod Mitrovem, naproti ostrohu Babka, u hradu Bítova a na Cínové hoře u Znojma (PK). Pro možnost srovnání byly dále odebrány vzorky z geograficky vzdálenější dílčí populace 6) v oblasti Hřebečského hřbetu (H), 7) z kulturních výskytů na Svitavsku (HK), 8) z PP Jílovské tisy nedaleko Děčína (J) a 9) z národní přírodní rezervace (NPR) Vývěry Punkvy v Moravském krasu (M). Hřebečský hřbet, Svitavsko a Moravský kras byly vybrány na základě literárních údajů, které naznačují určitou spřízněnost těchto výskytů s Podyjím, zatímco Jílov-

ské tisy byly zvoleny z důvodu jejich relativní odlehlosti a předpokládané větší genetické vzdálenosti. Celkem byly analýzy provedeny u vzorků odebraných z 270 jedinců (tab. 1 a 2).

Kde to počet tisů na lokalitách umožňoval, byla mezi souřadnicově zaměřenými a označenými donory vzorků pro potřeby genetických analýz dodržována minimální vzdálenost 100 m. V ostatních případech byl pro docílení většího počtu analyzovaných jedinců vzájemný rozestup redukován na 30 m, někdy dokonce i méně. Odebrané vzorky (čerstvě vyrašené jehlice) byly v terénu složeny do termobatohů, v nichž byla udržována snížená teplota pomocí zmrazených kaplí s kapalinou o dlouhé době tání. K dalšímu zpracování do laboratoře byl odebraný materiál transportován v elektrické autochladničce při ca 5 °C.

DNA byla izolována z 20 mg lyofilizovaných jehlic pomocí kitu DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Germantown, MD, USA) dle pokynů výrobce. Koncentrace a čistota izolované DNA byly stanoveny spektrofotometricky na přístroji MaestroNano (MaestroGen Inc., Taiwan).

Genetická analýza všech vzorků tisů byla provedena s využitím publikovaných SSR (Simple Sequence Repeats) markerů (DUBREUIL et al. 2008; CHYBICKI et al. 2011). Byly zvoleny dinukleotidové SSR markery, které vykazovaly jasné a reprodukovatelné amplifikační produkty, konkrétně TAX23, TAX26, TAX36, TAX86, TAX92, TS09 a TAX362 (tab. 3). Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla s ohledem na velikost alel daných markerů realizována ve dvou multiplexech, TAX362 byl z důvodu odlišných podmínek PCR amplifikován samostatně. Celkové množství reakční směsi na 1 vzorek bylo 15 µl a sestávalo z 1 µl templátové DNA (10–50 ng), 1,5 µl PCR pufru (Mg-free), 0,2 mM mixu nNTPs (Takara Bio Inc., Otsu, Shiga, Japan), 2 mM MgCl₂, 0,37 U Platinum® Taq DNA polymerázy (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), mixu primerů příslušného multiplexu a RNase-free vody pro molekulární biologii (SigmaAldrich, St. Louis, MO, USA). Koncentrace fluorescenčně označených primerů k markerům TAX26 a TAX92 byla 0,1 µM, k markerům TAX23, TAX36, TAX362, TS09 a TAX86 pak 0,2 µM. Podmínky PCR pro oba multiplexy byly následující: úvodní denaturace DNA 5 min při 94 °C, dále probíhalo



Obr. 1.

Zájmová oblast výzkumu: NP Podyjí (NPP), NP Thayatal (NPT), PR Bílý kříž (P1), PR Tisová stráň (P2), Kolikron (P3); ve výřezu mapa správních celků České republiky s lokalizací srovnávacích zdrojů vzorků – Hřebečského hřbetu (H), PP Jílovské tisy nedaleko Děčína (J) a národní přírodní rezervace Vývěry Punkvy v Moravském krasu (M)

Fig. 1.

Research area: NP Podyjí (NPP), NP Thayatal (NPT), PR Bílý kříž (P1), PR Tisová stráň (P2), Kolikron (P3); check the map (top right) of administrative units of the Czech Republic with the localization of comparative sources of samples – the Hřebeč Ridge (H), the Jílovské tisy Natural Monument near Děčín (J) and the Vývěry Punkvy National Nature Reserve in the Moravian Karst (M)

35 cyklů ve třech opakujících se krocích: 1) 30 s při 94 °C (denaturace), 2) 40 s při 58 °C (nasedání primerů), 3) 40 s při 72 °C (elongace) a finální krok 20 min při 72 °C. Pro lokus TAX362 byly použity stejné podmínky amplifikace, pouze teplota pro nasedání primerů byla vyšší, a to 61 °C. Fluorescenčně označené produkty PCR byly spolu s velikostním standardem (GeneScan™ 600 LIZ®, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) smíchány s formamidem (Hi-Di™ Formamide, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), denaturovány 3 min při 94 °C a ihned zchlazeny na ledu. Následně proběhla fragmentační analýza s využitím genetického analyzátoru Applied Biosystems 3500 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Velikost alel byla vyhodnocena v programu GeneMapper® 4.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Většina parametrů popisujících genetickou diverzitu (např. počet alel, Shannonův informační index, heterozygotnost, fixační index, Neiova vzdálenost) byla vyhodnocena pomocí programu GenAlEx v. 6.503 (PEAKALL, SMOUSE 2012). Polymorfni informační obsah (PIC), očekávaná a pozorovaná heterozygotnost pro sledované markery byly určeny programem CERVUS v. 3.0.7.

Frekvence nulových alel a hodnoty genetické diferenciace F_{ST} (Pairwise Population F_{ST} Values) se zohledněním korekce nulových alel byly vyhodnoceny programem FreeNA (CHAPUIS, ESTOUP 2007). Pro hodnocení vzájemné genetické diferenciace mezi zkoumanými soubory tisíců byla využita následující stupnice: nízká míra při $F_{ST} < 0,05$, střední míra při $0,05 < F_{ST} < 0,15$ a vysoká míra při $F_{ST} > 0,15$ (WRIGHT 1965). Pro porovnání genetických rozdílů mezi testovanými soubory vzorků na základě jejich alelických frekvencí byla provedena analýza STRUCTURE, a to v programu STRUCTURE v. 2.3.4 (PRITCHARD et al. 2000; FALUSH et al. 2003; HUBISZ et al. 2009) s využitím Bayesian-ské shlukové analýzy dat a modelu LockPrior. Parametry analýzy byly následující: počet klastřů (K) = 1–11 s 10 nezávislými běhy pro každý K , smíšený model, korelované alelické frekvence. Burn-in perioda byla nastavena na délku 10 000 opakování s následným Markovovým řetězcem Monte Carlo (MCMC) se 100 000 opakováními. Za klastrovací modelovací program pro určení optimální hodnoty K byl vzhledem k nehomogenní velikosti srovnávaných souborů zvolen webový

software Structure Selector (LI, LIU 2018), v němž je implementována metoda CLUMPAK (KOPELMAN et al. 2015).

VÝSLEDKY

Výsledky analýz SSR markerů jsou uvedeny v tabulce 4. Markery u zkoumaných jedinců tisu červeného vykazovaly vysoký stupeň polymorfismu, kdy se počet alel pohyboval od 13 (TAX23) až do 48 (TAX92). Průměrná hodnota polymorfniho informačního obsahu (PIC) byla 0,84. Markery jsou klasifikovány jako informativní, pokud hodnota PIC je $\geq 0,5$ (SHARMA et al. 2010), všechny markery byly vysoce informativní (0,71–0,95). Průměrný počet alel pro každý lokus se u sledovaných souborů pohyboval v rozmezí 6,5 (TAX23) až 15,2 (TAX92), Shannonův informační index diverzity dosahoval nejvyšší hodnoty u markeru TAX92 (2,27), nejnižší u markeru TAX23 (1,38). Hodnoty pozorované heterozygotnosti H_o byly ve všech případech nižší než hodnoty očekávané heterozygotnosti H_e . Fixační indexy se u většiny použitých markerů pohybovaly v kladných hodnotách (0,26–0,59) až na marker TAX23, u kterého vyšel F záporný.

Základní charakteristiky genetické struktury populací tisu jsou uvedeny v tabulce 5. Průměrný počet rozdílných alel N_a v rámci souborů byl nejvyšší u dílčí populace M (17,14) a nejnižší u dílčí populace P1 (5,00). Při zohlednění velikostí zkoumaných souborů vzorků z různých lokalit (srovnatelnou velikost mají pouze dílčí populace NPP, NPT, H, J, M) byl nejmenší N_a zjištěn u dílčí populace J (10,29). Shannonův informační index se pohyboval v rozmezí 1,34–2,30. Privátní alely byly nalezeny ve všech souborech kromě P1. Nejvíce jich bylo zjištěno v dílčí populaci M (17), nejméně v souboru NPPK (2). U velikostně srovnatelných souborů byla průměrná frekvence privátních alel nejvyšší u dílčí populace M a nejmenší u dílčí populace H. Průměrná H_o u sledovaných lokusů v celém souboru vzorků (0,54) byla ve všech případech nižší než průměrná H_e (0,86).

Párové hodnoty Neiovy genetické vzdálenosti mezi soubory vzorků se pohybovaly od 0,22 do 0,91. Graficky jsou vyjádřeny ve výstupu analýzy hlavních koordinát PCoA (obr. 2). Nejvyšší genetickou vzdálenost

Tab. 1.

Přehled analyzovaných dílčích populací/souborů (NP = národní park, NPR = národní přírodní rezervace, PR = přírodní rezervace, PP = přírodní památka)

Tab. 1.

Overview of analysed subpopulations/sets (NP = national park, NNR = national nature reserve, NR = nature reserve, NM = natural monument)

Subpopulace/Subpopulation	Označení/Code	Velikost/Size*	Velikost vzorku/Sample size
NP Podyjí (CZ)	NPP	desítky/dozens	43
NP Podyjí (kulturní výskyty/cultural occurrences)	NPPK	–	8
NP Thayatal (A)	NPT	stovky/hundreds	45
Podyjí (přirozené výskyty mimo NP/natural occurrences outside the NP):		desítky/dozens	
– PR Bílý kříž/NR Bílý kříž	P1	ca 15	6
– PR Tisová stráž/NR Tisová stráž	P2	ca 30	23
– Kolikron	P3	1	1
Podyjí (kulturní výskyty/cultural occurrences)	PK	–	13
Hřebečský hřbet/ridge	H	333	40
Svitavsko/Svitavy region (kulturní výskyty/cultural occurrences)	HK	–	6
PP Jílovské tisy/NM Jílovské yews	J	385	40
NPR Vývěry Punkvy/NNR Vývěry Punkvy	M	ca 2 000	45

*Podle/According to: ZATLOUKAL et al. (2013), AOPK (2019), PONIČELSKÝ (2022)

Tab. 2.

Podrobnější identifikace kulturních výskytů

Identification of cultural occurrences in more detail

NP Podýjí (kulturní výskyty/cultural occurrences) NPPK	
Lukov, vzrostlý samičí exemplář v zahradě domu č. p. 42/ Lukov, a full-grown female specimen in the garden of house No. 42	
Znojmo, m. č. Kuchařovice, 3 vzrostlé samičí tisy v areálu městského zahradnictví/ Znojmo, Kuchařovice, 3 grown female yews in the area of municipal gardening	
Znojmo, vzrostlý samčí jedinec v areálu Povodí Moravy (Kramerova vila)/ Znojmo, a full-grown male individual in the area of Povodí Moravy (Kramer Villa)	
Znojmo, semenáč na skále pod Znojemským hradem/ Znojmo, seedling on a rock below Znojmo Castle	
Znojmo, dospělý tvarovaný samičí tis u vstupu do Znojemského hradu (poblíž Rotundy sv. Kateřiny)/ Znojmo, adult shaped female yew at the entrance to Znojmo Castle (near the Rotunda of St. Catherine)	
Lukov, menší jedinec neurčeného pohlaví v zahradě u zdi domu č. p. 28/ Lukov, a smaller individual of undetermined sex in the garden by the wall of house No. 28	
Podýjí (kulturní výskyty/cultural occurrences) PK	
Silnice pod Mitrovem, výsadba 2 jedinců u kapličky/ Road under Mitrov, planting 2 individuals at the chapel	
Les naproti ostrohu Babka, 2 mladí jedinci z výsadby (výška ca 1,2 m)/ Forest opposite the promontory Babka, 2 young individuals from planting (height ca. 1.2 m)	
Hrad Bítov, parkán (2 dospělé exempláře), nádvoří (2 dospělí ořezávaní jedinci), zahrada – zookoutek nad jezírkem (mohutný samec), příkop u vstupní brány (2 mohutní silně ořezaní samčí jedinci)/ Bítov Castle, zwinger (2 adult specimens), courtyard (2 adult cropped individuals), garden – zoo above the small lake (giant male), moat at the entrance gate (2 giant heavily trimmed males)	
Bítov, skupina památných stromů různých druhů poblíž hradu u hranice PR U Doutné skály (vzrostlý dospělý samičí tis)/ Bítov, a group of memorial trees of various species near the castle at the border of Nature Reserve U Doutné skály (mature adult female yew)	
Cínová hora u Znojma, těleso kamenného mostku (dospělý samčí jedinec)/ Cínová Mount near Znojmo, body of a stone bridge (adult male)	
Svitavsko (kulturní výskyty/cultural occurrences) HK	
Dětřichov, hl. silnice ve směru na Opatovec, mohutný samičí tis po levé straně ca 30 m před domem č. p. 1/ Dětřichov, main road in the direction of Opatovec, a giant female yew on the left side about 30 m before the house No. 1	
Sklené, památný strom Tis U Havlů, před domem č. p. 24/ Sklené, memorial tree "Yew U Havlů", in front of house No. 24	
Moravská Třebová, zámek, nádvoří (2 samčí jedinci)/ Moravská Třebová, chateau, courtyard (2 males)	
Lanškroun, nám. A. Jirásky, vedle Svatojánské sochy/ Lanškroun, A. Jirásek Square, next to the Midsummer Statue	
Litomyšl, Dukelská, areál Střediska volného času/ Litomyšl, Dukelská street, Leisure Centre	

Tab. 3.

Stručná charakteristika použitých SSR markerů a podmínek PCR

Brief characteristics of used SSR markers and PCR conditions

	SSR marker	Opakovaný motiv/ Repeat structure	Velikost alel/Alele size (bp)	Nasedání primerů/ Annealing	Fluorescenční barvivo/ Fluorescent dye
Multiplex 1	TAX23	(GT) ₂₁	153–183	58 °C/40 s	PET
	TAX26	(GT) ₃₀	208–284	58 °C/40 s	NED
	TAX36	(GT) ₂₅	126–262	58 °C/40 s	VIC
	TAX86	(GT) ₃₄	152–304	58 °C/40 s	FAM
Multiplex 2	TAX92	(GT) ₂₄	160–280	58 °C/40 s	NED
	TS09	(TC) ₁₂	217–247	58 °C/40 s	VIC
	TAX362	(CA) ₁₉	85–119	61 °C/40 s	FAM

Tab. 4.

Genetické charakteristiky vybraných mikrosatelitových markerů pro 10 zkoumaných souborů tisů červeného (*PIC*: polymorfni informační index; N_a : průměrný počet rozdílných alel; I : Shannonův informační index; H_o : pozorovaná heterozygotnost; H_e : očekávaná heterozygotnost; F : fixační index); F_{null} : frekvence nulových alel)

Genetic characteristics of selected nuclear microsatellite loci across ten investigated *Taxus baccata* sets (*PIC*: polymorphic information index; N_a : average different alleles number; I : Shannon's information index; H_o : observed heterozygosity; H_e : expected heterozygosity; F : fixation index; F_{null} : null allele frequencies)

Lokus/ Locus	<i>PIC</i>	N_a	I	H_o	H_e	F	F_{null}
TAX23	0,71	6,5	1,38	0,74	0,74	-0,17	0,01
TAX26	0,85	10,6	1,82	0,52	0,86	0,35	0,13
TAX36	0,90	13,2	2,09	0,64	0,91	0,31	0,13
TAX86	0,90	11,8	2,04	0,56	0,91	0,27	0,13
TAX92	0,95	15,2	2,27	0,62	0,95	0,26	0,11
TS09	0,76	7,1	1,51	0,33	0,78	0,59	0,25
TAX362	0,84	8,4	1,74	0,39	0,86	0,50	0,22

Tab. 5.

Parametry popisující genetickou strukturu testovaných dílčích populací/souborů tisů červeného (N_a : průměrný počet rozdílných alel; I : Shannonův informační index; Privátní alely: průměrná četnost privátních alel; H_o : pozorovaná heterozygotnost; H_e : očekávaná heterozygotnost)

Parameters used to estimate the genetic structure of *Taxus baccata* local populations/sets (N_a : number of different alleles; I : Shannon's information index; Private alleles: mean frequency of private alleles; H_o : observed heterozygosity; H_e : expected heterozygosity)

Populace/ Population	N_a	I	Privátní alely/ Private alleles	H_o	H_e
NPP	14,43	2,07	1,43	0,56	0,82
NPPK	5,86	1,51	0,29	0,48	0,73
NPT	15,14	2,20	1,71	0,54	0,84
H	12,43	1,99	1,14	0,52	0,79
HK	6,43	1,69	0,57	0,57	0,78
P1	5,00	1,34	0,00	0,49	0,67
P2	8,86	1,67	0,43	0,55	0,74
PK	8,43	1,83	1,14	0,57	0,79
J	10,29	1,75	1,43	0,51	0,76
M	17,14	2,30	2,43	0,57	0,85

mají soubory NPPK a P1, nejnižší NPP a M. PCoA rovněž potvrzuje vyšší genetickou vzdálenost dílčích populací J a P1 od zbylých souborů.

Jediný exemplář tisů rostoucí na lokalitě Kolikron (P3) se lišil od ostatních sledovaných tisů velikostmi alel v 5 až 6 markerech ze 7 sledovaných.

Párové hodnoty F_{ST} vyjadřující vzájemnou genetickou diferenciaci mezi sledovanými soubory vzorků získané v programu FreeNA se zohledněním korekce nulových alel jsou uvedeny v tabulce 6. Pohybovaly se od 0,007 (soubory H vs. HK a HK vs. M) do 0,123 (populace P2 vs. J), což značí nízkou až střední genetickou diferenciaci (WRIGHT 1965).

V rámci analýzy STRUCTURE byl nejprve stanoven optimální počet klastrů pomocí programu Structure Selector, tj. hodnota $K = 3$ (obr. 3), což odpovídá strukturování vzorků do tří barevně odlišených klastrů. V grafickém výstupu analýzy (obr. 4) je každý jedinec v rámci dílčích populací (souborů) znázorněn svislým pruhem s podílem jednotlivých barev dle přiřazených klastrů. Soubory jsou mezi sebou odděleny černými linkami. Z profilů barev je patrné, že se struktura klastrů sledovaných souborů liší. U vzorků patřících do souborů NPP, H a HK má převahu modrý klast (90 %, 96 %, 78 %), u souborů NPPK a P2 oranžový klast (66 % a 95 %) a u dílčí populace J fialový klast (95 %). Dílčí populace NPT má téměř vyrovnané zastoupení modrého a oranžového klastru (modrý 54 %, oranžový 45 %, fialový 1 %), podobně jako soubor PK (modrý 49 %, oranžový 40 %, fialový 11 %) a dílčí populace M (modrý 39 %, oranžový 31 %, fialový 30 %). Dílčí populace P1 má vyrovnaný podíl modrého (46 %) a fialového klastru (42 %). Je patrné, že subpopulace J a P1 jsou výrazně odlišné od ostatních souborů (převaha fialového klastru).

Tab. 6.

Genetická diferenciaci (F_{ST}) mezi soubory tisů červeného při zohlednění korekce nulových alel

Genetic differentiation between sets of *Taxus baccata* based on F_{ST} with ENA correction for null alleles

Populace/ Population	NPP	NPPK	NPT	H	HK	P1	P2	PK	J
NPPK	0,046								
NPT	0,027	0,031							
H	0,033	0,053	0,031						
HK	0,013	0,041	0,021	0,007					
P1	0,062	0,090	0,075	0,061	0,037				
P2	0,074	0,048	0,058	0,070	0,049	0,099			
PK	0,044	0,030	0,028	0,045	0,033	0,089	0,062		
J	0,080	0,084	0,066	0,084	0,081	0,110	0,123	0,075	
M	0,022	0,035	0,023	0,026	0,007	0,051	0,045	0,030	0,057

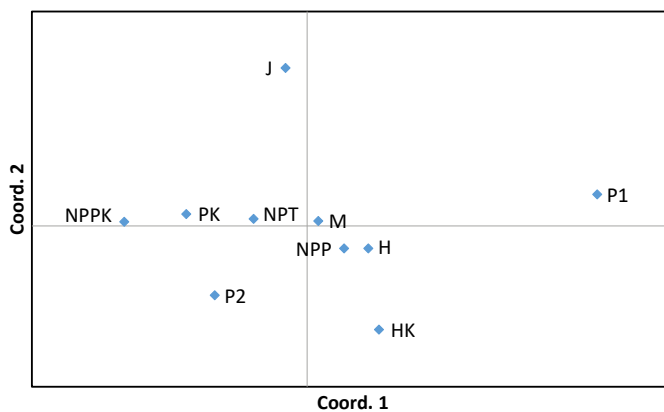
DISKUSE

Molekulárně-biologická analýza na bázi mikrosatelitových markerů byla u tisů červeného v minulosti úspěšně využita zahraničními týmy v Polsku (LITKOWIEC et al. 2018), Španělsku (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al. 2010; MAROSO et al. 2020), na Slovensku (ROMŠÁKOVÁ 2007), ve Velké Británii (GARGIULO et al. 2019) či v Íránu (HEMATZADEH et al. 2023) a je na ní metodicky založena i obsáhlá práce mapující vliv glaciálních jevů na rozšíření a diverzifikaci tisů v rámci Evropy (MAYOL et al. 2015). V ČR tuto metodu použili ke stanovení genetických charakteristik vybraných tisových populací KOMÁRKOVÁ et al. (2022), na jejichž poznatky volně navazuje i tato práce.

Hodnoty H_e u sedmi analyzovaných mikrosatelitových markerů v rámci všech souborů tisů byly vyšší (0,74–0,95) než hodnoty H_o (0,33–0,74), což je jev velmi častý – nízkou H_o uvádějí např. i CHAPUIS, ESTOUP (2007), CHYBICKI et al. (2011) či HEMATZADEH et al. (2023), kteří pracovali s podobnými markery, jaké byly použity v této práci. Průměrná frekvence nulových alel v lokusech TAX23, TAX26, TAX36, TAX86 a TAX92 u 270 vzorků 10 souborů v ČR byla 0,102, což je porovnatelné např. se Středomořím, kde byla s použitím stejných markerů sledována genetická diferenciace 51 populací z Pyrenejského poloostrova, Severní Afriky, Baleárských ostrovů, Sardínie a Korsiky čítajících celkem 922 vzorků ($F_{null} = 0,115$) (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al. 2010). Nejmenší počet alel (13) v souboru 270 tisů byl zjištěn u lokusu TAX23, velmi podobný počet alel (15) u tohoto lokusu zjistili i GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al. (2010). Ve studii týkající se 295 tisů z Velké Británie zaznamenali GARGIULO et al. (2019) u lokusu TAX36 nejvyšší počet alel (35), v naší práci bylo u tohoto lokusu zjištěno 43 rozdílných alel. V rámci zjišťování genetické diverzity mezi analyzovanými soubory vyšla průměrná H_e opět vyšší (0,77) než H_o (0,54). Velmi podobně vyšly také hodnoty u populací tisů v Polsku (LITKOWIEC et al. 2018) a ve Velké Británii (GARGIULO et al. 2019), mírně vyšší H_o byly zjištěny ve Španělsku (MAROSO et al. 2020). U většiny souborů kromě subpopulace 1 se vyskytovaly privátní alely, nejvíce u M (17) a NPT (12). U lokusů TAX23, TAX26, TAX36 a TAX92 bylo v rámci sledovaných souborů vzorků zjištěno 46 privátních alel, u stejných lokusů zjistili LITKOWIEC et al. (2018) u polských populací 31 privátních alel.

Vyšší Neiova genetická vzdálenost subpopulace P1 od ostatních (0,907–0,474) je srovnatelná pouze s geograficky odlehlejší subpopulací J (0,799–0,378). Ostatní testované soubory tvoří podle analýzy PCoA geneticky bližší skupinu.

Párové genetické diferenciace F_{ST} s korekcí nulových alel vykázaly mezi soubory tisů nižší až střední hodnoty. U dílčích populací J a P1 je shodně s Neiovými genetickými vzdálenostmi patrná i vyšší F_{ST} od zbývajících souborů tisů (maximum 0,123 u J vs. P2, resp. 0,110

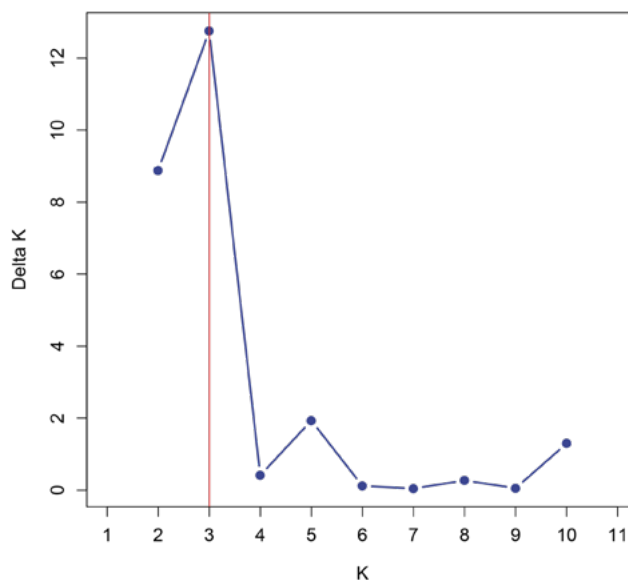


Obr. 2.

Výsledky analýzy hlavních koordinát (PCoA)

Fig. 2.

Results of Principal Coordinate Analysis (PCoA)

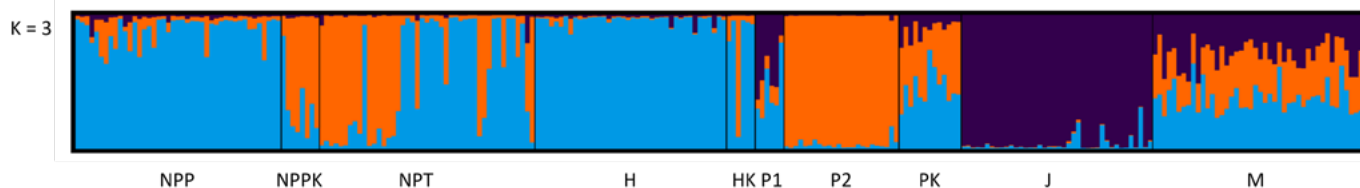


Obr. 3.

Hodnoty delta K vypočtené pro 10 souborů tisů červeného

Fig. 3.

Delta K values for the 10 sets of *Taxus baccata*



Obr. 4.

Analýza STRUCTURE pro testované soubory tisů červeného; genetická struktura je zobrazena pro K = 3

Fig. 4.

Analysis of the *Taxus baccata* sets using the STRUCTURE software; genetic structure for K = 3

u J vs. P1), zatímco například u dvojic H vs. HK, HK vs. M, HK vs. NPP, M vs. NPP či M vs. NPT jsou F_{ST} nízké (0,007–0,023). Hodnoty F_{ST} se celkově pohybovaly v rozmezích 0,007–0,123, což značí větší rozptýl v porovnání s hodnotami 0,034–0,096 zjištěnými v předchozí práci (KOMÁRKOVÁ et al. 2022) mapující genetické charakteristiky tisů na severu Čech. Autoři zahraničních studií publikovali vesměs vyšší hodnoty, např. $F_{ST} = 0,112$ (MAROSO et al. 2020) či $F_{ST} = 0,155$ (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ et al. 2010; LITKOWIEC et al. 2018), v těchto studiích se však srovnávají geograficky podstatně vzdálenější populace tisů. V případě čtyř českých tisových subpopulací analyzovaných v rámci areálu druhu kolektivem MAYOL et al. (2015) pak hodnoty F_{ST} (0,022–0,071) odpovídají zde uváděným výsledkům.

Z pohledu analýzy STRUCTURE pro $K = 3$ spadaly testované vzorky populace J z 95 % k fialovému klastru, který nebyl v takové míře zastoupen u žádného z dalších souborů, což ukazuje na genetickou odlišnost této populace. Analýza dále ukázala na podobnost vzorků subpopulací NPP, H a HK (převaha modrého klastru). Oranžový klaster dominoval u lokální populace P2, ale z 66 % i u souboru NPPK a u některých vzorků dílčí populace NPT, která je mixem oranžového a modrého klastru. Populace M má poměrně rovnoměrně zastoupeny všechny tři klusty. U dílčí populace P1, která má podle PCoA a hodnot F_{ST} vyšší genetickou vzdálenost vůči ostatním souborům, se ve větší míře projevilo zastoupení fialového klastru.

V minulosti rozlišili PROCHÁZKA, PILÁT (1928) na Moravě celkem čtyři tisové okrsky: I – sv. polovina Českomoravské vrchoviny (Svitavy, Konice, Lomnice, Pernštýn), II – Moravský kras, III – údolí řeky Dyje (Vranov, Hrádek), IV – Beskydy (ten již řadí ke Karpatské soustavě). SKUTIL (1937) později doplnil, že spojení mezi okrsky podyjským a svitavsko-třebovským představují 4 tisy v moravsko-budějovickém okrese v mitrovském revíru uherčického panství ($d_{1,3}$ 7–28 cm), tisy v revírech Jazovice a Starý Petřín a tis v Rozsíčce na Novoměstsku. Vzhledem ke geografické poloze těchto lokalit však není podstata úvahy o propojení mezi oběma okrsky zcela zřejmá.

Při genetickém srovnání 1 polské, 1 německé a 19 domácích dílčích populací tisů s využitím analýzy enzymových systémů (ZATLOUKAL et al. 2001) byly zjištěny významné mezipopulační rozdíly i vnitropopulační variabilita. Subpopulace v NP Podyjí se v uvedené práci jevila signifikantně příbuzná pouze s Moravským krasem (Neiova genetická vzdálenost 0,000), zatímco se Znojemskem (PR Bílý kříž, PR Tisová stráň) měla genetickou vzdálenost 0,035, s Jílovskými tisy 0,026 a se Svitavskem 0,039. Alely celkem 19 analyzovaných jedinců dílčí populace NP Podyjí byly 100% polymorfní, což značí i velkou genetickou plasticitu. Subpopulace NP Podyjí byla od dalších regionálních přirozených výskytů v PR Bílý kříž a PR Tisová stráň dobře identifikovatelná díky výrazně vyššímu výskytu některých alel (ZATLOUKAL et al. 2001). Také zde předkládané výsledky analýz DNA ukazují na příbuznost NP Podyjí s Moravským krasem ($F_{ST} = 0,022$), ale v rozporu s analýzou enzymů i se Svitavskem ($F_{ST} = 0,033$). Ve shodě je vyšší genetická diferenciace NP Podyjí od PR Bílý kříž ($F_{ST} = 0,062$), PR Tisová stráň ($F_{ST} = 0,074$) a od Jílovských tisů ($F_{ST} = 0,080$), která je na rozdíl od výsledků izoenzymových analýz vůbec největší, což koresponduje i s geografickou polohou. Celkově ZATLOUKAL et al. (2001) v rámci ČR konstatovali velkou rozmanitost genofondu, nepodařilo se jim však sledovat areály geneticky spojitých populací v souladu s geografickou polohou. Vyslovili proto později často přebíranou hypotézu, že veškeré domácí tisy by mohly pocházet z téhož refugia, a být tak součástí jedné velké původní populace. To by v zásadě opravňovalo vzájemné míšení reprodukčního materiálu různého geografického původu za účelem zvýšení rozmanitosti genofondu jednotlivých tisových subpopulací. Zde je však třeba poznamenat, že míra genetické diferenciace zjištěná mezi Jílovskými tisy a dalšími domácími výskyty ($F_{ST} = 0,064$ – $0,123$) je zcela srovnatelná s hodnotami F_{ST} mezi českými a zahraničními, geograficky velmi vzdálenými populacemi ve Špa-

nělsku, Itálii, Velké Británii, Irsku či Německu (MAYOL et al. 2015). I nevhodný vnitrostátní přenos reprodukčního materiálu by tak mohl v určitých případech zapříčinit přimíšení nežádoucích genů do dosud izolovaných dílčích zbytkových populací přizpůsobených místním podmínkám. I kdyby většina přirozeně rostoucích tisů v ČR pocházela z téhož refugia, jak naznačují ZATLOUKAL et al. (2001), jsou identifikované významné mezipopulační rozdíly výsledkem dlouhodobých místních adaptací ke specifickým poměrům, což je třeba respektovat i z pohledu vzájemných přenosů reprodukčního materiálu.

Znalost genetické charakterizace populací tisů má proto zásadní význam pro volbu praktických opatření v rámci ochrannářského managementu (např. JELÍNKOVÁ, ZATLOUKAL 2001; ZATLOUKAL et al. 2001) v oblastech Podyjí či Hřebečského hřbetu. O tom, že je o výsadby tisů ze strany vlastníků a správců lesů zájem, vypovídá např. sdělení o vnosu 89 ks (bez uvedení původu) na vhodná stanoviště po celém území LS Znojmo (Brož 2012). Právě tyto obecně ceněné snahy hospodářských subjektů o zvyšování biodiverzity dokládají potřebu rozšířit mezi odbornou veřejností základní informace o genetické struktuře populací našich dřevin.

Aktuální stav tisové populace v NP Podyjí je podrobně popsán v úvodu. V platných zásadách péče (REITEROVÁ 2022) sice tisů bližší pozornost věnována není, je ale uveden jako jeden z druhů vyžadujících pozornost. Předchozí plán péče (REITEROVÁ, ŠKORPÍK 2012) jej zmiňuje v souvislosti s požadavkem maximální míry využívání přirozené obnovy původních dřevin s preferencí druhů, jejichž výskyt je na stanovišti vzácnější. V rámci střednědobých cílů se požaduje zachování fragmentů místní populace, jakož i její ochrana, podpora, výzkum, aktivní reprodukce genofondu, monitoring, nápravná opatření při početním poklesu, péstební zásahy na podporu přirozené obnovy, vytipování vhodných lokalit a v případě dostupnosti odpovídajícího reprodukčního materiálu zajištění sadby či sítě.

V PR Bílý kříž, kde se tis dochoval jen v omezeném počtu v nejzachovalější části poblíž hlavního masivu v zazemněných skalních rozsedinách střední až horní části svahu, je dlouhodobým cílem rekonstrukce porostů na přírodě blízké a jejich následné ponechání samovolnému vývoji (VRŠKA, ADAM 2005a). Za příčinu absence mladších věkových stadií je považován vysoký tlak zvěře, kdy je třeba veškeré tisy chránit oplocením. Z dalších vlivů byla podezírána absence jednoho pohlaví, což by bylo řešitelné generativní či vegetativní reprodukcí jedinců z PR Tisová stráň (NĚMEC 2011; NĚMEC, NĚMCOVÁ 2014a). Při odběru vzorků se pohlaví většiny jedinců nepodařilo určit, nicméně ve dvou případech šlo prokazatelně o fruktifikující samice, což lokální možnost opylení dokazuje. Vzhledem k nízkému počtu jedinců a výsledku genetických analýz lze navržený management PR považovat za vhodný.

Na strmých severních svazích PR Tisová stráň byl ještě v roce 2005 evidován skupinovitý výskyt 36 životaschopných tisů a desítek semenáčků. Dlouhodobým cílem ochrany je zde maximální vyloučení přímých lidských vlivů, přičemž jednou z přípustných výjimek je podpora populace tisů (předmět ochrany PR) opatřeními proti škodám zvěří, přílišnému zástínu aj. (VRŠKA, ADAM 2005b). V roce 2007 bylo již zjištěno jen 33 vzrostlých jedinců a absence náletu s tím, že částečně či zcela zástíněné tisy byly méně vitální i plodné. Návrh managementu zahrnuje uvolňování od padlých stromů, postupné odcloňování a z důvodu ochrany genofondu vyloučení dosadby tisů jiné provenience (ŠILHAVÝ 2007). V roce 2010 nebyli kromě dvou semenáčků pozorováni jedinci < 1 m, část z 33 tisů fruktifikovala (NĚMEC, NĚMCOVÁ 2010). Aktuální plán péče zmiňuje již jen 30 vzrostlých tisů, které opakovaně plodí a zmlazují. Zásahy ve prospěch uvolňování, fruktifikace a obnovy jsou však vzhledem k dlouhodobému cíli ochrany pokládány za nevhodné a nekoncepční (vývraty na prudkých svazích jsou přirozeným jevem, tis na lokalitě plodí i bez zásahů, opakovaná pozorování semenáčků, např. 3 v r. 2000, desítek v r. 2005, schopnost dlouhověké-

ho tisů vyčkat na příležitost i za nepříznivých světelných poměrů). Za příčinu úbytku je pokládán vysoký tlak zvěře, jejíž redukce je považována za nereálnou, a proto je nutná individuální ochrana semenáčků či oplocení celé rezervace (NĚMEC, NĚMCOVÁ 2010, 2014b; NĚMEC et al. 2014). Posun managementu k bezzášahovosti však není za stavu, kdy během tří decenníí územní ochrany došlo dle plánovacích dokumentů k téměř čtvrtinovému úbytku dospělých tisů, obhajitelný. Východiskem je naopak návrat k aktivní ochraně každého jedince a cílená podpora přirozené obnovy. Populace tisů zde vykazuje trvalý trend poklesu vitality jedinců a v důsledku dlouhodobého blokování přirozené obnovy absenci mladé a střední generace. Jako sporný se z pohledu upřednostnění samovolného vývoje jeví návrh na oplocení celé rezervace, tj. de facto vyloučení veškerého vlivu zvěře na biotu. Pro dlouhodobé udržení této geneticky hodnotné populace je nutno primárně zajistit přežití pokud možno všech dospělých tisů, podpořit jejich přirozenou obnovu a ochránit dostatek semenáčků před tlakem zvěře za situace, kdy v blízké době nelze předpokládat docílení jejich únosných stavů.

Plán péče o PR Hřebečský les požaduje pro případné posílení tamní populace tisů reprodukčním materiálem jiného než místního původu předchozí genetickou analýzu (ŠIMEK, ŽALOUKOVÁ 2020), což však neplatí o blízké PP Pod skálou, kde se k danému účelu v rámci proaktivně nastaveného lesnického managementu připouští i reprodukční materiál kulturního původu, např. z lokalit Sklené a Letovice (ZATLOUKAL et al. 2013; ŠIMEK 2018). Využití vhodných tisů z kultury pro lesnické účely je sice dle výsledků analýz DNA teoreticky možné, nicméně je otázkou, zda tento materiál směřovat přímo do prostoru chráněné zbytkové populace. V tomto rámci se pohybují i úvahy o možných posilovacích dosadách tisů do NPR Rohová (AOPK 2018) pouze z Hřebečského hřbetu, viz též HOFMAN (1969b).

ZÁVĚR

Vymezení dílčích populací tisů v pojetí PROCHÁZKA, PILÁT (1928) má sice racionální základ, molekulárně genetické analýzy však nabízejí bližší náhled reality. V ČR k tomu přispěla již práce na bázi enzymových systémů (ZATLOUKAL et al. 2001), jejíž do jisté míry překvapivé závěry výsledky analýz DNA částečně potvrzují. Genetickou diverzitu přirozených zbytkových subpopulací tisů (zde NPP, NPT, P1, P2 a H) lze za podmínek vhodného managementu považovat za přijatelnou z hlediska jejich přežívání, kdy není nutné cíleně rozšiřovat genofond o imigranty z odlehklých populací. Dílčí populace tisů v ČR se při svém izolovaném vývoji vzájemně geneticky diferencovaly, přitom si však přes svou relativně nízkou početnost zachovaly dostatečnou genetickou diverzitu. Záměrné míšení alel zbytkových výskytů by případně mohlo vyústit v nežádoucí homogenizaci stávajícího genofundu a potenciální genetickou erozi některých unikátních alel. Uplatnění principu předběžné opatrnosti si zasluhuje minimálně rozlišování hercynsko-sudetské a karpatské oblasti ČR (viz např. MAYOL et al. 2015). U malých populací tisů musí být management primárně zaměřen na rychlou generativní reprodukci místních genových zdrojů a navýšení efektivních populačních velikostí na minimálně 50–500 jedinců. V případě přijetí rozhodnutí o nutnosti posílení populací (zejména u drobných zbytkových výskytů) poskytují výsledky genetických analýz informaci, odkud je přenos reprodukčního materiálu vhodný.

Pro budoucí vyjasnění některých důležitých otázek je třeba do výzkumného souboru doplnit ještě další dílčí populace, např. z Karpat (Beskydy, slovenské příhraničí) či Šumavy. První kroky v tomto směru byly již učiněny. Zvětšit je třeba i velikosti souborů tisů původem z kultury, které nyní z hlediska populační genetiky neumožňují formulaci zásadnějších závěrů. Jde často o vzájemně dosti vzdálené exempláře, které z pohledu analýz tvoří homogenní populace, ale pouze regionální výběrové soubory jedinců s potenciálně zcela odliš-

ným původem. Nově získané poznatky by měly sloužit jako významný výchozí podklad případných návrhů ochránářského managementu tisů (regionálních akčních plánů), aktualizovaných plánů péče o maloplošná zvláště chráněná území aj.

Poděkování:

Práce vznikla v rámci podpory na rozvoj výzkumné organizace č. MZE-RO0123. Za pomoc s odběrem vzorků děkují autoři Davidu Freudlovi, MA (NP Thayatal), Ing. Pavlu Novákovi a Ing. Martinu Schmalzbauerovi (Správa NP Podjí), Pavlu Bisovi (Lesy České republiky, s. p., LS Svitavy), Ing. Antonínu Novákovi (Lesní úřad Děčín, p. o. statut. města Děčín) a Ing. Jiřímu Čápovi (VÚLHM, v. v. i.), za knihovnické služby Mgr. Martě Kučerové a Bc. Elišce Flejberkové (VÚLHM, v. v. i.), za překlad německy psaných prací Milanu Novotnému a Ing. Bc. Markétě Novotné (Praha), za připomínky k textu Mgr. Martinu Valáškovu (Správa NP České Švýcarsko) a za zpracování mapy v GIS Mgr. Miroslavu Buršíkovi (Správa NP Podjí).

LITERATURA

- AOPK. 2018. Plán péče o Národní přírodní rezervaci Rohová na období 2019–2027. Nasavrky, AOPK ČR, RP SCHKO Železné hory: 86 s., přílohy. Dostupné na/Available on: ><http://drusop.nature.cz>
- AOPK. 2019. Rozbory chráněné krajinné oblasti Moravský kras k 31. 12. 2016. Blansko, AOPK ČR: 177 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- BAČOVSKÝ M. 2012. Mladějovské tisy a praktické kroky k jejich záchraně. In: Tis – dřevina roku 2012. Sborník referátů. Roztoky u Křivokláta, 31. 5. 2012. [Praha], Česká lesnická společnost: 45–46.
- BIS A. 2005. Vyhodnocení stavu populace tisů červeného na revíru Mladějov, LS Svitavy. Diplomová práce. Brno, FLD MZLU: 55 s. MS, Dep.: MENDELU.
- BOUBLÍK K., DOUDA J., HÉDL R., CHYTRÝ M. 2013. Mezofilní a vlhké opadavé lesy. In: Chytrý, M. (ed.): Vegetace České republiky 4. Lesní a křovinná vegetace. Praha, Academia: 551 s.
- BROŽ P. 2012. Vzácné dřeviny na LS Znojmo [online]. Lesu zdar [cit. 08-06-2023]. Dostupné na /Available on: <<https://lesy.cz/casopis-clanek/vzacne-dreviny-na-ls-znojmo/>>
- BUK M., FRANĚK B., HAMERSKÝ R., KOŠNER M., MORAVEC P., VLAČIHA V. 2013. Plán péče o přírodní památku Jílovské tisy na období 2014–2023. Litoměřice, Správa CHKO České středohoří: 18 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- ČEŘOVSKÝ J. 1954. K rozšíření tisů v Moravském krasu. Ochrana přírody, 9 (8): 251–253.
- DUBREUIL M., SEBASTIANI F., MAYOL M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ S.C., RIBA M., VENDRAMIN G.G. 2008. Isolation and characterization of polymorphic nuclear microsatellite loci in *Taxus baccata* L. Conservation Genetics, 9: 1665–1668. DOI: 10.1007/s10592-008-9515-3
- FALUSH D., STEPHENS M., PRITCHARD J.K. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. Genetics, 164: 1567–1587. DOI: 10.1093/genetics/164.4.1567
- FIETZ A. 1942. *Taxus baccata* (Eibe) aus prä- u. frühhistorischen Funden in Mähren. Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn, 74: 94–96.

- GARGIULO R., SAUBIN M., RIZZUTO G., WEST B., FAY M.F., KALLOW S., TRIVEDI C. 2019. Genetic diversity in British populations of *Taxus baccata* L.: Is the seedbank collection representative of the genetic variation in the wild? *Biological Conservation*, 233: 289–297. DOI: 10.1016/j.biocon.2019.01.014
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ S.C., DUBREUIL M., RIBA M., VENDRAMIN G.G., SEBASTIANI F., MAYOL M. 2010. Spatial genetic structure of *Taxus baccata* L. in the western Mediterranean Basin: Past and present limits to gene movement over a broad geographic scale. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55: 805–815. DOI: 10.1016/j.ympev.2010.03.001
- GRULICH V. 1986. Květena CHKO Podyjí. Památky a příroda, 11 (4): 239–244.
- GRULICH V. 1997. Atlas rozšíření cévnatých rostlin Národního parku Podyjí/Verbreitungsatlas der Gefäßpflanzen des Nationalparks Thayatal. Brno, Masarykova univerzita: 299 s.
- HAYEK A. 1914. Die Pflanzendecke Österreich-Ungarns. I. Bd. (3): 241–352. Dostupné na/Available on: <<https://archive.org/details/diepflanzendecke01haye/page/352/mode/2up>>
- HEMATZADEH A., ESMAILZADEH O., JALALI S.G., MIRJALILI M.H., WALAS Ł., YOUSEFZADEH H. 2023. Genetic diversity and structure of English yew (*Taxus baccata* L.) as a tertiary relict and endangered tree in the Hyrcanian forest. *Biodiversity and Conservation*, 32: 1733–1753. DOI: 10.1007/s10531-023-02573-3
- HOFMAN J. 1950a. Tisy v Moravském krasu. Krása našeho domova, 41 (1–2): 19–28.
- HOFMAN J. 1950b. Tisy v Moravském krasu. Krása našeho domova, 41 (3–4): 39–47.
- HOFMAN J. 1966. O bývalém a dnešním rozšíření tisů v Čechách. Výzkumná zpráva. Průhonice, ČSAV: 164 s. MS, Dep.: BÚ AV ČR.
- HOFMAN J. 1969a. Stav výzkumu rozšíření tisů na Moravě a ve Slezsku. Zprávy lesnického výzkumu, 15 (4): 10–14.
- HOFMAN J. 1969b. Tisové lokality u Svitav a Moravské Třebové. *Acta Musei Silesiae, Series C*: 77–84.
- HOFMAN J., VACKOVÁ M. 1969. Výskyt tisů v Podyjí. Zprávy Arboretum Nový dvůr u Opavy, 9: 6–7.
- HUBISZ M.J., FALUSH D., STEPHENS M., PRITCHARD J.K. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 9: 1322–1332. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x
- CHAPUIS M.-P., ESTOUP A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 621–631. DOI: 10.1093/molbev/msl191
- CHYBICKI I.J., OLEKSA A., BURCZYK J. 2011. Increased inbreeding and strong kinship structure in *Taxus baccata* estimated from both AFLP and SSR data. *Heredity*, 107: 589–600. DOI: 10.1038/hdy.2011.51
- CHYTRÝ M., VICHEREK J. 2000. Lesní vegetace Národního parku Podyjí/Thayatal. Die Waldvegetation des Nationalparks Podyjí/Thayatal. Praha, Academia: 168 s., 2 mapy.
- JELÍNKOVÁ K., ZATLOUKAL V. 2001. Praktická příručka o tis. Blansko, CORTUSA: 80 s.
- 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. DOI: 10.3390/f13020137
- KOPELMAN N.M., MAYZEL J., JAKOBSSON M., ROSENBERG N.A., MAYROSE I. 2015. Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15 (5): 1179–1191. DOI: 10.1111/1755-0998.12387
- KŘIVÁNEK J., NOVÁK A. 2023. Posun ve vývoji situace tisů červeného v NPP Březinské tisy a PP Jílovské tisy. In: Novotný, P. (ed.): Management tisů červeného II. Sborník ze semináře. Horní Světlá, 21. – 22. 10. 2023. Strnady, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti: 27–36. Dostupné na/Available on: <https://www.vulhm.cz/files/uploads/2023/10/Tis-2023_Sbornik_Horni-Svetla.pdf>
- KÜHN F. 1968. Tisy u Moravské Třebové. Vlastivědné listy, duben: 1–4. Muzeum Moravská Třebová.
- LEDEL K. 1922. Die letzten Eiben des Schönhengstgaues. *Oesterreichische Monatsschrift für den grundlegenden naturwissenschaftlichen Unterricht*, 3: 40–45.
- LI Y.L., LIU J.X. 2018. StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18 (1): 176–177. DOI: 10.1111/1755-0998.12719
- LITKOWIEC M., LEWANDOWSKI A., WACHOWIAK W. 2018. Genetic variation in *Taxus baccata* L.: A case study supporting Poland's protection and restoration program. *Forest Ecology and Management*, 409: 148–160. DOI: 10.1016/j.foreco.2017.11.026
- MACÁK J. 1971. Příspěvek k problematice uchování tisů červeného *Taxus baccata* L. subsp. *communis* Aschers jako součásti přirozených lesních společenstev. Práce a studie Krajského střediska státní památkové péče a ochrany přírody Východočeského kraje – Ochrana přírody a krajiny, 3: 125–135.
- MACKOVČIN P., JATIOVÁ M., DEMEK J., SLAVÍK P. et al. 2007. Brněnsko. In: Mackovčín, P. (ed.): Chráněná území ČR. Svazek IX. Praha, AOPK ČR; Brno, EkoCentrum: 932 s.
- MÁLEK J. 1972. Výskyt některých vzácnějších druhů rostlin a původní rozšíření dřevin v okolí Vranovské přehrady. Zprávy Československé botanické společnosti, 7 (2–3): 159–162.
- MÁLEK J. 1984. Topografické názvy jako pramen rekonstrukce složení lesů jihozápadní Moravy. Přírodovědný Sborník Západo-moravského muzea v Třebíči, 13: 25–38.
- MAROSO F., VERA M., FERREIRO J., MAYOL M., RIBA M., RAMIL-REGO P., MARTÍNEZ P., BOUZA C. 2020. Genetic diversity and structure of *Taxus baccata* from the Cantabrian-Atlantic area in northern Spain: A guide for conservation and management actions. *Forest Ecology and Management*, 482: 118844. DOI: 10.1016/j.foreco.2020.118844
- MAYOL M., RIBA M., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ S.C., BAGNOLI F., DE BEAULIEU J.-L., BERGANZO E., BURGARELLA C., DUBREUIL M., KRAJMEROVÁ D., PAULE L., ROMŠÁKOVÁ I., VETTORI C., VINCENOT L., VENDRAMIN G.G. 2015. Adapting through glacial cycles: insights from a long-lived tree (*Taxus baccata*). *New Phytologist*, 208: 973–986.
- NĚMEC R., NĚMCOVÁ Z. 2010. Závěrečná zpráva k průzkumu zaměřenému na tis červený v PR Tisová stráž. Znojmo, Pulsatilla: 13 s., přílohy. MS, Dep.: KÚ JmK, OŽP, detaš. pracoviště Znojmo.
- NĚMEC R. 2011. Závěrečná zpráva k provedení botanického průzkumu PR Bílý kříž. Znojmo, Pulsatilla: 60 s., přílohy. MS, Dep.: KÚ JmK, OŽP, detaš. pracoviště Znojmo.

- NĚMEC R., NĚMCOVÁ Z. 2014a. Plán péče o přírodní rezervaci Bílý kříž na období 2016–2025. Znojmo, Pulsatilla: 34 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- NĚMEC R., NĚMCOVÁ Z. 2014b. Plán péče o přírodní rezervaci Tisová stráž na období 2016–2025. Znojmo, Pulsatilla: 24 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- NĚMEC R., NĚMCOVÁ Z., MUSIL Z. 2014. Závěrečná zpráva k provedení botanickému průzkumu PR Tisová stráž. Znojmo, Pulsatilla: 27 s., přílohy. MS, Dep.: KÚ JmK, OŽP, detaš. pracoviště Znojmo.
- NĚMEC R. (ed.) 2021. Rozšíření cévnatých rostlin národních parků Podyjí a Thayatal. Znojmo, Správa Národního parku Podyjí: 400 s.
- NISSL G. V. 1868. Über die Flora der Eisleithen bei Frain. Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn, VI: 62–67.
- OBORNÝ A. 1879. Die Flora des Znaimer Kreises. Nach pflanzen-geographischen Principien zusammengestellt. Brünn, W. Burkart: 200 s.
- OPRAVIL E. 1967. Die südmährischen Wälder im jüngeren Holozän. Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemoslovacae – Brno, 1 (3): 69–116.
- OTT F. VON 1852. Das bedauerliche Verschwinden der Rotheibe (*Taxus baccata*) namentlich aus dem Forste bei Mähr. Trübau. Mittheilungen der K.K. Mährisch-Schlesischen Gesellschaft zur Beförderung des Ackerbaues, der Natur- und Landeskunde in Brünn: 62–63.
- PEAKALL R., SMOUSE P.E. 2012. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics, 28: 2537–2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460
- PODPĚRA J. 1924. Květena Moravy ve vztazích systematických a geobotanických. Části soustavné I. svazek: Rostliny tajnosrubné cévnaté a nahosemenné. Brno, Moravská přírodovědecká společnost: 226 s. Práce Moravské přírodovědecké společnosti, sv. 1, spis 10.
- PONIKELSKÝ J. 2022. Stav a management tisů v NP Podyjí. In: Management tisů červeného. Prezentace z odborného semináře. Děčín, 4. – 5. 8. 2022. [cit. 2022-08-12] Dostupné na/Available on: <<https://www.vulhm.cz/seminar-o-tisu-cervenem/>>
- PRIMACK R.B., KINDLMANN P., JERSÁKOVÁ J. 2001. Biologické principy ochrany přírody. Praha, Portál: 349 s.
- PRIMACK R.B., KINDLMANN P., JERSÁKOVÁ J. 2011. Úvod do biologie ochrany přírody. Praha, Portál: 466 s.
- PRITCHARD J.K., STEPHENS M., DONNELLY P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155: 945–959. DOI: 10.1093/genetics/155.2.945
- PROCHÁZKA J.S., PILÁT A. 1928. O tisů, zvláště vzhledem k zemím československým. Sborník Československé Akademie Zemědělské, 3: 299–383.
- REITEROVÁ L., ŠKORPÍK M. (eds.) 2012. Plán péče o Národní park Podyjí a jeho ochranné pásmo 2012–2020. Znojmo, Správa Národního parku Podyjí: 203 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- REITEROVÁ L. (ed.) 2022. Zásady péče o Národní park Podyjí a jeho ochranné pásmo. Znojmo, Správa Národního parku Podyjí: 121 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- ROMŠÁKOVÁ I. 2007. Genetic variability of populations of English yew (*Taxus baccata* L.). In: Dreslerová, J., Packová P. (ed.): Ohrožené dřeviny ČR. Příspěvky z konference konané dne 8.-9. února 2007 v Brně, Česká republika. Brno, MZLU; Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 124–133. Geobiocenologické spisy, sv. 12.
- ROMŠÁKOVÁ I., PAULE L. 2009. Genetische Variabilität von Populationen von *Taxus baccata* L. In: Türk, R., Comes, P. (ed.): Beiträge zum 13. Österreichischen Botanikertreffen & 32. Symposium der Ostalpin-Dinarischen Gesellschaft für Vegetationskunde in Pörschach, Universität Salzburg, Fachbereich Organismische Biologie. Salzburg, Dorfbeuern: 261–276. Sauteria, Bd. 18.
- ROSENKRANZ F. 1934. Die Eibe in Niederösterreich. Österreichische Botanische Zeitschrift, 83 (1): 29–48.
- SKUTIL J. 1937. Poznámky k rozšíření tisů na Moravě. Československý háj, 14: 174–193.
- ŠILHAVÝ M. 2007. Inventarizace jednotlivých exemplářů tisů evropského v přírodní rezervaci Tisová stráž v k. ú. Lančov. Znojmo, GMVAU Péče o zeleň: 2 s. MS, Dep.: KÚ JmK, OŽP, detaš. pracoviště Znojmo.
- ŠIMEK R. 2018. Plán péče o ZCHÚ přírodní památku Pod skálou na období 2019–2028. Olomouc: 40 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- ŠIMEK R., ŽALOUČKOVÁ R. 2020. Plán péče přírodní rezervace Hřebečůvský les na období 2020–2028. 37 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- ŠVEHLOVÁ K. 1997. Populační ekologie tisů červeného (*Taxus baccata* L.) v CHKO Moravský kras. Diplomová práce. Olomouc, Univerzita Palackého, PřF: 122 s., přílohy. MS, Dep.: UPOL.
- UHROVÁ A. 1929. Tisy na západní Moravě. Od Horácka k Podyjí, 3 (5–7): 101–104.
- ÚRADNÍČEK L., ČÁP J., JELÍNEK B., KOUTECKÝ T., ŘEPKA R., TICHÁ S., VAHALÍK P. 2017. Červená kniha dřevin České republiky. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 308 s.
- VRŠKA T., ADAM D. 2005a. Plán péče o přírodní rezervaci Bílý kříž na období 1. 1. 2006 – 31. 12. 2015. 17 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- VRŠKA T., ADAM D. 2005b. Plán péče o přírodní rezervaci Tisová stráž na období 1. 1. 2006 – 31. 12. 2015. 14 s., přílohy. Dostupné na/Available on: <<https://drusop.nature.cz/>>
- WRIGHT S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. Evolution, 19: 395–420. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x
- ZATLOUKAL V., MÁNEK J., ČURN V., KADERA J. 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.
- ZATLOUKAL V., HOLÁ Š., KAČMAR M. 2013. Tis červený (*Taxus baccata*) v České republice: Výsledky inventarizace 2007–2012. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce: 204 s. Folia Forestalia Bohemica, 25.

GENETIC CHARACTERIZATION OF COMMON YEW (*TAXUS BACCATA* L.) IN WIDER AREA OF THE PODYJÍ/THAYATAL AND IN THE SVITAVY REGION WITH A LINK TO CONSERVATION MANAGEMENT

SUMMARY

In 2015, the residual population in the Podyjí National Park (NP) consisted of only 2 dead standing trees, 1 dying and $20 \pm$ vital, mostly male individuals at 4 sites (Braitava, Gáliš, Široké pole, the area of the left bank of the Dyje River opposite Hardegg), while only Gáliš and Braitava were found to contain seedlings, of which about 40 were later protected by fencing. As a part of the controlled population restocking, 340 plants of local, mostly generative origin were planted in suitable habitats as early as in 2015–2023. More frequent natural occurrences can be found on the opposite side of the Dyje in the Austrian Thayatal NP, where hundreds of trees are estimated to grow. In the Moravian part of Podyjí, outside the territory of the NP, other adult yews grow in the scree forests in the Bílý kříž Nature Reserve (NR) (about 15 pcs) and the Tisová stráň NR (approx. 30 pcs), which are both part of a wider vegetation belt with a character closer to nature along both banks of the Dyje. This belt also includes the solitary occurrence of a full-grown male yew at the Kolikron site (Fig. 1).

The aim of the work is to determine, using DNA (nSSR) analyses, the genetic diversity, structure and differentiation of three geographically close-to-nature occurrences of common yew (Podyjí NP, area outside Podyjí NP, Thayatal NP) and regional assemblages of yews with presumed cultural origin in order to compare with other domestic residual subpopulations, and thus contribute to the setting of appropriate conservation management of the local yew population in Podyjí based on comparison with literature.

Analyses were performed on samples from 270 individuals (Table 1 and 2). DNA was isolated from freeze-dried needles using the DNeasy® Plant Mini Kit. Genetic analysis was performed using 7 SSR markers with a high degree of polymorphism (Tab. 3). Fragmentation analysis was performed on the Applied Biosystems 3500 genetic analyzer. Most of the genetic diversity indicators (e.g. number of alleles, Shannon's information index, heterozygosity, fixation index, Nei's distance) were evaluated in GenAEx v. 6.503, polymorphic information content (PIC), expected and observed heterozygosity for the markers in CERVUS v. 3.0.7, frequency of zero alleles and values of genetic differentiation of the F_{ST} taking into account the correction of zero alleles in the FreeNA program, comparison of genetic differences between sample sets based on their allelic frequencies is then carried out in the STRUCTURE v. 2.3.4 program.

Results of the analyses are shown in Table 4, 5 and 6, and Figure 2, 3 and 4. Paired F_{ST} values expressing each other genetic differentiation between the observed sample sets indicate low to medium genetic differentiation. In particular, the J and P1 subpopulations are significantly different, while the other groups form a genetically closer group.

The genetic diversity of natural residual yew subpopulations (here NPP, NPT, P1, P2 and H) can be considered acceptable in terms of their survival under the condition of appropriate management, when it is not necessary to purposefully expand the gene pool with immigrants from remote populations. Partial populations of yew trees in the Czech Republic have genetically differentiated from each other during their isolated development, but despite their relatively low abundance, they have retained sufficient genetic diversity. Deliberate mixing of alleles of residual occurrences could eventually result in undesirable homogenization of the existing gene pool and potential genetic erosion of some unique alleles. At the very least, the distinction between the Hercynian-Sudeten and Carpathian regions of the Czech Republic deserves to be applied using the precautionary principle. For small yew populations, management must be primarily focused on rapid generative reproduction of local gene resources and increasing effective population sizes to a minimum of 50–500 individuals. In the case of a decision on the need to strengthen populations (especially in the case of small residual occurrences), the results of genetic analyses provide information from where the transfer of reproductive material is appropriate.

Zasláno/Received: 26. 04. 2024

Přijato do tisku/Accepted: 16. 06. 2024