

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ**  
**AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**Dizertační práce**

**BRNO 2015**

**Mgr. TOMÁŠ VYMYSLICKÝ**

**Modelova Univerzita v Brně**

**Agronomická fakulta**

**Ústav výživy zvířat a pícninářství**

---



**Agronomická  
fakulta**

**Mendelova  
univerzita  
v Brně**



**Hodnocení genofondových kolekcí a suchovzdornosti  
vybraných druhů jetelovin**

**Dizertační práce**

*Školitel:*

doc. Ing. Stanislav Hejduk, Ph.D.

*Autor:*

Mgr. Tomáš Vymyslický

---

Brno 2015

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: „Hodnocení genofondových kolejních a suchovzdornosti vybraných druhů jetelovin“ vypracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne: 10.7.2015

.....  
podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěl bych vyjádřit poděkování svému školiteli, doc. Ing. Stanislavu Hejdukovi, Ph.D., za jeho konzultace, inspirace, mnoho užitečných návrhů a idejí, přenesených zkušeností a všeobecně za poskytnutí podmínek pro práci na tomto zajímavém tématu. Speciální poděkování patří Ing. Janu Pelikánovi, CSc., který mi pomohl svými cennými celoživotními zkušenostmi a znalostmi z oblasti hodnocení genetických zdrojů jetelovin. Upřímné poděkování patří také RNDr. Janu Nedělníkovi, Ph.D., řediteli Výzkumného ústavu pícninářského, spol. s r. o. Troubsko a Zemědělského výzkumu, spol. s r. o. Troubsko, který mi umožnil tuto časově a prostorově náročnou práci. Chtěl bych dále poděkovat technickým pracovníkům a všem svým spolupracovníkům za jejich pomoc a spolupráci. Také bych chtěl poděkovat všem členům rodiny, za jejich trpělivost a podporu v mé práci. Konečně, rád bych poděkoval všem oponentům za užitečné a konstruktivní komentáře.

Výzkum v rámci dizertační práce byl podpořen výzkumným záměrem MSM 2629608001 (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky) a Národním programem konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity (Ministerstvo zemědělství České republiky).

## ABSTRAKT

### **„Hodnocení genofondových kolekcí a suchovzdornosti vybraných druhů jetelovin“**

Předmětem dizertační práce bylo studium diverzity nejdůležitějších jetelovin v České republice – *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Medicago sativa*. Dále byla studována i diverzita v kolekcích vybraných minoritních druhů *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum*. Hlavní částí dizertace je detailní analýza variability kolekcí studovaných druhů v podmínkách suchého a teplého klimatu pomocí morfologických, výnosových a biologických znaků. Na základě výsledků shlukové analýzy byli u velkých kolekcí jetelovin (*Medicago sativa*, *Trifolium pratense* a *T. repens*) vybráni zástupci do originálních českých core kolekcí. U druhu *Trifolium pratense* byly podrobně v rámci core kolekce zhodnoceny rozdíly mezi odrůdami, včetně porovnání morfologických a molekulárních dat. Nebyla nalezena korelace mezi výsledky shlukových analýz provedených na základě morfologických a molekulárních dat.

Ve druhé části práce byla studována reakce vybraných druhů jetelovin na sucho. Byly založeny dva typy polních pokusů srovnávajících 1) vliv rozdílných výsevních množství na výnosy píce a 2) efekt pozdních termínů setí. Dále byl založen pokus s klíčením semen jetelovin v různých roztocích polyethylenglyku (PEG), simulujícího zvýšený osmotický tlak půdního roztoku způsobeného suchem.

V rámci pokusů srovnávajících vliv výsevních množství na výnosy byly největší výnosy píce zjištěny u druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*. Nejvyšší hodnoty klíčivosti za podmínek zvýšeného osmotického tlaku byly zjištěny u druhu *Onobrychis viciifolia*.

Polní pokusy, zaměřené na vliv podzimních termínů setí na polní vzcházivost vybraných jetelovin, ukázaly, že v podmínkách suchého klimatu lze doporučit pro pozdní výsevy měsíc září, za předpokladu, že růst vysetých rostlin není limitován suchem.

**Klíčová slova:** jeteloviny, core kolekce, sucho, klíčivost, výnosy.

## ABSTRACT

### **,,The evaluation of gene-pool collections and drought resistance of selected leguminous species”**

The main subject of the dissertation was to study the diversity of the most important forage legume species in the Czech Republic – *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* and *Medicago sativa*. Diversity in collections of selected minor species *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum* was also studied. The main part of the dissertation is focused on detailed analyses of variability in the collections of studied species under dry and warm climatic conditions with the use of morphological, production and biological characteristics. Based on the results of cluster analyses in large collections (*Medicago sativa*, *Trifolium pratense* and *T. repens*) the members of original Czech core collections were selected. Within the *Trifolium pratense* core collection there were evaluated differences among the accessions, including the comparison of morphological and molecular data. There was found no correlation among the results of cluster analyses based on morphological and molecular data.

In the second part of the work the reaction of selected legume species on drought was studied. In selected legume species two kinds of field trials comparing 1) the effect of different sowing rates on forage yields and 2) the effect of late sowing terms were established. Germination trial with legume seeds in different solutions of polyethylenglycol (PEG), simulating increased osmotic pressure of soil solution under drought conditions was also established.

Within the trials comparing the influence of different sowing rates on yields the highest forage yields were obtained in the legume species *Medicago sativa* and *Onobrychis viciifolia*. The highest germination values under the conditions of increased osmotic pressure were found out in the species *Onobrychis viciifolia*.

Field trials, focused on the influence of autumn sowing terms on the field emergence of selected legumes, showed, that under dry climatic conditions September could be recommended when growth of sown plants is not limited by drought.

**Keywords:** forages, core collections, drought, germination, yields.

## OBSAH

<b>1. Úvod.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Literární přehled.....</b>	<b>12</b>
2.1. Rod <i>Trifolium</i> .....	12
2.2. Rod <i>Medicago</i> .....	19
2.3. Studium genetických zdrojů pícnin čeledi <i>Fabaceae</i> v České republice.....	24
2.4. Suchovzdornost u vybraných druhů jetelovin.....	30
<b>3. Cíle dizertační práce.....</b>	<b>36</b>
<b>4. Materiál a metodika.....</b>	<b>38</b>
4.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu <i>Trifolium pratense</i> a sestavení core kolekce.....	38
4.2. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů komplexu <i>Medicago sativa</i> a sestavení core kolekce.....	41
4.3. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu <i>Trifolium repens</i> a sestavení core kolekce.....	45
4.4. Zhodnocení české core kolekce druhu <i>Trifolium pratense</i> .....	47
4.5. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Trifolium hybridum</i> , <i>T. alexandrinum</i> a <i>T. resupinatum</i> .....	50
4.6. Vliv rozdílných výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin.....	53
4.7. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin.....	55
4.8. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin.....	56
<b>5. Výsledky.....</b>	<b>58</b>
5.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu <i>Trifolium pratense</i> a sestavení core kolekce.....	58
5.2. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů komplexu <i>Medicago sativa</i> a sestavení core kolekce.....	62

5.3. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu <i>Trifolium repens</i> a sestavení core kolekce.....	66
5.4. Zhodnocení české core kolekce druhu <i>Trifolium pratense</i> .....	69
5.5. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Trifolium hybridum</i> , <i>T. alexandrinum</i> a <i>T. resupinatum</i> .....	78
5.6. Vliv rozdílných výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin.....	82
5.7. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin.....	91
5.8. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin.....	94
<b>6.</b>	
<b>Diskuze.....</b>	<b>100</b>
6.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů, sestavení core kolekcí, jejich zhodnocení a význam.....	100
6.2. Vliv rozdílných výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin.....	104
6.3. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin.....	108
6.4. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin.....	109
<b>7. Využitelnost výsledků v praxi a náměty pro další výzkum.....</b>	<b>112</b>
7.1. Využitelnost výsledků v praxi.....	112
7.2. Náměty pro další výzkum.....	114
<b>8. Závěr.....</b>	<b>116</b>
<b>9. Seznam použité literatury.....</b>	<b>118</b>
<b>10. Seznam tabulek v textu.....</b>	<b>133</b>
<b>11. Seznam obrázků a grafů v textu.....</b>	<b>138</b>
<b>12. Seznam zkratek použitých v textu.....</b>	<b>140</b>

## 1. ÚVOD

Systematické studium genetických zdrojů jetelovin má v české republice dlouhou tradici, která sahá do poloviny dvacátého století. Od té doby bylo zhodnoceno, popsáno a v genové bance uloženo kolem 2000 položek druhů z čeledi *Fabaceae*. Nicméně mnoho znaků, zejména těch, které se hodnotí na individuálních rostlinách, nebylo dosud popsáno. Postupovalo se podle předem připravené a schválené metodiky Výzkumného zaměřu se zaměřením na detailní popis a zhodnocení celého sortimentu u hlavních druhů jetelovin. V současné době už pouze popis morfologických znaků není pro uživatele dostačující, stále častěji je zajímá míra rezistence jednotlivých položek k hlavním patogenům a další hospodářské vlastnosti. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno i ke zhodnocení polní rezistence vůči patogenům. Dále byly provedeny molekulární analýzy u kolekcí jetele lučního a vojtěšky seté. Tyto analýzy pomohly odhalit příbuzenské vztahy a duplicitu v kolekcích, což jsou ze strany uživatelů rovněž žádoucí informace.

Core kolekce (neboli jádrové, průřezové kolekce) obsahují vybranou část původní rozsáhlé kolekce tak, aby v ní byla maximálně podchycena variabilita původního velkého souboru a odstraněny duplicity v kolekci. Tím usnadňují zájemcům o genetické zdroje orientaci v často nepřehledných a rozsáhlých kolekcích. Vytvoření core kolekcí, prostřednictvím souboru na sebe navazujících kroků, vedlo ve svém důsledku ke zvýšení uživatelské hodnoty genofondových kolejí hlavních druhů jetelovin uložených v genové bance v Praze-Ruzyni. To se týká nejen hlavních druhů zemědělských plodin, ale i relativně okrajových druhů plodin s několika desítkami původů uložených v genobankových kolejích. I v České republice je přednostně zájem o původy zařazené do core kolejí. S odstupem několika let je vidět, že založení našich core kolejí mělo velký význam směrem k zemědělsko-šlechtitelské praxi a k uživatelům genetických zdrojů.

Neustále se také zvětšuje význam planých druhů a planých forem kulturních rostlin. Zejména v současné době klimatické změny a s tím souvisejících extrémních výkyvů počasí se stále více šlechtitelů a vědeckých pracovníků obrací směrem ke kolejím v genových bankách. Roste zájem o genové zdroje, zejména staré a krajové odrůdy, plané druhy a formy, položky se specifickými vlastnostmi. Důležitá je originalita a genetická čistota osiva (a to jak původního vzorku poskytnutého dárcem,

tak i osiva po regeneraci prováděné v technické nebo prostorové izolaci), uloženého v genových bankách. Předpokladem využívání těchto původů jsou jejich dobrý popis a provedené zhodnocení v polních podmínkách v naší klimatické oblasti. Takto zhodnocené genové zdroje jsou využívány jako vstupní materiály ve šlechtitelských programech, protože jsou nositeli řady důležitých znaků a vlastností (např. odolnost vůči suchu, chorobám a škůdcům), jiné lze využívat přímo v zemědělské výrobě ke zvyšování diverzity trvalých porostů, případně jako alternativní plodiny. V neposlední řadě mají své nezastupitelné místo v oblasti ochrany přírody, kde se stávají součástí regionálních druhově bohatých osivových směsí.

Klimatická změna bude mít podle většiny modelů za následek delší a častější periody sucha. Tyto změny se odrazí i u zastoupení jednotlivých druhů jetelovin pěstovaných na našem území. Stále více se budou zřejmě uplatňovat druhy tolerantní k suchu (*Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium incarnatum* a další). Naopak menší podíl budou mít druhy preferující oceánické klima – zejména druh *Trifolium pratense*. Druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* jsou doporučovány pro použití v teplých a suchých podmínkách Evropy s hlubokými půdami. Jejich hluboký kořenový systém pomáhá absorbovat méně dostupnou vodu z půdy už od počátečních vývojových stádií. Druh *Onobrychis viciifolia* je doporučován pro písčité půdy, kde dosahuje lepších výnosů než druh *Medicago sativa*.

Z hlediska omezené dostupnosti a zvyšující se ceny osiva jetelovin vzniká otázka, jestli je úspěšné založení porostů a výnosy píce u vybraných druhů jetelovin (*Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus*, *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*) ovlivněny v suchých podmínkách rozdílnými výsevky. Proto v rámci dizertační práce byly založeny a vyhodnoceny polní pokusy sledující vliv různých výsevků na výnosy a pokryvnosti jetelovin. Návazně proběhlo u stejných druhů testování klíčivosti v laboratorních podmínkách za různých koncentrací roztoku polyethylenglykolu (PEG), simulujících zvýšený osmotický tlak půdního roztoku, který se projevuje za sucha.

Vzhledem k častějším a dlouhotrvajícím periodám sucha v jarním období se stále více prosazují podzimní termíny výsevu (září až listopad), zejména v jižní a západní Evropě. Proto byl v podmínkách jižní Moravy založen pokus sledující vliv termínu výsevu na vzcházivost a zapojení porostů devíti vybraných druhů jetelovin ve srovnání se standardními jarními termíny výsevu.

Následující kapitoly v dizertační práci jsou založeny na publikovaných vědeckých článcích: V kapitole 2 (Literární přehled) jsou podkapitoly 2.1 a 2.2. (rody *Trifolium* a *Medicago*) založeny na review Smýkal & al. (2014); a podkapitola 2.3. je založena na publikaci Pelikán & al. (2014). U obou publikací je autor dizertační práce spoluautorem textu vybraných kapitol. Kapitoly 4.1., 5.1., 6.1. - Vymyslický & al. (2006), kapitoly 4.2., 5.2., 6.1. - Vymyslický & al. (2014), kapitoly 4.3., 5.3., 6.1. - Vymyslický & al. (2010), kapitoly 4.4., 5.4., 6.1. - Vymyslický & al. (2012), kapitoly 4.6., 4.7., 5.6., 5.7., 6.2., 6.3. jsou založeny na rukopise článku odeslaného do redakce (Vymyslický & Hejduk, 2015). U Kapitol 4.5. a 5.5. byly použity z publikací Pelikán & al. (2010), Knotová & al. (2010a), Knotová & al. (2010b) a Knotová (2009), ty části, které jako spoluautor zpracovával autor dizertační práce.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Rod *Trifolium* L.

Čeleď *Fabaceae* je třetí největší čeledí kvetoucích rostlin – zahrnuje 727 rodů a asi 19 325 druhů (Lewis & al., 2005). Rod *Trifolium* L. je jedním z největších rodů v této čeledi, zahrnuje přibližně 255 druhů (Gillett & Taylor, 2001; Zohary & Heller, 1984). Jméno rodu odkazuje na charakteristický tvar listů, většinou složených ze tří lístků (trifoliate). Rod je kosmopolitní, druhy se ale většinou vyskytují na severní polokouli. Primárním centrem diverzity je Eurasie (150-160 druhů), Severní Amerika (60-65 druhů) a Afrika (25-30 druhů). Víc než polovina jeho druhů pochází z Mediteránní oblasti. Zatímco většina druhů se vyskytuje v temperátních a subtropických oblastech, některé se vyskytují méně často v tropických oblastech západní Afriky a Jižní Ameriky, kde jsou ale obecně omezeni na horské a alpínské oblasti (Zohary & Heller, 1984; Raven & Polhill, 1981; Small, 1989). Rod zahrnuje jednoleté i vytrvalé druhy (Watson & al., 2000). Druhy rodu *Trifolium* se objevují v širokém spektru stanovišť; včetně luk a prerií, světlých lesů, polopouští, hor a alpínských vrcholů. Společným znakem těchto různých stanovišť je vysoký podíl slunečního záření; pouze několik druhů rodu toleruje stín (Watson & al., 2000). V některých studiích (Roskov, 1989) je rod dělen do tří separátních rodů: *Chrysaspis* Desv. (pavéza je volná, křídla a kýl srostlý jen v bazální části), *Amoria* C. Presl. (pavéza je volná, křídla a kýl srostlý do trubičky) a *Trifolium* s. str. (všechny okvětní lístky srostlé do trubičky). Rod *Chrysaspis* je velmi blízký rodu *Melilotus* (Roskov, 1989).

Rod *Trifolium* zahrnuje 16 druhů záměrně kultivovaných (Gillett & Taylor, 2001). Nejvýznamnější z hlediska jejich využití v zemědělství jsou druhy *Trifolium repens* a *Trifolium pratense*, dále se pak často pěstují druhy *T. hybridum*, *T. resupinatum*, *T. subterraneum* a *T. incarnatum*. Jetele jsou v globálním měřítku využívány jakožto pícniny, zejména jsou důležité v temperátních oblastech obou polokoulí jak k přímé pastvě, tak i pro produkci konzervované píce (Zohary & Heller, 1984). Mnoho planých druhů je také využíváno pro pastvu zvířat (Crampton, 1985). Jetele jsou velmi atraktivní pro opylovače, zejména ty s jinou barvou květů, nežli druhy *T. pratense* a *T. repens*. Mezi tyto druhy patří *T. hybridum*, *T. resupinatum*, *T. pannonicum*, *T. campestre*, *T.*

*medium*, *T. subterraneum*, *T. fragifeum*, *T. glomeratum*, *T. alexandrinum*, *T. ambiguum*, *T. incarnatum* atd. (Ishii, 2013).

Fertilní mezidruhoví hybridní se u rodu *Trifolium* získávají velmi těžko (Taylor & al., 1980), a úspěšné křížení je známo pouze mezi blízce příbuznými druhy (Taylor & Quesenberry, 1996). Existují zde ale výjimky: allotetraploidní *Trifolium repens* má původ jakožto hybrid mezi druhy *T. pallescens* a *T. occidentale* (Williams & al., 2012). Velkým úspěchem českého šlechtění je *in vitro* vytvoření, dopěstování fertilních rostlin ve skleníkových i v polních podmínkách, namnožení a následná registrace první hybridní odrůdy jetele lučního x jetele prostředního (*Trifolium pratense* x *T. medium* = *T. permixtum*), jehož osivo je už nyní dostupné na českém trhu (Jakešová & al., 2011).

Vzhledem k poměrně vysokému počtu kultivovaných druhů a širokému spektru podmínek, ve kterých se druhy rodu *Trifolium* pěstují, má šlechtění velký význam pro úspěšnou kultivaci jetelů. Šlechtitelské programy zaměřené na rod *Trifolium* jsou uskutečňovány po celém světě: Nový Zéland (Williams & al., 2007), Austrálie (Lane & al., 1997; Jahufer & al., 2002), USA (Taylor, 2008) a Velká Británie (Abberton & Marshall, 2010). Jsou zaměřeny na specifické oblasti a systémy hospodaření, ale také využívají potenciál druhu *Trifolium repens* ve výživě dobytka a ke zvýšení půdní úrodnosti (Abberton & Thomas, 2011).

Druh *Trifolium pratense* je důležitou vytrvalou pícninou v mnoha částech světa s oceánickým klimatem: západní a severní Evropa, střední Evropa, části Ruska, Japonska a USA. Druh má vystoupavou lodyhu vyrůstající z pupenů na kořenovém krčku. Jetel luční je vysoce výnosná pícnina za podmínek oceánického klimatu mírného pásma, typicky je využíván na silážování a není tolerantní k intenzivní pastvě. Je to vytrvalá leguminóza, více perzistentní v oceánickém klimatu (Taylor & Smith, 1995).

První kultivace druhu *Trifolium pratense* nejpravděpodobněji začala v jižním Španělsku kolem roku 1000 našeho letopočtu. Odsud se druh rozšířil do Holandska a Itálie. V těchto zemích byla rotační kultivace jetele doporučena pro zlepšení chudých půd (Camillo Tarello v díle Ricordo d'agricultura, 1567). Do konce 17 století se jetel luční rozšířil do převážné části Evropy, kdy dosáhl severního okraje areálu do konce 18 století (Kjaergaard, 2003). Pěstované jetele mají větší listy a kvetou dříve, nežli planí předci (Ravagnani & al., 2012).

Odrůdy jetel lučního jsou klasifikovány podle ploidní úrovně a ranosti. Tetraploidní odrůdy jsou uměle produkovány metodou znásobení chromozomových sad z diploidních původů. Časně kvetoucí, neboli dvousečné odrůdy jsou široce rozšířeny a

poskytují tři až čtyři seče ročně, z toho jsou dvě až tři hlavní s vyššími výnosy. Později kvetoucí, neboli jednosečné typy, poskytují vyšší podíl své produkce v první seči. *Trifolium pratense* je tradičně důležitou plodinou v ekologickém zemědělství, kde je používán jako zdroj dusíku pro následné plodiny v osevních sledech a jako zdroj velkého množství proteinů pro výživu zvířat. Je pěstován v monokulturách i ve směsích s travami. Jetel luční je také důležitým potravním zdrojem pro hmyz (Abberton & Thomas, 2011).

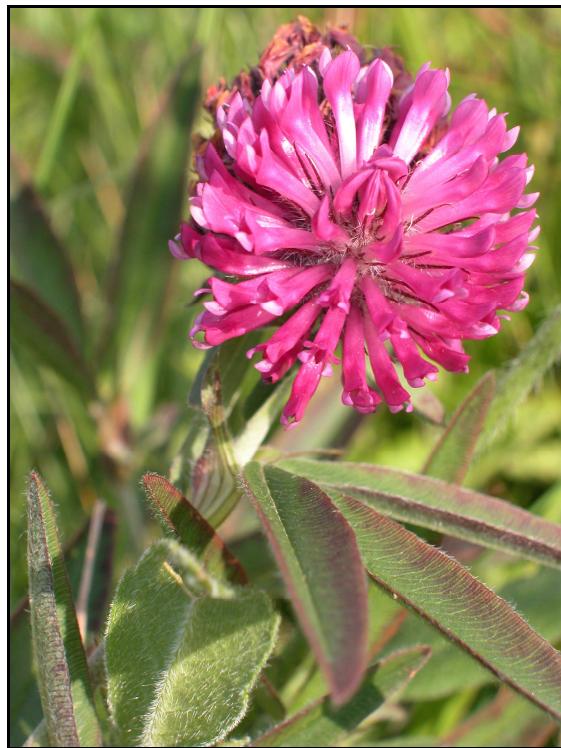
Šlechtění druhu *Trifolium pratense* bylo podrobeno v nedávné době revizi (Boller & al., 2010). Důležitými cíli šlechtění jetelového jsou vytrvalost a odolnost k chorobám a škůdcům. Programy mezidruhové hybridizace mezi *Trifolium pratense* a příbuznými druhy byly v nedávné době také revidovány (Abberton, 2007). Hlavní důraz je kladen na prodloužení vytrvalosti, díky křížení s vytrvalejšími druhy, zejména *T. medium* (Jákešová & al., 2011).

Jetel plazivý (*Trifolium repens*) je vytrvalá jetelovina, která je hlavní leguminózou pastevních porostů ve většině oblastí mírného pásmu. Pro pícní využití je vždy používán ve smíšených porostech s travami – nejčastěji s jílkem vytrvalým (*Lolium perenne*). Jetel plazivý může ve smíšeném travním porostu přispět fixací až 250 kg dusíku na hektar za rok. *Trifolium repens* vytváří hustou síť nadzemních výběžků (stolonů), které jsou spojeny s odolností k sešlapávání a časté defoliaci při pastvě a jsou příčinou vysoké vytrvalosti v zatěžovaných porostech. Důležitými šlechtitelskými cíli jsou rezistence k chorobám a škůdcům, efektivita využití zdrojů (voda, živiny) a kompatibilita s travami (Abberton & Thomas, 2011).

Mnoho minoritních druhů jetelů může být zajímavých s ohledem na budoucí šlechtitelské využití. Mezi tyto zájmové druhy patří také nejbližší příbuzní kulturního druhu *Trifolium repens*, a sice diploidní druhy *T. pallescens* a *T. occidentale*. Autoři Badr & al. (2012) zhodnotili genetickou diverzitu a ancestrální vztahy u zástupců rodu *Trifolium* za použití metod AFLP a RAPD. Potvrdili blízkou příbuznost druhů *T. nigrescens* a *T. occidentale* ke druhu *T. repens*. Dále nalezli společné alely mezi druhy *T. repens*, *T. occidentale* a *T. uniflorum*. Druh *T. occidentale* vykázal blízkou fylogenetickou příbuznost ke druhu *T. pallescens*. Další druhy, jako např. *T. elegans* mohou mít lokální zemědělský význam, a proto by měly být více uchovávány v kolekcích. Druh *T. diffusum* byl například úspěšně použit na hybridizaci s druhem *Trifolium pratense* (Strzyzewska, 1995).

Přehledový článek o úspěších ve šlechtění jetelovin k odolnosti vůči biotickým a abiotickým stresům a o biodiverzitě publikovali autoři Chandra & al. (2010). Současné pokroky v molekulárních technikách vytvořily příležitosti pro genetické zlepšování plodin. Jeteloviny jako například *Medicago sativa* nebo *Trifolium alexandrinum* představují velké výzvy pro molekulární biology, biotechnology a šlechtitele rostlin. Tkáňové kultury byly úspěšně využity pro vývoj regeneračního protokolu, genetickou transformaci a transfer cílených znaků z planých druhů. Hlavní důraz při genetické transformaci potravinových plodin a jetelovin byl kladen na vývoj transgenních rostlin odolných k biotickým a abiotickým stresům, a na zlepšení jejich kvality (Chandra & al., 2010).

Genetické zdroje jetelů jsou shromažďovány v početných kolekcích po celém světě. EURISCO databáze (<http://eurisco.ecpgr.org>) je založena na evropské síti 51 organizací. EURISCO katalog obsahuje pasportní data celkem téměř 1,1 milionu vzorků reprezentujících celkem 5 586 rodů a 36 356 druhů ze 43 zemí (stav ke konci května 2012). Z čeledi *Fabaceae* dominuje s 25 918 původy rod *Trifolium*. Mezi jeteli má *T. pratense* 8410, *T. repens* 4520 a *Trifolium* spp. 12 988 původů. Co se týká jetelů, hlavní kolekce jsou udržovány ve Velké Británii, Španělsku, Rusku a Itálii. Genová banka VIR Sankt Petersburg (Rusko) má 4605 původů z rodu *Trifolium*. IPK Gatersleben (Německo) má v kolekci 1657 původů: *Trifolium repens* 136, *T. pratense* 572, *Trifolium* spp. 949. Kolekce jetelů v databázi GRIN (the U.S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service, USDA–ARS) (<http://www.ars-grin.gov/npgs>) zahrnuje údaje o genetických zdrojích ze 74 zemí celého světa (zejména jižní Evropa, Asie, Pacifické pobřeží Severní Ameriky). USDA má v kolekcích 6229 původů - 815 patří ke druhu *Trifolium repens*, 1367 patří ke druhu *T. pratense* a 4047 patří k *Trifolium* spp. Jetele severní Afriky a Etiopie jsou převážně uchovávány v International Center for Agricultural Research in the Dry Areas – ICARDA ([www.icarda.org](http://www.icarda.org)). Zde se uchovává celkem 4536 původů, z nichž patří ke druhu *T. pratense* 67, *T. repens* 84 a *Trifolium* spp. 4385 položek. ICARDA a USDA mají v kolekcích mnoho planých druhů.



Obrázek 1: *Trifolium alpestre* – planý druh jetele rostoucí na suchých kyselých půdách v teplých oblastech ČR. České Středohoří, Hradišťanská louka, suchomilný stepní trávník, 20.7.2004. © Tomáš Vymyslický

U některých druhů byly navrženy projekty na jejich *in situ* ochranu, u druhů *T. occidentale*, *T. pallescens*, *T. ambiguum* a *T. nigrescens* se jedná o prioritní druhy a jejich ochranu (Abberton & Thomas, 2011). Co se Evropy týká, tak Lamont zmiňuje další druhy jetelů důležitých z hlediska *in situ* konzervace: *T. fragiferum*, *T. cherleri*, *T. hirtum* a *T. subterraneum* (Lamont & al., 2001).

Pro popis genetických zdrojů jetelů je používán tzv. „multi-crop passport descriptor list“, což je mezinárodní standard umožňující výměnu informací týkající se genetických zdrojů (<http://eurisco.ecpgr.org/documents>) a dále „GRIN taxonomic nomenclature checker“, což je systém na kontrolu nomenklatury. Významnou kolekci rodu *Trifolium* má AgResearch, Nový Zéland (Margot Forde Forage Germplasm Centre). Jetele významné pro zemědělství jsou dobře zastoupeny, ale u velkého počtu druhů jsou shromážděny jen nízké počty vzorků. Většina položek rodu *Trifolium* jsou plané populace, ale významné počty naleží i krajovým odrůdám, tradičním kultivarům anebo upraveným či selektovaným materiálům. Důležitou otázkou je to, do jaké míry mají současné kolekce reprezentativní úroveň geografického rozšíření v různých regionech po světě (Abberton & Thomas, 2011).

Studium variability v kolekcích bylo především založeno na morfologických, fenologických a agronomických znacích zjištovaných u individuálních původů. Vztahy mezi studovanými znaky jsou komplikované a pro jejich zhodnocení je potřebné použít mnohorozměrné statistické metody. Shluková analýza je užitečný nástroj pro klasifikaci genotypů. Můžeme zkoumat, zdali mají různé materiály nějaké společné znaky. Dále mohou být studovány korelace agronomicky významných znaků. Proniknutí do komplikovaných vztahů mezi znaky shromážděnými během analýz, a výběr materiálů pro core kolekce jsou ve většině případů založeny právě na studiu vztahů mezi znaky prostřednictvím mnohorozměrné statistiky (Weihai & al., 2008).

Core kolekce mají velký význam pro budoucí využití šlechtiteli a výzkumníky. Umožňují snazší orientaci ve velkých kolekcích. Semenné vzorky zástupců core kolekce jsou přednostně podrobovány bezpečnostní duplikaci v zahraničních genových bankách. Tyto kolekce byly studovány z pohledu morfologie a také molekulárních markerů. Molekulární a morfologická data spolu nekorelovala.

Ve světě je studiu genetických zdrojů věnována značná pozornost. Boller & al. (2003) studovali kolekci starých švýcarských krajových odrůd u druhu *Trifolium pratense*. Zhodnotili soubor 20 odrůd a našli významnou vnitro i mezi odrůdovou variabilitu. Autoři zdůraznili význam starých kultivarů a krajových odrůd jako donorů cenných znaků. Genetické zdroje druhu *Trifolium pratense* a možnosti jejich využití byly podrobně studovány také na Slovensku. Bylo zhodnoceno 54 odrůd z různých geografických oblastí za využití základní a mnohorozměrné statistiky. Hodnocený soubor byl rozdělen podle individuálních znaků a výsledky byly poskytnuty šlechtitelským stanicím (Drobná, 2004). Genetické zdroje druhu *Trifolium pratense* v Turecku zhodnotil Onal (2011). Autor studoval morfologicko-agronomické vlastnosti a na základě shlukové analýzy rozčlenil 48 původů *Trifolium pratense* do 8 skupin. Drobná & Žáková (2001) zhodnotily soubor 15 znaků na 36 genotypech druhu *Trifolium repens*. Po statistickém zhodnocení shlukovou analýzou našly ve shlucích odrůdy s podobným geografickým původem nebo s podobnými kvalitativními znaky. Studium variability v kolekcích je převážně založeno na morfologických, fenologických a agronomických charakteristikách jednotlivých genotypů. Aplikací mnohorozměrné statistiky mohou být odrůdy odlišeny nebo sdruženy na základě podobnosti zhodnocených znaků nebo charakteristik (Užík & Žofajová, 1997). Kouamé & Quesenberry (1993) využili shlukovou analýzu pro klasifikaci celé kolekce druhu *Trifolium pratense* jako základu při vytváření core kolekce. Podobně nebyla u populací

druhu *Trifolium pratense* zjištěna shoda mezi klasifikacemi založenými na morfologických datech a na hodnocení kolekce pomocí RAPD markerů (Greene & al., 2004).

Studie genetické diverzity jsou velmi důležité pro poznání vzájemných vztahů mezi jednotlivými původy nejen u jetelovin. Molekulární techniky jsou stále více využívány k charakterizaci genetických zdrojů jetelovin (Kolliker & al., 2009). George & al. (2006) použil SSR markery ke zhodnocení diverzity kultivarů u druhu *Trifolium repens* a Mosjidis & Klinger (2006) zhodnotili genetickou diverzitu core kolekce v rámci americké kolekce druhu *Trifolium pratense*. Nicméně, současný rozvoj založený na mapování genomů a fyzického mapování druhů *Trifolium repens* a *T. pratense* (Isobe & al., 2003; Jones & al., 2003), nastolil etapu využití velkého množství polymorfismů jednoduchých nukleotidů novými způsoby (např. těch založených na asociační genetice) za účelem propojení fenotypu a genotypu napříč širokým spektrem geneticky různých materiálů. Watson & al. (2000) studovali molekulární fylogenezi druhů rodu *Trifolium* z oblasti Starého světa založeného na plastidových a molekulárních markerech. Fylogenetické mapy 59 druhů rodu *Trifolium* a 118 původů byly zkonstruovány za využití nukleotidových sekvenčních dat. Celkem 686 materiálů naležejících ke 218 druhům rodu *Trifolium* bylo sekvenováno autory Ellison & al. (2006). Výsledky pomohly stanovit fylogenetické vztahy v rámci rodu *Trifolium*.

Kompletní přehled genetických zdrojů druhu *Trifolium subterraneum* byl publikován autory Nichols & al. (2013). Autoři vytvořili core kolekci 97 původů, reprezentující téměř 80% genetické diverzity tohoto druhu, a genetickou mapu, poskytující platformu pro rozvoj budoucích kultivarů s novými znaky výhodnými pro dobytek i semenářské podniky. Nové znaky, které jsou hodnoceny, zahrnují zvýšenou efektivitu využití fosforu a snížené emise metanu u přežvýkavců chovaných na pastvinách. Ekonomické analýzy indikují, že budoucí rozvoj by se měl zaměřit na znaky přispívající ke zvýšené vytrvalosti a k podzimní produkci biomasy, zatímco další potenciální znaky zahrnují zvýšenou nutriční hodnotu zejména staršího materiálu, zvýšenou fixaci N<sub>2</sub> a toleranci k levným herbicidům.

Molekulární a morfofyziologická diverzita přírodních populací, krajových odrůd a tradičních komerčních kultivarů druhu *Trifolium pratense* byla studována autory Pagnotta & al. (2011). Morfofyziologická data jasně ukazovala na typ materiálu a jeho geografický původ, bohužel jinak nežli výsledky založené na molekulárních markerech. Geografické vzdálenosti mezi krajovou odrůdou nebo přírodní populací byly

korelovány se vzdáleností založenou na morfofyziologických znacích. Znaky založené na molekulárních markerech nebyly uvažovány. Průměrná vnitropopulační variance, stanovená pomocí molekulárních markerů, byla asi 2,6 krát vyšší, nežli mezi populacemi. Přírodní populace měly tendenci mít vnitropopulační varianci podobnou jako odrůdy a nižší, než krajové odrůdy.

## 2.2. Rod *Medicago* L.

První taxonomická a fylogenetická analýza rodu *Medicago* byla provedena v roce 1979 (Lesins & Lesins, 1979). Na základě použití morfologických znaků, autoři Small & Jomphe (1989), rozlišují 12 sekcí a 8 subsekcí. Byla zjištěna velká nesourodost mezi morfologickými a molekulárními znaky (Bena, 1998). Výsledky fylogenetické analýzy plastidu *trnK/matK* a jaderných *GA3ox1* sekvencí, podporují výše zmíněné členění, sect. *Medicago* a sect. *Buceras*, ale navrhují přesun *M. arborea* L., *M. citrina* (Font Quer) Greuter a *M. strasseri* Greuter, Matthäs & Risso, ze současné sekce *Dendrotelis* do sekce *Medicago*. Výsledky potvrzují správnost sekcí *Lupularia* a *Platycarpa* (Steele & al., 2010). Komplikované evoluční vztahy v rodu *Medicago* jsou zapříčiněny běžně se vyskytující hybridizací v rámci rodu (Maureira-Butler & al., 2008; Steele & al., 2010).



Obrázek 2: *Medicago prostrata* – vojtěše seté příbuzný planý druh s vysokou mírou suchovzdornosti.

Moravský Krumlov, vápnomilná stepní vegetace na slepencích, 19.8.2003. © Tomáš Vymyslický

Vojtěška je součástí komplexu *Medicago sativa*, který zahrnuje diploidní (2n=16) a tetraploidní (2n=32) formy mající modré nebo žluté květy a svinuté nebo srpovité lusky. Některé formy mají žláznaté trichomy na luscích. V současnosti nejuznávanější taxonomická klasifikace je založena na ploidní úrovni, hybridizaci, barvě květu, tvaru plodu a přítomnosti žláznatých trichomů na plodech (Small, 2011). Taxony uvnitř komplexu *Medicago sativa* spadají do primárního nebo sekundárního souboru genů skupiny *Medicago sativa*. Nejvíce záleží na ploidní úrovni (Small, 2011). Plané příbuzné druhy v primárním souboru genů druhu *Medicago sativa* představují tetraploidní formy *M. sativa* subsp. *falcata*, *M. sativa* L. subsp. *glomerata* (Balb.) Rouy, *M. sativa* subsp. *sativa*, *M. sativa* L. nothosubsp. *tunetana* Murb., *M. sativa* L. nothosubsp. *varia*, *M. sativa* subsp. *falcata* var. *viscosa* (Rchb.) Posp. Literární odkazy popisující vnitrodruhové a mezidruhové křížení jsou k dispozici v díle Small (2011).

*Medicago sativa* je velmi variabilní rostlina. Je to vytrvalá, autotetraploidní (2n=4x=32) (McCoy & Bingham, 1988), cizosprašná a hmyzosnubná rostlina, opylovaná nejčastěji samotářskými včelami. Skutečnosti, že taxonomy v rámci komplexu *Medicago sativa* mají stejný areál, že taxonomy o stejně ploidní úrovni se často a snadno kříží, že je ploidní bariéra relativně slabá kvůli časté redukci gamet, přispívají významnou měrou k velké diverzitě, kterou můžeme pozorovat v komplexu *Medicago sativa* (Kaljund & Leht, 2013). Taxony uvnitř komplexu *Medicago sativa* se vyskytují napříč Eurasíí, od Velké Británie po východní Sibiř, na jih podél severního pobřeží Středozemního a Černého moře až do východního Turecka, severního Iráku a Íránu, až do Kazachstánu. *M. sativa* subsp. *glomerata* zasahuje do severního Alžírska. Fylogeografické analýzy poskytují početné důkazy o tom, že genetické zdroje v rámci komplexu *Medicago sativa* představují extenzivní adaptaci k velkému množství různých stanovišť (Sakiroglu & al., 2010; Sakiroglu & Brummer, 2013). *Medicago sativa* subsp. *sativa* se vyskytuje ve stepích, na loukách, ale i na písečných dunách. Druh má optimum na úrodných vlhkých půdách s pH 6,0-6,5. *M. sativa* subsp. *caerulea* – diploidní ancestrální typ subsp. *sativa* – je více tolerantní k suchu a některé ekotypy jsou adaptovány k zasolení půd (Lubenets, 1953). Druh *Medicago falcata* je adaptován i k podmínkám v chladné suché stepní oblasti, a mohl by být v této oblasti pěstován častěji, nežli *M. sativa* (Oakley, 1917; Lesins & Lesins, 1979). *M. sativa* subsp. *glomerata* se objevuje v horských oblastech s humidním klimatem (Small, 2011). *Medicago sativa* subsp. *falcata* var. *viscosa* a *M. sativa* nothosubsp. *varia* mají stejné adaptace jako *M. sativa* subsp. *falcata*. Tyto vnitrodruhové taxonomy mohou být rozlišeny

podle barvy květu a tvaru lusku. Mnoho ekotypů má velmi malou variabilitu ve znacích jako velikost a tvar listu, růstový habitus (vzpřímený nebo poléhavý), chlupatost listů a lusků, míra vinutí lusku atd. Tato široká rozmanitost se odráží v početných synonymech asociovaných s tímto druhem. Jejich přehled publikoval Small (2011).

*Medicago sativa* je nejvíce pěstovanou pícninou na světě. Nejen z hlediska výživy zvířat je vojtěška důležitá zejména obsahem proteinů, dále pak i sacharidů. Z globálního hlediska je druh *Medicago sativa* mezi 10 nejpěstovanějšími proteinovými plodinami (Sumner & Rosen-Molina, 2011). FAO odhaduje, že v roce 2009 byl druh *Medicago sativa* pěstován celosvětově na asi 30 milionech hektarů; z toho 66 % bylo v Severní Americe a v Evropě; Jižní Amerika představovala 23 % a Asie, Afrika a Oceánie pak zbytek (FAO, 2013). Nejcennější charakteristiky druhu *Medicago sativa* zahrnují adaptaci k širokému spektru klimatických podmínek, schopnost fixovat až 560 kg dusíku na hektar za rok (Small, 2011), produkovat velké množství biomasy s vysokou nutriční hodnotou (obsah hrubé bílkoviny 15 až 22 %), produkovat nektar lákající včely, hluboké kúlovité kořeny, které zlepšují půdní úrodnost a vytrvalý růstový habitus, který zabraňuje půdní erozi. Ve formě píce je druh *Medicago sativa* primárně používán jako krmivo nejen pro dojnice, ale také pro koně, masný skot, ovce, drůbež a další hospodářská zvířata (Small, 2011). Listy vojtěšky jsou bohaté na proteiny a vitamíny, zároveň mají tenkou buněčnou stěnu, a proto jsou snadno stravitelné. Ve srovnání s listy mají stonky nízkou stravitelnost v důsledku vysokých koncentrací polysacharidů buněčné stěny a ligninu (Schnurra & al., 2007). Vojtěška je cenná plodina podporující biodiverzitu a agroekosystémové služby (Putnam, 2001). V Austrálii je používána k redukci půdní salinity (Robertson, 2006). Ve Spojených Státech byly vyšlechtěny odrůdy k bioremediaci půd s vysokým obsahem dusíku (Russelle & al., 2007). Druh *Medicago sativa* je také používán v lidské výživě ve formě výhonků, šťáv a moučky. Potenciální nová využití zahrnují biopaliva, a produkce průmyslových enzymů, jako například peroxidázy, alfa-amylázy, celulázy a fytázy (Small, 2011).

Konvenční šlechtitelské programy komplexu *Medicago sativa* obecně vyhodnocují cenné genetické zdroje ve školkách a také v pokusech zaměřených na odolnost proti škůdcům a chorobám. Úspěšné materiály jsou poté zahrnutý do elitních populací za využití fenotypické nebo genotypické rekurentní selekce. Dalším krokem je produkce syntetických odrůd prokřížením individuálních rostlin a sklizní stejného množství semen z každého rodiče. Semena jsou poté součástí Syntetické 1. generace. Konvenční šlechtitelské techniky za použití Marker assisted selection (MAS) a genetického

engineeringu byly použity s cílem vyvinout odrůdy rezistentní k zasoleným půdám (Reich, 2012). Genetický engineering je zaměřen na vyšlechtění genotypu *Medicago sativa*, který by byl nutričně hodnotnější díky snížené produkci ligninu a zvýšení produkce taninu (Mc Caslin & Reisen, 2012).

Druh *Medicago truncatula* byl vybrán jako referenční organismus, u kterého proběhlo osekvenování genomu. Znalost genomu druhu *M. truncatula* slouží při porovnávání s jinými zástupci této čeledi. Znalost genomu tohoto druhu výrazně přispívá k objevení nových genů a jejich funkcí u příbuzných druhů (Bell & al., 2001). Protože organizace genomu organismů u jedné taxonomické skupiny je většinou dobře zakonzervovaná, informace o pořadí genů a jejich organizaci u jednoho druhu můžeme zobecnit na další druhy v rámci rodu nebo i čeledi. Druh *M. truncatula* má malý diploidní genom (500 Mbp), je schopný samoopylení a má krátkou dobu života. Je ideální pro genetické studie, protože má vysokou úspěšnost při transformacích, existuje dostatek fenotypových mutantů, ale i různých přírodních ekotypů (Constabel, 1999).

Vojtěška je mezi motýlokvětými pícninami využívanými v zemědělství nejdůležitějším druhem. V hlavních světových genových bankách je uloženo celkem více než 91 000 původů rodu *Medicago* (FAO 2010). Největší počet v globální kolekci je reprezentován planými druhy (47 %), krajovými odrůdami (6 %), šlechtitelskými liniemi (7 %) a kultivary (6 %). Celkem 34 % jsou neznámé původy (FAO, 2010). Autoři Greene & al. (2012) zkoumali v *ex situ* kolekcích zastoupení planých příbuzných druhů z komplexu *Medicago sativa* původně se vyskytujících v Ruské federaci a v sousedních zemích. Zjistili, že zastoupení Krymu, hor střední Asie (s výjimkou subsp. *sativa*) a východní Sibiře bylo nízké, navzdory skutečnosti, že to jsou významná centra diverzity a adaptace k extrémním podmínkám prostředí. Podhodnocené taxony zahrnují *M. sativa* subsp. *falcata* var. *viscosa* a *M. sativa* subsp. *glomerata*. Jejich tetraploidní verze jsou zastoupeny v primárním souboru genů; zatímco diploidní verze jsou zastoupeny v sekundárním souboru genů. Jako podhodnocené plané příbuzné druhy v terciárním souboru genů byly stanoveny *M. saxatilis*, *M. papillosa*, *M. rupestris*, *M. daghestanica* a *M. marina* (Greene & al., 2012). Další hodnocené regiony, kde se nalézají cenné genetické zdroje komplexu *Medicago sativa*, jsou Írán, Irák, Afganistán a severní Pákistán (Bauchan & Greene, 2002). Globální analýza mezer 13 planých příbuzných druhů z komplexu *Medicago sativa* ukázala, že 70 % druhů bylo zařazeno do skupiny vysoce prioritních druhů z hlediska sběrů, 15 % bylo ze skupiny střední priority a 15 % ze skupiny nízké priority. Hlavní mezery z hlediska vysoce prioritních

planých příbuzných druhů komplexu *Medicago sativa* byly detekovány v jihovýchodní části poloostrova Krym, jižní Gruzii, Arménii a v částech Turecka (CWR & Climate Change, 2013). Využití genetických zdrojů z komplexu *Medicago sativa* nebrání nedostatek diverzity v *ex situ* kolekcích, ale mnohem více nízký zájem z hlediska zhodnocení a následného využití ve šlechtění. Značné úsilí bylo vynaloženo od počátku osmdesátých do poloviny devadesátých let minulého století na zhodnocení USDA kolekce komplexu *Medicago sativa*. V současné době jsou známy chromozómové počty taxonů, které mají diploidní i tetraploidní formy, v rámci komplexu *Medicago sativa* (Brummer & al., 1999; Sakiroglu & Brummer, 2011; Sakiroglu & Kaya, 2012). Přibližně třetina kolekce byla zhodnocena z hlediska rezistence ke 13 chorobám a 7 hmyzím škůdcům. Dále bylo zhodnoceno 7 výživářských kvalitativních znaků, a byla hodnocena i míra tolerance k pěti abiotickým stresům. Data jsou dostupná v systému GRIN (Bauchan & Greene, 2002). Gubiš (2001) studoval rezistenci druhu *Medicago sativa* k bakteriálnímu vadnutí. Nalezl nejvíce rezistentní materiály mezi planými druhy.

Porozumění genetické struktuře původů druhu *Medicago sativa*, včetně identifikace různých divergentních populací, napomůže výrazně při jejich využití ve šlechtitelských programech (Bhandari & al., 2011). Diverzita DNA markerů, morfologických a agronomických znaků byla se střídavými úspěchy využita k vyřešení komplikované taxonomie okruhu *Medicago sativa* (Brummer & al., 1991; Fairey & al., 1996; Zaccardelli & al., 2003). Využití pouze několika málo markerů nebo znaků pro charakterizaci v rámci těchto studií mohlo vést k problémům při determinaci původů z tohoto okruhu. Jak ukázal Brummer & al. (1995) ve své studii, která se věnovala genetické diverzitě vojtěšky za využití RAPD markerů, pro dobré odlišení šesti jednoletých druhů vojtěšky, které by korespondovalo s tradiční taxonomií, potřeboval alespoň 100 markerů. Segovia-Lerma & al. (2003) uvádí, že je potřeba přibližně 200 markerů, abychom měli 95% pravděpodobnost lokalizace alespoň jednoho markeru na každém ze 64 chromozómových ramen u tetraploidní vojtěšky seté. Tito autoři také uvádějí, že několik set markerů bylo zapotřebí k vyhodnocení fylogenetických vztahů mezi osmi populacemi *M. sativa*. Tyto výsledky ukazují na to, že allogamní charakter komplexu *M. sativa* často generuje populace se sdílenými alelami a hybridními fenotypy, které mohou snižovat genetickou vyhraněnost jednotlivých původů (Bhandari & al., 2011).

### **2.3. Studium genetických zdrojů pícnin čeledi *Fabaceae* v České republice**

Pícninářský výzkum v České republice má dlouhou tradici. Moderní pícninářský výzkum jetelovin započal se vznikem specializovaného pracoviště nejprve v Brně, a pak v Troubsku u Brna. Od roku 1993 je pracoviště zapojeno do řešení „Národního programu konzervace a využití genofondu rostlin a agro-biodiversity“. Vedle hlavních pícních druhů čeledi *Fabaceae* (vojtěška, jetel luční, jetel plazivý) je pozornost zaměřena na tzv. maloobjemové druhy (jetel hybridní, jetel alexandrijský, jetel perský, vičenec, štírovnik), některé plané druhy rodů *Vicia* a *Lathyrus*, a perspektivní druhy pro zvyšování diverzity jetelotrvaných společenstev z čeledi *Fabaceae*.

Za dobu řešení Národního programu je pozornost při shromažďování, zkoušení a popisování věnována především hlavním pícním druhům čeledi *Fabaceae*. Pokusy jsou zakládány metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních na píci a třech opakováních na semeno. V těchto pokusech jsou hodnoceny výnosové charakteristiky, hospodářské znaky, některé morfologické charakteristiky a odebírány vzorky pro stanovení kvality píce. Dále jsou prováděny individuální výsadby pro popis morfologických a výnosových charakteristik na rostlinách (Pelikán & al., 2005). Při nedostatku osiva jsou zakládány řádkové kultury pro získání základních popisních charakteristik. Do pokusů jsou zařazovány české a zahraniční odrůdy získané darem od majitelů, případně výměnou a dále plané formy, získané sběry ve volné přírodě. Popisy jsou prováděny pomocí klasifikátorů pro příslušný druh, případně rod. Výsledky jsou průběžně publikovány v odborném tisku.

Tabulka 1: Počty genetických zdrojů testovaných na pracovišti v Troubsku

Skupina	1953 -1962	1963 -1972	1973 -1982	1983 -1992	1993 -2002	2003 -2013	Celkem za NP
Vojtěška		35	81	83	122	149	470
Jetel luční		33	101	69	27	136	366
Jetel plazivý		85	55	72	54	41	307
Štírovnik			36		4	38	78
Ostatní jeteloviny	8	19	16	8	40	145	236
Lupina		25					25
Plané <i>Fabaceae</i>	954		234	12			1200
Celkem	962	197	523	234	247	509	2682
							756

V Tabulce 1 jsou uvedeny počty položek přezkoušených na pracovišti v Troubsku za dobu práce s genofondy po desetiletích a samostatně za 20 let řešení Národního programu. Celkově bylo pracovištěm otestováno 2682 položek pícních druhů čeledi *Fabaceae*. Nejvíce položek patří k hlavním druhům jetelovin, což jsou vojtěška, jetel luční, jetel plazivý a některé jednoleté druhy. Za dobu řešení Národního programu bylo přezkoušeno celkem 756 druhů čeledi *Fabaceae*.

Vedle domácích a zahraničních odrůd pícních druhů jetelovin jsou nedílnou součástí genofondů také plané položky těchto druhů a jim příbuzných druhů získaných sběry ve volné přírodě.

Tabulka 2: Položky získané individuálními sběry a v rámci sběrových expedic.

Rok	Sběrové expedice						Individuální sběry			
	Tuzem-ské	Zahra-niční	Získané položky	Předané			Získané položky	Předané		
				GB	Jiné ústavy	Prac. kol.		GB	Jiné ústavy	Prac. kol.
1993	1		153	50			37	19		
1994	1		165	82			224	117		
1995	1		115	20		3	389	195		2
1996	1		103	10	2		222	100		2
1997	1		104	27		1	104	54		
1998	1		171	20		3	178	103	1	1
1999	1	1	194	20	16	16	85	31	2	3
2000	1	2	146	29		24	48	31	1	
2001	2	2	288	56	5	25	153	83	2	12
2002		2	110	18	17	41	77	22	9	13
2003	1		69	17	29	17	45	7	2	12
2004	1	1	124	61	7	25	22	7	3	6
2005	1	2	86	20	19	42	14	5	2	6
2006	1	1	69	3	42	6	9	4		4
2007	1	2	135	5	82	46	7	5		1
2008	1	1	67	19	8	37	12	2		8
2009	2	2	151	16	97	37	10	3	5	
2010	2	2	140	13	73	54	1			1
2011	1	1	57	4		53	4			4
2012	2	2	67	35		32				
2013	1	2	100			100	5			5
Celkem	24	23	2614	525	397	562	1646	788	27	80

Přehled o těchto položkách získaných v rámci řešení Národního programu je uveden v Tabulce 2 za jednotlivé roky řešení jak v rámci individuálních sběrů, tak i sběrových expedic v tuzemsku i v zahraničí. Podrobně je problematika sběrů popsána Vymyslickým & al. (2005). Celkově se za dobu řešení Národního programu uskutečnilo 24 tuzemských a 23 zahraničních sběrových expedic. V zahraničí byly sběry realizovány na Slovensku, v Polsku, Rakousku, Maďarsku, Slovinsku, Srbsku a Chorvatsku. V prvních letech řešení Národního programu převažovaly individuální sběry, v posledních 10 letech je větší pozornost věnována získávání materiálů v rámci sběrových expedic. Je však nutno připomenout, že vzorky získané individuálními sběry jsou mnohdy kvalitnější, především z hlediska klíčivosti, protože individuální sběry lze načasovat na optimální dobu zralosti semen.

V poslední době pracoviště rozšířilo při práci s genetickými zdroji činnost o charakterizaci s použitím DNA markerů. Tato činnost je zabezpečována dodavatelsky při použití metody AFLP a SSR. V současné době je tímto způsobem zhodnocena prakticky celá kolekce *Medicago sativa* a *Medicago x varia*.



Obrázek 3: Diverzita kvetoucích rostlin druhu *Medicago sativa* v individuálních výsadbách v rámci DUS testů. Stanice ÚKZUZ, Brno-Chrlice, 20.6.2008. © Tomáš Vymyslický

Pro rozsáhlost vybraných významných pícních druhů jetelovin: rod vojtěška (*Medicago sativa*, *Medicago x varia* a *Medicago falcata*), jetel luční (*Trifolium pratense*), jetel plazivý (*Trifolium repens*), jetel hybridní (*Trifolium hybridum*) a rod

štírovník (*Lotus*) bylo provedeno zhodnocení všech původů v individuálních výsadbách, porovnání jejich podobností pomocí metody shlukové analýzy a na základě dosažených výsledků vybráni zástupci do „core kolekce“. Přehled je uveden v Tabulce 3. Současně byly v kolekcích zjišťovány duplicity. Zkušenosti získané při této činnosti vedly k vydání uplatněné certifikované metodiky 9/09 - Metodika tvorby „core collection“ u motýlokvětých pícnin (Pelikán & al., 2009).

Tabulka 3: Počty hodnocených původů a položek zařazených do „core kolekcí“

Druh	Počet hodnocených původů	Počet původů zařazených do core
<i>Medicago sativa, varia, falcata</i>	457	99
<i>Trifolium pratense</i>	214	76
<i>Trifolium repens</i>	162	41
<i>Trifolium hybridum</i>	25	11
<i>Lotus corniculatus</i>	34	25

Tabulka 4: Přehled zpracovaných klasifikátorů

1	Užík M., Vacek V., Tomašovičová A., Bareš I., Sehnalová J., Blahout J.	Klasifikátor genus <i>Trifolium</i> L.	1985
2	Vacek V., Mrázková V., Sestrienka A., Sehnalová J., Bareš I., Hájek D.	Klasifikátor genus <i>Medicago</i> L.	1985
3	Hýbl M., Smolíková M., Faberová I.	Klasifikátor <i>Cicer arietinum</i> L.	1998
4	Hofbauer J., Uher J., Faberová I.	Klasifikátor <i>Carthamus tinctorius</i> L.	2001
5	Hutyrová H., Minjaríková P., Pelikán J., Knotová D.	Klasifikátor rod svazenka ( <i>Phacelia</i> Juss.)	2010
6	Vymyslický T., Neugebauerová J., Faberová I.	Klasifikátor genus <i>Glycyrrhiza</i> L.	2010
7	Knotová D., Pelikán J., Minjaríková P., Hutyrová H.	Klasifikátor genus <i>Lotus</i> L.	2013

Nedílnou součástí práce s genetickými zdroji je zpracování klasifikátorů pro hodnocení zkoušených materiálů. Návrh prvního klasifikátoru zpracovali Vacek & al. (1971) pro popisy odrůd víceletých kulturních druhů rodu *Medicago* L. a tento se stal později základem pro vypracování Klasifikátoru genus *Medicago* L. a následně také Klasifikátoru genus *Trifolium* L. Celkově se pracoviště podílelo na vypracování 7 klasifikátorů, jejichž přehled je uveden v Tabulce 4.

Nedílnou součástí práce s genofondy je ukládání semenných vzorků do české národní genové banky v Praze-Ruzyni. Celkem je tam uloženo 2011 semenných vzorků. Společně se semennými vzorky se do informačního systému ukládají pasportní a popisná data. Přehled je uveden v Tabulce 5.

Tabulka 5: Počty předaných pasportních a popisných dat do centrální evidence EVIGEZ a počty vzorků předaných do GB celkově a za dobu řešení Národního programu. Jsou uvedeny všechny položky včetně nedostupných, chráněných a pracovní kolekce.

		Pasport		Popis	GB	
		Celkem	1993-2013		Celkem	1993-2013
T01	<i>Medicago sativa</i> L.	586	357	549	540	445
T02	<i>Trifolium pratense</i> L.	619	222	508	360	265
T03	<i>Trifolium repens</i> L.	346	194	256	277	249
T04	<i>Trifolium hybridum</i> L.	69	43	39	57	57
T05	<i>Trifolium</i> sp. (other sp.)	270	226	77	241	241
T06	<i>Anthyllis</i> L.	35	32	1	33	33
T08	<i>Astragalus</i> L.	92	87	3	79	79
T09	<i>Coronilla</i> L.	43	40	2	42	42
T10	<i>Chamaecytisus</i> LINK.	9	9		7	7
T11	<i>Dorycnium</i> MILLER	10	10		8	8
T12	<i>Galega</i> L.	5	4	3	4	9
T13	<i>Genista</i> L.	27	27		27	27
T14	<i>Lotus</i> L.	101	67	49	73	73
T15	<i>Medicago lupulina</i> L.	44	42	4	41	41
T16	<i>Medicago x varia</i> MARTYN	43	19	38	35	29
T17	<i>Medicago</i> L. (other sp.)	48	30	4	41	25
T18	<i>Melilotus</i> MILLER	102	64	16	76	74
T20	<i>Ononis</i> L.	2	1		2	1
T21	<i>Onobrychis</i> MILLER	32	30	9	30	29
T22	<i>Ornithopus</i> L.	9	6	1	7	7
T23	<i>Tetragonolobus</i> SCOP.	11	9		10	10
T25	<i>Trigonella</i> L.	10	4	1	6	6
T36	<i>Scorpiurus</i> L.	4	2		2	2
T38	<i>Stylosanthes</i> Sw.	1			1	1
T41	<i>Hedysarum</i> L.	2	2		2	2
W77	<i>Sarrothamnus</i> WIMMER	11	11		11	11
Celkem		2531	1538	1560	2011	1773

Významnou činností kolektivu je dlouhodobá spolupráce se Správou NP Podyjí a CHKO Moravský kras a dále s Bankou semen ohrožených druhů v Olomouci.

Od počátku devadesátých let probíhaly především individuální sběry planých forem a vybraných ohrožených druhů v NP Podyjí dr. Zapletalovou. Do této oblasti byly soustředěny i dvě sběrové expedice, a sice v letech 1997 a 2000. Po roce 2000 poklesl počet sbíraných semenných vzorků v NP Podyjí, a pracoviště se na základě požadavků a konzultací s botanikem Správy NP Podyjí zaměřilo na ohrožené druhy. Tyto druhy byly a jsou ukládány jak v genové bance v Praze-Ruzyni, tak i v Bance semen ohrožených druhů v Olomouci.

Spolupráce s CHKO Moravský kras probíhá na úrovni botanického monitoringu závrtů a změn v jejich vegetaci, byla zde organizována expedice v roce 2001 a dále byly společně s ČSOP Ponikva prezentovány vybrané materiály starých a krajových odrůd na políčkách. Na tuto činnost navázalo několik přednáškových bloků pro odbornou veřejnost, z nichž poslední blok proběhl v květnu 2013.

Banka semen ohrožených druhů při Vlastivědném muzeu v Olomouci uchovává mnoho semenných vzorků ohrožených druhů rostlin, zejména z oblasti Moravy. Nejvíce sběrů je právě z oblasti NP Podyjí (115 vzorků, 68 druhů). Některé položky jsou použity ve venkovní expozici ohrožených druhů a jiné jsou prezentovány při výstavách (Bábková-Hrochová, 2004).

Kolektiv řešitelů dále velice úzce spolupracuje se šlechtitelskými firmami v ČR (DLF Trifolium Hladké Životice; Agrogen, spol. s r. o. Troubsko; Tagro, spol. s r. o. Červený Dvůr; Oseva UNI, a. s. Choceň a Oseva PRO, s. r. o., Výzkumná stanice travinářská Zubří).

Významná je také spolupráce se zahraničními partnery. Jedná se především o VÚRV Piešťany, Slovensko; Výskumný ústav trávných porastov a horského polnlohospodárstva, Banská Bystrica, Slovensko; Institute for Forage Crops, Ltd., Kruševac, Srbsko; Research institute of mountain stockbreeding and agriculture, Troyan, Bulharsko a Universidad Nacional del Sur, Departamento de Agronomía, Bahía Blanca, Argentina.

## **2.4. Suchovzdornost u vybraných druhů jetelovin**

Předpovídané scénáře globální změny klimatu zahrnují častější a děletrvající období sucha během vegetačních sezón (Dubrovský & al., 2005). Termínem sucho se označuje období, během kterého je obsah vody v půdě redukován na míru, při které rostliny trpí nedostatkem vody (Larcher, 2003). Vlivem globálního oteplování je předpovídáno zvýšení výnosů jetelovin více, nežli u trav, a to díky kombinaci jejich pozitivnější reakci na zvýšené teploty, sluneční svit a ukládání živin; a také díky tomu, že nejsou limitovány nedostatkem dusíku a díky hlubším kořenům (Clarke & al., 2000). U víceletých jetelovin můžeme definovat suchovzdornost jako schopnost nejen přežít suché období, ale i poskytnout uspokojivý výnos píce. Půdy s nízkou schopností zadržet vodu zhoršují negativní efekt period sucha. Jeteloviny vykazují vysokou efektivitu využití dusíku a redukují požadavky na hnojení dusíkem. Suchovzdorné rostliny jsou schopné udržovat příznivý obsah vody v pletivech po dlouhé období navzdory suchosti vzduchu a půdy. Toho dosahují zlepšeným příjemem vody z půdy (hluboký a plošně rozsáhlý kořenový systém, nižší vodní potenciál kořenů) nebo sníženými ztrátami vody (redukce transpirujícího povrchu, redukce fotosyntézy díky zmenšené listové ploše a sníženou vodivostí průduchů). Tyto mechanismy umožňují rostlině přežít nedostatek vody, ale jsou spojeny s významným snížením produkce biomasy (Larcher, 2003).

Suchovzdornost se posuzuje jako schopnost rostlin přečkat v aktivním stavu období sucha. Z hlediska vodního provozu se projevuje vysokou schopností rostlinných pletiv udržet vodu, která závisí na biochemických a fyzikálně chemických vlastnostech protoplazmy, především na obsahu koloidů a dalších osmoticky aktivních látek. Odolnost rostlin vůči suchu je výsledkem metabolické aktivity, která je závislá na ontogenetickém vývoji. Projevem suchovzdornosti jsou i některé morfologické znaky, např. hustší síť žilek, větší počet průduchů aj. Rozlišují se dva typy rezistence vůči suchu: 1) nejčastěji jde o „drought avoidance“, tj. schopnost vyhnout se nepříznivým podmínkám atmosférického a půdního sucha díky morfologickým a fyziologickým vlastnostem, umožňujícím udržet optimální obsah vody (vyvinutý kořenový systém, redukce ztráty vody průduchy, kutikulou nebo snížením plochy transpirujícího povrchu atd.); 2) pojem „drought tolerance“ označuje specifickou přizpůsobivost protoplazmy, která umožňuje zadržet vodu v rostlinných tkáních, a tím přežít i silné sucho (Ptáčková, 1981). Další strategií je „drought escape“, kdy rostlina uniká suchu krátkou vegetační dobou a tím, že vytvoří semena ještě před tím, než uschne (Franks, 2011).

**Vojtěška setá** (*Medicago sativa*) je nejčastěji pěstovanou jetelovinou na světě. V závislosti na délce vegetačního období, ekologických faktorech a preferované sklizňové zralosti může poskytovat 2 až 10 sklizní (Barnes & al., 1988). Vojtěška je tolerantní vůči suchu více než většina druhů jetelovin mírného pásma (Peterson & al., 1992). To je způsobeno jejím hlubokým a rozsáhlým kořenovým systémem, který se v aridních podmínkách intenzivně rozvíjí (Annicchiarico & al., 2010). Rostlina má typický kúlový kořen, který proniká půdou do hloubky 7 až 9 metrů, ale kořeny byly nalezeny v hloubce 39 metrů v dole v sousedství vojtěškového pole (Sheaffer & al., 1988).

Vojtěška je na hlubokých půdách suchovzdorná více než většina jiných temperátních druhů jetelovin (Peterson & al., 1992). Její schopnost udržet vodu (a zároveň minimalizovat rychlosť výdeje vody) je nejnižší v roce výsevu a s léty se zvyšuje; nejvyšší je v období kvetení (Ptáčková, 1981). Suchovzdornost vojtěšky je ale způsobena především jejím hlubokým a rozsáhlým kořenovým systémem, který se rozvíjí nejintenzivněji v aridních podmínkách (Annicchiarico & al., 2010). Autoři Schultz & Hayes (1938) řadí vojtěšku mezi nejvíce suchovzdorné jeteloviny jak na poli, tak i v umělých testech suchovzdornosti. Šlechtitelé vojtěšky se doposud nezaměřili na suchovzdornost jakožto hlavní šlechtitelský cíl. Rozsah genetické variance tohoto znaku a mechanismy jej ovlivňující doposud nebyly detailně objasněny. Velká variance je navíc u vojtěšky podporována silnou interakcí genotyp × prostředí (Annicchiarico & al., 2015). Značná variabilita výnosů napříč suchovzdorných genotypů byla pozorována nejen v Západomediteránní oblasti (Annicchiarico & al., 2011), ale i ve střední Evropě (Metzger & al., 2008).

**Jetel luční** (*Trifolium pratense*) je jedním z nejdůležitějších druhů jetelovin ve střední a v severní Evropě a v Severní Americe. Je nejlépe adaptován na území s oceánickým klimatem, kde jsou letní teploty mírnější a zároveň je půdní vláha udržována na dostatečné úrovni. Má menší toleranci k suchu a vysokým teplotám nežli vojtěška. Jetel luční je ale adaptován k širšímu rozsahu půdních typů a snáší nižší zásobu přijatelných živin než vojtěška. Špatně snáší půdy vysýchavé nebo zamokřené (Dear & al., 2003). Jetel luční toleruje půdní pH s hodnotou kolem 5,5 a proto je používán jako alternativa vojtěšky na kyselých půdách (Sheaffer & Evers, 2007). Tento druh má centrum diverzity v Evropě. Jsou rozlišovány tři základní poddruhy: subsp. *pratense*, subsp. *sativum* a subsp. *americanum* (Kubát, 1995). Rostliny, které pocházejí z přírodních populací se specifickými ekologickými podmínkami, jsou důležitými zdroji genů rezistence k chorobám, škůdcům a abiotickým stresům. Jsou předpokladem pro

šlechtění nových odrůd (Jahufer & al., 1994). Druh *Trifolium pratense* je v našich podmírkách vážně poškozován houbami z rodu *Fusarium* spp. (nejčastěji druhy *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. avenaceum*) a z virových patogenů pak virem žluté mozaiky fazolu - BYMV (Nedělník & Pokorný, 1992). Tyto patogeny způsobují snížení vytrvalosti jetelových rostlin. Vzhledem k současné pozici jetelovin v zemědělství a s přihlédnutím k velmi komplexní biologii patogenů, nemůže být v nejbližší době předpokládána masová aplikace přímých metod ochrany rostlin u těchto patogenů. Z tohoto důvodu je zapotřebí kontinuální studium a hledání nových, rezistentních šlechtitelských materiálů (Nedělník & Pokorný, 1992).

Šlechtění jetele lučního na vyšší toleranci vůči suchu bylo doposud pouze minimální, ačkoliv jetele luční náleží celosvětově mezi velmi významné leguminózní pícniny (Ravagnani & al., 2012). Pro praxi je, zejména z ekonomického hlediska, důležité především zvýšení vytrvalosti kultivarů jetele lučního tak, aby bylo možno prodloužit dobu využívání jeho porostů, zejména v dočasných jetelotravních směsích a při přísevech do trvalých travních porostů (Abberton & Marshall, 2005). Jetele luční je mnohem citlivější k suchu než většina jiných jetelovin, zejména pak ve srovnání s vojtěškou (Peterson & al., 1992). Jetele luční vykazuje velmi vysokou interakci genotyp  $\times$  prostředí. Velký význam planých populací z vlhkých oblastí s Mediteráním klimatem, jakožto genetických zdrojů pro suché oblasti potvrzdili autoři Annicchiarico & Pagnotta (2012). Nyní je významným tématem výzkumu identifikace jiných suchovzdorných genetických zdrojů a analýza rozdílů v expresi genů za suchých podmínek u suchovzdorných a na sucho citlivých genotypů jetele lučního.

**Vičenec ligrus** (*Onobrychis viciifolia* Scop.) je vynikající leguminózní pícninou pro suché, vápnité a kamenité půdy. Byl v Evropě často pěstován před rozvojem intenzivního zemědělství a introdukcí moderních vysoko produktivních odrůd vojtěšky. Vičenec toleruje sucho, vysoké teploty a nízký obsah živin v půdě. Snáší nízký obsah fosforu v půdě, ale nesnese zamokření nebo kyselé půdy. Z důvodu své toleranci k suchu je populární zejména v Mediterání oblasti, ve Východní Evropě a v oblasti středního Východu. V dalších částech Evropy byl vičenec vytlačen díky konkurenci s vysoko výnosnými jetelovinami, jako jsou *Medicago sativa* a *Trifolium pratense* (Carbonero & al., 2011). U vičence se vyvíjí hluboký, větvený kúlovitý kořen, úzká meristematická korunka na kořenovém krčku a vzpřímené lodyhy, které mohou vyrůst až do výšky jednoho metru. Vičenec je leguminózní pícnina, která nenadýmá a je tudíž vynikající pro dobytek, zejména skot, koně i ovce. Pro dobrou vytrvalost porostů

vičence je třeba nízká až střední intenzita zatížení pastvin ve fázi butonizace nebo počátku kvetení, případně aplikace rotační pastvy (Sheaffer & Evers, 2007).

**Štírovník růžkatý** (*Lotus corniculatus* L.) je významná jetelovina jak pro konzervaci (seno a senáž), tak i pro pastevní využití. Produkuje píci vysoké kvality, zejména v mladém stavu. Štírovník nezpůsobuje nadýmání, neboť obsahuje kondenzované taniny. Jeho výhodou je, že může být pěstován na kyselých půdách s pH kolem 5,0, ale také na půdách alkalických a mírně zasolených. Druh toleruje vlhké půdy, dokonce snese i několikatýdenní zaplavení (podobně jako *Lotus uliginosus*). Může být pěstován na kyselých půdách s pH kolem 5,0, ale také na půdách s vysokou alkalinitou nebo salinitou. Rostliny štírovníku jsou poměrně vytrvalé a navíc se v porostu dlouhodobě udržují díky samovysemeňování. V chladných a vlhkých podmínkách se ale vytrvalost štírovníku snižuje na 2-4 roky (Sheaffer & Evers, 2007). V současné době je předmětem šlechtění především zvýšení vytrvalosti druhu, zvýšení odolnosti vůči chorobám a zvýšení produkce semen. Mimo pícní využití se využívá v bioremediacích půd kontaminovaných těžkými kovy, čemuž napomáhá symbioza s odolnými kmeny baktérií rodu *Rhizobium* (Sato & Tabata, 2011).

Požadavky na vodu u různých druhů se významně liší v závislosti na klimatu, počasí a vodním nasycení půdy a v menší míře podle použitého kultivaru a způsobu hospodaření (Sheaffer & al., 1988). Adaptivní odpovědi genetických zdrojů byly korelovány s úrovní stresu na místech sběru krajových odrůd a s podmínkami, ve kterých probíhala selekce kultivarů. Výsledky z různých studií neukázaly genetickou korelací výnosu u různých populací napříč vlhkostním gradientem. Toto zjištění může být vysvětleno rozdílnými a částečně inkompatibilními morfofyziologickými znaky spojenými s optimální adaptací rostliny k témtoto podmínkám (Annicchiarico, 2007a; Annicchiarico & al., 2013). Rychlejší šlechtitelský pokrok může vyplynout z cílené selekce na stresové nebo naopak optimální podmínky, spíše než selekce na široké spektrum podmínek. To bylo experimentálně potvrzeno pro oblast severní Itálie autorem Annicchiarico (2007b).

K suchovzdornosti druhů, včetně vojtěšky, přispívají vysoké hladiny osmoticky aktivních dusíkatých látek, např. ve vodě rozpustných cukrů v podzemních orgánech (Pembleton & al., 2010; Annicchiarico & al., 2013). Kang & al. (2011) uvádějí, že suchovzdorné a k suchu citlivé genotypy mohou sdílet podobné fyziologické mechanismy odpovědí na stres, s tím, že hlavní rozdíly mezi těmito dvěma skupinami

jsou kvantitativní (pokles vodivosti průduchů za stresu, produkce osmolytů a antioxidantů).

Morfologické adaptace k suchu zahrnují přisedlý nebo rozprostřený růstový habitus a hluboké kořeny (Prosperi & al., 2006). Vyvinuté boční kořeny jsou v suchých podmínkách výhodné (Lamb & al., 2000; Odorizzi & al., 2008). Tyto znaky jsou vázány na toleranci k pastvě. Vyšší počty lodyh jsou zaznamenávány u suchovzdorných genotypů. Toto bylo potvrzeno několika studiemi (Annicchiarico, 2007a; Annicchiarico & al., 2013). Menší vadnutí listů a stárnutí listů za stresových podmínek jsou vhodné fyziologické znaky, které mohou být použity během včasného screeningu na suchovzdornost (Kang & al., 2011; Annicchiarico & al., 2013).

Peterson & al. (1992) srovnal kvalitu a výnosy suché píce vojtěšky, štírovničky, kozince cizrnovitého a jetele lučního na severu centrální oblasti USA. Autor hodnotil nejen výnosy, ale i koncentrace acido detergentní vlákniny (ADF), neutrálně detergentní vlákniny (NDF) a acido detergentního ligninu (ADL). Tyto koncentrace byly za sucha během vegetace sníženy. Účinek sucha na obsah ligninu v NDF a koncentrace dusíkatých látek nebyl shodný.

Küchenmeister & al. (2012) testovali alternativní druhy jetelovin vhodné pro oblasti s častými obdobími sucha. Velmi dobré výsledky byly dosaženy u druhu *Lotus corniculatus*. Tyto výsledky byly srovnatelné s výnosy druhu *Trifolium repens* za podmínek atlantského klimatu.

U vytrvalých jetelovin má velký význam vliv sucha na vzcházející semenáčky a zapojování porostů. V aridních oblastech se používají široké řádkové rozteče, u pícních porostů kolem 25 cm, u porostů na semeno pak 50-75 cm. Tím se omezuje kompetice rostlin o vodu, rostliny jsou mohutnější a výsledkem jsou větší výnosy semen. Abadouz & al. (2010) studovali vliv vzdálenosti řádků a výsevku u vojtěšky. Produkce semen a počet lodyh na  $m^2$  se zvyšoval se snižující se vzdáleností řádků, až do hodnot řádkových roztečí kolem 50 cm. Interakce roku a provedeného zásahu na celý soubor znaků nebyla statisticky významná. Bylo zjištěno, že korelace mezi výnosy semen a biomasy byla pozitivní a statisticky významná. Zvýšený počet lodyh na  $m^2$  měl vliv nejen na vyšší výnos píce, ale i na vyšší produkci semen.

Zvýšené výsevky vedou k vysoké vnitrodruhové kompetici mezi rostlinami a ke zvýšené mortalitě. Doporučovaný výsevek u jetele lučního byl 7-8 miliónů semen na hektar (Málek & Slavík, 1983). Asi o 10 % vyšší výsevky se praktikují při setí do krycí plodiny. Během posledních 50 let se výsevky u vytrvalých druhů jetelovin snižovaly,

zejména jako důsledek zavádění moderních, přesnějších secích strojů. V důsledku toho je potřeba aby se polní vzcházivost zvýšila z 30-50 % na žádoucích 55-75 %. Výsevky snížené až na 50 % standardního výsevku ukázaly dobrou schopnost založení vysoce výnosných porostů (Málek & Slavík, 1978). Dnes se díky moderní technice pro přípravu půdy i výsev používají nižší výsevky (u jetele se v zemědělské praxi vysévá 12 kg.ha<sup>-1</sup> na píci a 8 kg.ha<sup>-1</sup> na semeno). V suchých podmínkách je důležitá pro kvalitní založení porostu řádná příprava půdy, zvyšující půdní vlhkost, a pravidelná distribuce semen v řádku. Podobné výsledky byly získány u vojtěšky (Abadouz & al., 2010).

U vojtěšky v USA se doporučované výsevky velmi výrazně liší mezi humidními regiony (13-22 kg.ha<sup>-1</sup>) a aridními regiony (22-39 kg.ha<sup>-1</sup>), zejména z důvodu vyšší mortality semenáčků za sucha (Hall & Vough, 2007).

### **3. CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE**

Hlavním cílem dizertační práce bylo pomocí morfologických, fytopatologických, fyziologických a geneticko-molekulárních znaků zhodnotit variabilitu velkých genofondových kolekcí a vytvořit první originální české core kolekce u nejdůležitějších vytrvalých druhů leguminózních pícnin v České republice – *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Medicago sativa*. Dále proběhlo vyhodnocení variability v kolekcích druhů *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum*.

Core kolekce druhu *Trifolium pratense* byla detailně zhodnocena a porovnání morfologických a molekulárních dat je hlavním výstupem části dizertační práce, věnující se genetickým zdrojům a core kolekcím. Získaná data byla statisticky analyzována s hlavním cílem nalézt: (1) korelace mezi naměřenými hodnotami morfologických znaků a ploidní úrovní, (2) korelace shlukové analýzy založené na morfologických a molekulárních datech, a (3) vztah polymorfismu mikrosatelitních markerů s některými agronomicky důležitými znaky se vztahem k rezistenci k patogenům.

Dalším cílem bylo ověřit vliv velikosti výsevku u vybraných druhů jetelovin (*Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus*, *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*) na výnos píce a pokryvnost porostů. Byly založeny polní pokusy srovnávající efekt různých výsevních množství na vybrané druhy jetelovin v podmírkách suchého klimatu jižní Moravy. Tento experiment má zodpovědět otázku vhodných výsevních množství v podmírkách limitovaných nedostatkem půdní vláhy.

Cílem třetího experimentu bylo ověřit klíčivost za podmínek zvýšeného osmotického tlaku u druhů *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus*, *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*. Rozdílná míra polní vzcházivosti u jednotlivých testovaných druhů vedla k založení pokusu a k otestování klíčivosti v laboratorních podmírkách za různých koncentrací roztoku polyethylenglykolu (PEG), simulujících zvýšený osmotický tlak půdního roztoku, který se projevuje za sucha.

V poslední části dizertační práce byl zkoumán vliv podzimních termínů výsevu (září, říjen, listopad) na vzcházivost a zapojení porostů devíti vybraných druhů jetelovin ve srovnání se standardními jarními termíny výsevu. Klimatická změna, zejména častější a delší jarní období sucha, negativně ovlivňuje polní vzcházivost a zapojení porostů plodin, včetně jetelovin. Z tohoto důvodu bylo cílem nalézt vhodné alternativní termíny výsevů jetelovin.

## Hypotézy

- 1) Na základě vyhodnocení souboru morfologických, fytopatologických, fyziologických a geneticko-molekulárních znaků shlukovou analýzou lze efektivně vybrat zástupce do core kolekce tak, abychom významně redukovali původní velký počet položek a zároveň maximálně zachovali diverzitu obsaženou v genofondových kolekcích druhů *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Medicago sativa*.
- 2) Existuje korelace mezi výsledky klasifikací core kolekce druhu *Trifolium pratense* založených na morfologických a molekulárních datech.
- 3) Rozdílné výsevky ovlivňují zápoj porostů i výnosy píce u vybraných druhů jetelovin v suchých podmínkách.
- 4) Druhově významné rozdíly v zápoji porostů i ve výnosech jsou korelovány s klíčivostí za zvýšeného osmotického tlaku, jakožto nepřímého indikátoru schopnosti rostlin lépe tolerovat sníženou dostupnost vody.
- 5) Podzimní termíny výsevu (září, říjen, listopad) v suchém a teplém klimatu umožní lepší založení a zapojení porostu u vybraných druhů jetelovin ve srovnání se standardními jarními termíny výsevu.

## **4. MATERIÁL A METODIKA**

V rámci řešení Výzkumného záměru Zemědělského výzkumu, spol. s r. o. (číslo MSM 2629608001) bylo proto v letech 2004-2010 přistoupeno k podrobnému zhodnocení všech dostupných položek druhů jetelovin (*Trifolium pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. alexandrinum*, *T. resupinatum*, *Lotus corniculatus* a *Medicago sativa*) uložených v české národní genové bance.

### **Nomenklatura**

Nomenklatura rostlinných taxonů je sjednocena podle Klíče ke květeně ČR - Kubát & al. (2002).

#### **4.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu *Trifolium pratense* a sestavení core kolekce**

Jelikož je předložená práce zaměřena na studium genetických zdrojů a vlivu sucha na vybrané druhy jetelovin, tak na úvod kapitoly Materiál a metodika byla zařazena tabulka s komentářem, ilustrující klimatické podmínky, za kterých probíhalo hodnocení genetických zdrojů. Hodnocení položek druhů *Trifolium pratense*, *T. repens* a *Medicago sativa* (Materiál a metody - kapitoly 4.1. - 4.5.; Výsledky – kapitoly 5.1. - 5.5. a Diskuze – kapitola 6.1.) probíhalo v letech 2005-2007. Tabulka 6 ilustruje klimatické podmínky v období let 2005-2007, kdy probíhalo hodnocení genetických zdrojů.

Tabulka 6: Klimatická data z meteorologické stanice v Troubsku z let 2005-2007. Měsíce, které byly alespoň o 1 °C teplejší než dlouhodobý průměr, jsou označeny červenou barvou. Modrou barvou jsou označeny alespoň o 1 °C chladnější měsíce. Červenou barvou jsou vyznačeny měsíce se srážkovým úhrnem nižším než 90 % normálu. Modrou barvou jsou vyznačeny měsíce s více než 110% úhrnem srážek.

Rok	Leden	Únor	Březen	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen	Září	Říjen	Listopad	Prosinec	Průměrná roční teplota (°C)
<b>2005</b>	<b>0,0</b>	<b>2,4</b>	<b>1,8</b>	10,4	14,3	17,8	19,5	<b>17,9</b>	<b>15,9</b>	9,6	<b>3,0</b>	-0,5	9,3
<b>2006</b>	<b>-5,8</b>	<b>-2,5</b>	<b>1,4</b>	10,5	14,2	<b>19,0</b>	<b>23,3</b>	<b>16,8</b>	<b>16,6</b>	<b>11,1</b>	<b>6,4</b>	<b>2,4</b>	9,5
<b>2007</b>	<b>3,8</b>	<b>3,6</b>	<b>6,4</b>	<b>12,2</b>	<b>16,3</b>	<b>20,1</b>	20,8	<b>20,4</b>	<b>12,6</b>	8,3	<b>2,3</b>	-0,7	<b>10,5</b>
Dlouhodobý průměr	-0,9	0,5	4,2	10,0	14,7	17,9	19,9	19,3	14,2	9,0	4,2	-0,5	9,4
Rok	Leden	Únor	Březen	Duben	Květen	Červen	Červenec	Srpen	Září	Říjen	Listopad	Prosinec	Roční úhrn srážek (mm)
<b>2005</b>	25,8	<b>39,0</b>	<b>9,4</b>	<b>49,6</b>	<b>65,5</b>	<b>40,2</b>	<b>92,0</b>	<b>84,6</b>	<b>21,9</b>	<b>5,1</b>	<b>19,1</b>	<b>44,0</b>	496,2
<b>2006</b>	<b>36,0</b>	<b>28,9</b>	<b>63,3</b>	<b>59,6</b>	57,6	<b>44,6</b>	<b>37,6</b>	<b>152,9</b>	<b>13,5</b>	<b>15,1</b>	<b>6,9</b>	<b>16,4</b>	532,4
<b>2007</b>	<b>32,9</b>	<b>26,7</b>	<b>58,6</b>	<b>1,4</b>	56,5	<b>51,5</b>	<b>32,0</b>	<b>27,1</b>	<b>77,7</b>	<b>37,9</b>	38,5	<b>15,6</b>	456,4
Dlouhodobý průměr	23,7	<b>20,6</b>	31,2	31,2	57,1	68,7	71,3	60,8	50,9	33,8	34,9	<b>30,8</b>	<b>515</b>

Všechny dostupné materiály druhu *Trifolium pratense* (odrůdy, šlechtitelské materiály a plané formy získané sběrem v přírodě), které byly uloženy v české národní genové bance, byly zahrnuty do detailního hodnocení morfologických a výnosových charakteristik. Jednalo se celkem o 209 položek. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v termostatu ve tmě při 5°C v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů, které byly umístěny do skleníků v Troubsku. Jednalo se o nevytápěné skleníky bez automatických systémů regulace teploty a vlhkosti, pouze s možností manuálního otevírání a zavírání oken podle průběhu teplot. Rostliny byly zalévány podle potřeby, zpravidla 1-2x denně.

Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře roku 2004 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm. Hodnocení probíhalo během roku 2005 na deseti náhodně vybraných individuích od každého původu.

Zjištěné výnosy čerstvé biomasy na jednu rostlinu byly porovnány se standardními kontrolními odrůdami (*Medicago sativa* - Palava, *Trifolium pratense* diploidní - Start, *Trifolium pratense* tetraploidní - Kvarta, *Trifolium repens* - Jura). Toto porovnání se standardy eliminovalo vliv prostředí na studované položky. Na deseti rostlinách od každého původu bylo hodnoceno celkem 50 charakteristik jak na poli, tak

i v laboratořích Výzkumného ústavu pícninářského, spol. s r. o. v Troubsku. Hodnocení probíhalo podle klasifikátoru pro rod *Trifolium* L. (Užík & al., 1985):

**Dělohy** – ochlupení a velikost;

**Kořenový krček** – tloušťka;

**Listová růžice** – tvar (od široce rozložitého po vzpřímený), velikost;

**Individuální rostlina** – morfobiotyp (bez růžice, s růžicí), tvar (od široce rozložité, po vzpřímenou), počet lodyh;

**Stonek** – tvar na průřezu kulatý (1) nebo oválný (0), barva, tloušťka, délka, ochlupení, počet internodií, délka středního internodia;

**Terminální lístek** – tvar (od kulatého po kopinatý), barva, okraj, ochlupení, intenzita kresby, délka, šířka, plocha;

**Květenství** – tvar (od kulatého po úzce cylindrické), délka, šířka, počet květů, počet na lodyhu;

**Semeno** – tvar oválný, eliptický, srdčitý, kulatý; barva (temnost), hmotnost tisíce semen;

**Biologické charakteristiky** – délka vegetace do počátku kvetení (ranost), odolnost k mrazům, přežívání rostlin během vegetace;

**Výskyt chorob a škůdců** – výskyt virových chorob, výskyt rzí, výskyt padlí, výskyt antraknózy jetele (*Kabatiella caulivora* (KIRCHR.) KARAK), výskyt hladkoplodky jetelové (*Colletotrichum trifolii* BAIN & ESSARY), výskyt skvrnitosti listů (*Ascochyta trifolii* A. BOND & TRUSS);

**Porostní charakteristiky** (použita data z maloparcelkových polních pokusů z minulosti, vždy s přepočtem na % kontroly) – výška na začátku kvetení, počet sečí během roku, výnos zelené hmoty, výnos suché píce (usušené při 60 °C v sušárně);

**Individuální rostliny** – produkce zelené hmoty, produkce semen;

**Sušina** – obsah dusíkatých látek, obsah vlákniny.

**Chemické složení vzorků sušiny** – bylo determinováno za použití **Near Infra Red Spectrum (NIRS)** analýzy. Usušené vzorky z deseti rostlin od každého původu byly pomlety a dodavatelsky byla provedena NIRS analýza ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i., Výzkumné stanici Jevíčko na přístroji NIRSystems 6500. Metoda NIRS je založena na průchodu (transmitanci) infračervených paprsků skrz pomletý vzorek. Chemické složení každého vzorku je odvozeno z rovnice, která byla stanovena na základě výsledků NIRS analýzy kontrolního vzorku (Li & al., 2011). Tato metoda je široce používána, protože šetří náklady za chemické rozboru. Je to nepřímá metoda

stanovení, takže potřebujeme pouze chemický rozbor kontrolního vzorku. Kalibrace kontrolních vzorků je při této metodě zásadní a je to také nejčastější zdroj chyb.

Na podzim roku 2004 byla pomocí průtokové cytometrie stanovena ploidní úroveň všech původů. Determinace DNA ploidní úrovně byla provedena na zařízení PA-I Partec ploidy level analyser (Partec GmbH, Münster, Germany). Byla použita modifikace dvoukrokové procedury (Otto, 1990) pro přípravu vzorků z rostlinného materiálu (Doležel & Göthe, 1995). Vzorek rostlinného materiálu byl rozsekán za použití žiletky v Petriho misce, která obsahovala 0,5 ml pufru Otto I (0,1M kyselina citrónová, 0,5% Tween 20). Poté bylo přidáno dalších 0,5 ml pufru Otto I. Hrubá jaderná suspenze byla přefiltrována přes 50 µm nylonové síto. K jaderné suspenzi byl poté přidán 1 ml pufru Otto II buffer (0,4M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O) obohacený o 2 µg/ml 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). *Trifolium pratense*, odrůda Start (2n=14=2x), byla použita jako externí standard. V každém vzorku bylo změřeno minimálně 5000 jader.

Kontroverzní položky byly vyloučeny z dalšího hodnocení. Všechny zhodnocené znaky byly převedeny do devítibodové stupnice podle českého národního klasifikátoru pro rod *Trifolium* L. (Užík & al., 1985). Pro zhodnocené kvantitativní znaky byl proveden bodový odhad střední hodnoty. Odhad korelačních koeficientů mezi měřenými znaky byl proveden zvlášť pro diploidní a tetraploidní soubory.

Shluková analýza byla provedena v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014) jak samostatně pro 2n a 4n položky, tak pro všechny položky společně. Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a jako míra vzdálenosti byla použita Euklidovská vzdálenost.

#### **4.2. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu *Medicago sativa* a sestavení core kolekce**

Všechny dostupné materiály komplexu *Medicago sativa* (*M. sativa*, *M. x varia* a *M. falcata*), které byly uloženy v české národní genové bance, byly zahrnuty do detailního hodnocení morfologických a výnosových charakteristik. Jednalo se celkem o 457 položek. Byly hodnoceny odrůdy, šlechtitelské materiály i plané formy získané sběrem v přírodě. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v termostatu ve tmě při 5°C v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů.



Obrázek 4: Semenáčky druhu *Medicago sativa* v sadbovačích ve skleníku v Troubsku, 25.3.2005.

© Tomáš Vymyslický

Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře roku 2005 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm.



Obrázek 5: Malé rostliny druhu *Medicago sativa* na poli v Troubsku, 20.6.2005. © Tomáš Vymyslický

Během roku 2006 bylo zhodnoceno celkem 52 znaků na deseti náhodně vybraných individuích od každé položky jak na poli, tak i v laboratořích Výzkumného ústavu pícninářského, spol. s r. o. v Troubsku. Hodnocení probíhalo podle klasifikátoru pro rod *Medicago* L. (Vacek & al., 1985):

**Individuální rostlina** – počet lodyh v období první seče (porovnání se standardním kultivarem);

**Lodyha** – délka, tloušťka, tvar na průřezu, dutost, barva, počet internodií, délka středního internodia, počet bočních větví;

**Terminální lístek** – tvar, okraj, vrchol, délka, šířka, plocha;

**List** – barva, ochlupení, plocha, polyfylie;

**Květenství** – tvar, délka, počet na lodyze, počet květů, barva, počet lusků na lodyhu;

**Plodenství** – počet lusků;

**Lusk** – počet lusků na 100 květů; tvar, barva, výška spirály, šířka spirály, počet semen;

**Semeno** – tvar, barva, hmotnost tisíce semen;

**Ranost** – porovnání doby kvetení se standardním kultivarem;

**Vyzimování** – odolnost (podíl přeživších rostlin dle klasifikátoru, vyjádření na kontrolní odrůdy);

**Virus mozaiky vojtěšky (AMV)** – výskyt;

**Porostní charakteristiky** (použita data z maloparcelkových polních pokusů z minulosti, vždy s přepočtem na % kontroly) – výška na počátku kvetení (porovnání se standardním kultivarem), výška 20 dní po první seči (porovnání se standardním kultivarem), olistění (% zastoupení listů v suché hmotě), obrůstání (při výšce 25 cm), celkový roční výnos biomasy (porovnání se standardním kultivarem), celkový roční výnos suché píce (porovnání se standardním kultivarem), celkový roční výnos suché píce (porovnání se standardním kultivarem), podíl výnosu první seče k celkovému ročnímu výnosu (porovnání se standardním kultivarem), produkce semen (porovnání se standardním kultivarem);

**Individuální rostliny** – produkce biomasy (porovnání se standardním kultivarem), produkce semen (porovnání se standardním kultivarem);

**Sušina** – obsah dusíkatých látek, stravitelnost, obsah vlákniny.

**Chemické složení vzorků sušiny** – bylo determinováno za použití **Near Infra Red Spectrum (NIRS)** analýzy.

Obrázek 6: Ukázka z českého národního klasifikátoru pro rod *Medicago*

Všechny zhodnocené znaky byly převedeny do devítibodové stupnice podle českého národního klasifikátoru pro rod *Medicago* L. (Vacek & al., 1985). Pro zhodnocené kvantitativní znaky byl spočítán bodový odhad střední hodnoty a dále byly spočítány korelační koeficienty mezi měřenými znaky.

Shluková analýza byla provedena v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014), jednak samostatně pro položky druhů *M. sativa*, *M. x varia* a *M. falcata*, a pak také pro všechny položky dohromady. Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.



Obrázek 7: Hodnocení morfologických znaků na suchých rostlinách se zralými semeny v laboratoři,  
3.1.2007. © Tomáš Vymyslický

#### 4.3. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu *Trifolium repens* a sestavení core kolekce

Všechny dostupné semenné vzorky druhu *Trifolium repens* byly zahrnuty do podrobného hodnocení morfologických a výnosových charakteristik. Byly to odrůdy, šlechtitelské materiály a plané formy získané sběrem v přírodě a uchovávané v České národní genové bance. Jednalo se celkem o 161 položek. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v termostatu ve tmě při 5°C v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů. Vzrostlé rostliny byly vysázeny na jaře roku 2006 na pole ve sponu 100 x 80 cm. Od každé položky bylo vysazeno třicet rostlin.

Během roku 2007 bylo zhodnoceno celkem 32 znaků na deseti náhodně vybraných individuích od každé položky jak na poli, tak i v laboratořích Výzkumného ústavu pícninářského, spol. s r. o. v Troubsku. Hodnocení probíhalo podle klasifikátoru pro rod *Trifolium* L. (Užík & al., 1985):

**Listová růžice** – tvar (od široce větvené po vzpřímenou), velikost;

**Individuální rostlina** – tvar (od široce větvené po vzpřímenou), počet lodyh;

**Lodyha** – barva, tloušťka, délka, ochlupení, počet internodií, délka středního internodia;

**Terminální lístek** – tvar (od kulatého po kopinatý), barva, okraj, chlupatost, intenzita kresby, délka, šířka, plocha;

**List** – polyfylie;

**Květenství** – tvar (od kulatého po úzce cylindrické), délka, šířka, počet květů, počet květů na lodyhu;

**Květ** – barva koruny;

**Biologické znaky** – délka vegetace do počátku kvetení (ranost), vegetační doba do počátku zralosti semen, odolnost k mrazům, přežívání rostlin během vegetace;

**Individuální rostliny** – výnos zelené hmoty, produkce semen;

**Chemické složení vzorků sušiny** – bylo determinováno za použití **Near Infra Red Spectrum (NIRS)** analýzy.

Kvantitativní data získaná z deseti rostlin byla statisticky vyhodnocena (bodový odhad střední hodnoty, výpočet korelačních koeficientů mezi měřenými znaky). Bodové odhady byly převedeny do devítibodové stupnice. Kvalitativní znaky byly přímo zhodnoceny devítibodovou stupnicí podle českého národního klasifikátoru pro rod *Trifolium* L. (Užík & al., 1985).

Shluková analýza byla provedena v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014) pro všechny položky dohromady. Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.



Obrázek 8: Malé rostliny druhu *Trifolium repens* na poli v Troubsku, 27.7.2006. © Tomáš Vymyslický



Obrázek 9: Polní pokus s různými původy druhu *Trifolium repens* v Troubsku. © Tomáš Vymyslický

#### 4.4. Zhodnocení české core kolekce druhu *Trifolium pratense*

##### Morfologické a výnosové zhodnocení

Všech 76 položek core kolekce druhu *Trifolium pratense* (50 diploidních a 26 tetraploidních) - odrůdy, šlechtitelské materiály a plané formy získané sběrem ve volné přírodě – byly zahrnuty do detailního hodnocení morfologických a výnosových charakteristik. Třicet rostlin od každého původu bylo vysazeno na poli ve sponu 50 x 50 cm. Celkem bylo zhodnoceno 50 znaků na deseti náhodně vybraných rostlinách od každé položky. Průměrné hodnoty z 10 individuálních rostlin byly použity na další analýzy. Morfologická, výnosová data, a data o rezistenci, byla zaznamenána jako binární nebo v ordinální škále podle českého národního klasifikátoru pro rod *Trifolium* L. (Užík & al., 1985); mnohostavový znak tvar semene byl upraven jako pseudobinární proměnná. Všechny zhodnocené charakteristiky byly převedeny do devítibodové stupnice podle českého národního klasifikátoru (Užík & al., 1985). Pro zhodnocené kvantitativní znaky byly spočítány bodové odhady střední hodnoty.



Obrázek 10: Individuální kvetoucí rostlina druhu *Trifolium pratense*, Troubsko, 3.6.2005.

© Tomáš Vymyslický

### Fytopatologické hodnocení

Úroveň rezistence všech 76 původů vůči houbovým patogenům z rodu *Fusarium* a BYMV byla testována podle metodologie autorů Nedělník (1986) a Pokorný (1989) na rostlinách vypěstovaných ve sklenících v Troubsku. Pokus byl proveden pouze jednou.

Z izolátů druhu *Fusarium avenaceum* s ověřenou virulencí získaných během posledních let z infikovaných rostlin z polních podmínek bylo připraveno inokulum o koncentraci  $5 \times 10^6$  spor/ml. Semenáčky s odstraněnou kořenovou špičkou byly ponořeny do inokula po dobu pěti minut. Po inokulaci byly rostliny přeneseny do zkumavek s agarovým kultivačním médiem. Kultivace probíhala v kultivační místnosti s kontrolovanými světelnými podmínkami (12 hodin světla/tmy). Po kultivační době šesti týdnů byla každá položka core kolekce zhodnocena pomocí AGD (průměrný stupeň napadení) podle čtyřbodové stupnice: R – rezistentní, S – náchylný, MS – středně náchylný, HS - vysoce náchylný. Byl vypočítán průměrný stupeň napadení (AGD). Tři položky nebyly testovány, protože měly nízkou klíčivost osiva.

V případě BYMV byl k inokulaci použit vysoce virulentní kmen J 27. Od každého původu *Trifolium pratense* bylo mechanicky inokulováno celkem 20 rostlin ve stadiu druhého až třetího listu. Hodnocení probíhalo pomocí IPP (procenta infikovaných

rostlin) podle čtyřstupňové škály: (1 – mozaiky, prosvítající žilky, 2 – mírné kroucení, nekrózy žilek, 3 – rozsáhlé nekrózy, zakrslost, 4 – odumření rostliny) vždy 14, 24 a 30 den po inokulaci (DAI). Během 53 DAI byla stanovena procenta infikovaných rostlin (IPP) a příznaky infekce. Poté byly rostliny ostříhány. Počet odumřelých rostlin byl stanoven během 73 DAI. Čtyři položky nebyly testovány, protože měly velmi špatnou klíčivost.

Úroveň rezistence byla poté stanovena pro oba patogeny (HS – vysoce náchylný, MS – středně náchylný a S – náchylný).

### Molekulární analýzy

DNA pocházející z rostlin jetelů byla extrahována z listů, odebraných ze 13-15 rostlin od každé položky. Pro extrakci DNA byl použit komerční GenElute<sup>TM</sup> Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma). Koncentrace DNA byly stanoveny spektrofotometricky (Lightwave II – WPA). Všechny vzorky byly naředěny na koncentraci 20 ng/ $\mu$ l a byly uloženy při – 80 °C.

PCR byla provedena ve 20  $\mu$ l objemu, který osahoval 1x DyNAzyme pufr (10 mM Tris-HCl, pH 8,8; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 50 mM KCl a 0,1% Triton X-100); 0,2 mM z každého dNTP; 1,2  $\mu$ M každého primeru; 2 U DyNAzyme<sup>TM</sup> II DNA Polymerázy (Finnzymes, Espoo, Finland) a 50 ng templátové DNA. PCR byla provedena v termocykléru TC-512 (Techne). Termocyklér byl nastaven podle Herrmanna (2006) na 95°C (4 min.) pro iniciální denaturaci DNA, následně byl nastaven na 30 cyklů po 30 sekundách při 95°C, 30 sekund při 55°C a 30 sekund při 72°C, poté následovalo dalších 10 stejných cyklů při teplotě annealingu 53°C a 10 minut při 72°C pro fázi finálního prodloužení. PCR produkty byly vizualizovány v 3% agarázovém gelu pomocí ethidium bromidu. Pro amplifikaci produktů bylo použito 11 SSR markerů z druhu *Trifolium repens* (Barrett & al., 2004). V předchozích studiích (Jungmannová & Řepková, 2005; Soldánová, 2007) bylo potvrzeno, že SSR markery z druhu *Trifolium repens* jsou použitelné pro analýzy u druhu *Trifolium pratense*. Tyto SSR markery jsou považovány za nové mikrosatelitní lokusy u druhu *Trifolium pratense*. Polymorfismus SSR markerů byl zaznamenán ve formě prezence nebo absence jednotlivých proužků. Počet alel na lokus se pohyboval od tří do osmi, s průměrem 4,4. Hodnoty polymorfního informačního obsahu (PIC) se pohybovaly od 0,40 do 0,86.

## Statistické analýzy

Vztah mezi jednotlivými původy byl testován metodou hierarchického shlukování, odděleně pro morfologická data (50 znaků) a data založená na polymorfismu SSR markerů (11 primerů, 23 polymorfních proužků). Morfologické proměnné byly standardizovány na rozsah. Dendrogram původů založený na morfologických datech byl poté zkonstruován v programu SYN-TAX 2000 (Podani, 1994) pomocí metody UPGMA, za použití Euklidovské vzdálenosti jakožto měřítka nepodobnosti. Shlukování původů založené na molekulárních datech bylo provedeno pomocí UPGMA metody, za použití Jaccardova koeficientu podobnosti. Statistická významnost jednotlivých větví v UPGMA dendrogramu u molekulárních dat byla počítána na základě 2000 opakování bootstrap za použití programu WINBOOT (Yap & Nelson, 1996). Matice koeficientů nepodobnosti, pocházející ze shlukových analýz morfologických a molekulárních dat, byly porovnány pomocí Mantelova testu (Mantel, 1967). Test byl proveden v programu POPTOOLS 2.6.9 (Hood, 2005) za použití 999 náhodných iterací z důvodu vyhodnocení statistické významnosti.

Vztahy mezi morfologickými znaky byly testovány pomocí neparametrických Spearmanových korelací. Komplexní vztahy mezi znaky byly testovány v programu SYN-TAX 2000 pomocí UPGMA metody shlukování proměnných, s korelací, jakožto měřítkem nepodobnosti. Rozdíly mezi diploidními a tetraploidními původy byly testovány zvlášť pro každý morfologický znak pomocí Mann-Whitney testu v programu SPSS 8.0 (SPSS Inc., 1998). Statistické významnosti byly počítány jako jednostranné (one tailed).

Možné vztahy jednotlivých polymorfních proužků a morfologických, výnosových a fytopatologických dat byly testovány pomocí Mann-Whitneyova testu, samostatně pro každý proužek a každý znak. Statistická významnost testů byla v případech mnohonásobných porovnání upravena pomocí Bonferonihho korekce.

### 4.5. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum*

Během roku 2008 bylo zhodnoceno celkem 25 položek české kolekce druhu *Lotus corniculatus* ve formě individuálních výsadeb v polních podmínkách. Celkem 14 položek byly odrůdy ze světové kolekce a 11 původů byly plané formy získané sběrem

ve volné přírodě v České republice a v zahraničí. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v termostatu ve tmě při 5°C v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů. Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře roku 2007 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm. Na celkem 10 náhodně vybraných rostlinách od každé položky bylo zhodnoceno 34 znaků: šířka řapíku, délka lodyhy, tloušťka lodyhy, počet internodií, výška rostliny, délka kořene, tloušťka kořenového krčku, počet lodyh, počet bočních větví, délka středního internodia, výnos zelené hmoty na jednu rostlinu, výnos suché píce na jednu rostlinu, počet květenství na rostlinu, počet květů v květenství, délka květu, šířka květu, délka kalichu, délka lusku, šířka lusku, počet semen v lusku, počet květenství na lodyhu, šířka terminálního lístku, délka terminálního lístku, plocha listu, plocha terminálního lístku, produkce semen. U znaků obsah dusíkatých látek, obsah tuků, obsah vlákniny, obsah popela, obsah stravitelných dusíkatých látek a obsah cukrů, stravitelnost vlákniny a hmotnost tisíce semen byla stanovena pouze jedna hodnota ze smíšeného vzorku, který obsahoval deset náhodně vybraných rostlin. Získané hodnoty byly použity ke stanovení bodových a intervalových odhadů střední hodnoty, jakožto měřítka variability mezi položkami. Matice průměrných hodnot byla zpracována shlukovou analýzou v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014). Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.

Česká kolekce druhu *Trifolium hybridum* obsahující celkem 24 položek, z nichž bylo 16 odrůd světového sortimentu, a 9 položek byly plané formy získané sběrem ve volné přírodě, byla zhodnocena v individuálních výsadbách v roce 2008. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů. Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře roku 2007 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm. Během vegetačního období bylo zhodnoceno celkem 10 rostlin od každého původu podle klasifikátoru pro rod *Trifolium*. Ploidní úroveň byla stanovena na těchto 10 rostlinách od každého původu. U položek byly zhodnoceny následující znaky: počet lodyh na rostlinu, tloušťka lodyhy, délka lodyhy, počet internodií, délka středního internodia, délka květenství, šířka květenství, počet květů v květenství, počet květenství na lodyhu, výnos zelené hmoty a výnos suché píce na jednu rostlinu, výška rostliny, délka terminálního lístku, šířka terminálního lístku, produkce semen na rostlinu, plocha listu, obsah dusíkatých látek, obsah tuků, obsah dřeně, obsah popela), obsah rozpustných dusíkatých látek a stravitelnost. Získané hodnoty byly použity k získání bodových a intervalových odhadů střední hodnoty, jakožto měřítka

variability mezi položkami. Matice průměrných hodnot byla zpracována shlukovou analýzou v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014). Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.

Pro detailní zhodnocení morfologických znaků na individuálních rostlinách byly použity všechny dostupné položky (odrůdy a šlechtitelské linie) druhu *Trifolium alexandrinum* uložené v české národní genové bance. Jednalo se o 15 odrůd. Z tohoto počtu bylo 6 odrůd z Itálie, 3 z Řecka, 2 z Německa a po jedné z Portugalska, Holandska, USA a České republiky. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů. Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře roku 2006 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm. U souboru bylo hodnoceno v porostu a v individuální výsadbě 41 znaků dle Klasifikátoru rodu *Trifolium* (Užík & al., 1985). Jednalo se o následující znaky: děložní lístky – ochlupení, velikost; individuální rostlina – počet lodyh, lodyha – tvar na průřezu, barva, tloušťka, délka, ochlupení, počet internodií, délka středního internodia; terminální lístek – tvar, barva, okraj, ochlupení, intenzita kresby, délka, šířka, plocha; květenství – tvar, délka, šířka, počet květů, počet květenství na lodyze; koruna – barva; semeno – tvar, barva, hmotnost tisíce semen; porost – stav před sečí, hustota, počet sečí za rok, obrůstání, výnos zelené hmoty, výnos suché píce, podíl první seče na celkovém výnosu, produkce semen; sušina – obsah dusíkatých látek, vlákniny, stravitelnost; vytrvalost, vhodnost do směsek, hlavní využití položky. Celkem 18 znaků bylo hodnoceno subjektivně a dalších 18 vážením, měřením a počítáním. Hodnocení probíhalo během roku 2006 na deseti náhodně vybraných individuích od každého původu. Subjektivně hodnocené znaky byly hodnoceny body dle klasifikátoru. U vážených, měřených a počítaných znaků bylo hodnocení prováděno na 10 rostlinách. Ze získaných hodnot byl stanoven bodový odhad střední hodnoty a tomu byl dle klasifikátoru přiřazen příslušný bod. Matice bodových hodnot byla následně zpracována metodou shlukové analýzy v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014). Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.

V průběhu roku 2009 bylo v individuální výsadbě v polních podmínkách hodnoceno 16 odrůd světového sortimentu tvořících českou kolekci druhu *Trifolium resupinatum*. Semena byla získána z genové banky, naklíčena v Petriho miskách a malé semenáčky byly přesazeny do sadbovačů. Třicet rostlin od každého původu bylo na jaře

roku 2006 vysazeno na pole ve sponu 50 x 50 cm. V průběhu vegetace bylo na deseti rostlinách každého původu zhodnoceno 34 morfologických, výnosových a kvalitativních znaků. Jednalo se o následující znaky: děložní lístky – ochlupení, velikost; individuální rostlina – počet lodyh; lodyha – tvar na průřezu, barva, tloušťka, délka, ochlupení, počet internodií, délka středního internodia; terminální lístek – tvar, barva, okraj, ochlupení, intenzita kresby, délka, šířka, plocha; květenství – tvar, délka, šířka, počet květů, počet květenství na lodyze; koruna – barva; semeno – tvar, barva, hmotnost tisíce semen; vytrvalost, vhodnost do směsek; porost – stav před sečí, počet sečí za rok, výnos zelené hmoty, výnos suché píce, podíl první seče na celkovém výnosu; sušina – obsah dusíkatých látek, vlákniny, stravitelnost. Ze získaných hodnot byl stanoven bodový odhad střední hodnoty a tomu byl dle klasifikátoru přiřazen příslušný bod. Matice bodových hodnot byla následně zpracována metodou shlukové analýzy v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, INC., 2014). Jako algoritmus shlukování byla zvolena metoda úplného spojení a Euklidovská vzdálenost byla použita jako míra vzdálenosti.

#### **4.6. Vliv rozdílných výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin**

V roce 2011 byly založeny dva pokusy se čtyřmi vybranými druhy jetelovin. Pokusy byly založeny na dvou lokalitách – Troubsko (15.4.2011) a Žabčice (13.4.2011). Do pokusu byly zařazeny následující druhy a jejich kultivary: *Medicago sativa* cv. Palava, *Trifolium pratense* cv. Suez, *Onobrychis viciifolia* cv. Višňovský a *Lotus corniculatus* cv. Taborak. *Medicago sativa* a *Trifolium pratense* jsou významnými vytrvalými druhy jetelovin v České republice. Druhy *Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia* a *Lotus corniculatus* jsou navíc považovány za suchovzdorné druhy. Pro každý druh byly jako kontroly zvoleny standardní výsevky. Tyto výsevky korespondovaly se 7 milióny klíčivých semen na hektar (Štěpánek, 2015), a byly spočítány podle jejich HTS (hmotnosti tisíce semen), čistoty a klíčivosti – detaily viz Tabulka 7. Všechna osiva použitá v pokusech splňovala požadavky na standardy dané Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským ČR (Ministerstvo zemědělství České republiky, 2015). V pokusech byly kromě kontroly (b) použity také 50% (a) a 200% (c) výsevky.

Tabulka 7: Základní charakteristiky osiv testovaných druhů

Druh	HTS (g)	Klíčivost (%)	Čistota (%)	Výsevek (kg.ha <sup>-1</sup> )
<i>Medicago sativa</i>	2,2	94	99,8	16,4
<i>Trifolium pratense</i> (diploidní odrůda)	1,8	95	99,0	13,4
<i>Onobrychis viciifolia</i>	20,7*	91	99,6	159,8
<i>Lotus corniculatus</i>	1,3	93	99,2	9,9

\* celé lusky

Velikost parcel na obou lokalitách byla 8 m x 1,25 m (10 m<sup>2</sup>). Každý pokusný zásah byl testován ve čtyřech opakování. Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků. Před založením pokusu ani během jeho hodnocení nebylo použito žádné hnojení. Pokryvnost jednotlivých druhů byla hodnocena v období jarního obrůstání – na obou lokalitách 20. dubna. Sklizeň byla prováděna ve fázi butonizace. Bezprostředně po každé seči byly vzorky čerstvé biomasy usušeny a byl stanoven výnos suché píce. Sušení probíhalo ve ventilované sušárně, při teplotě 60°C po dobu 12 hodin denně. Biomasa plevelů byla manuálně odstraněna a nebyla započítána do výnosu. Výnosy zelené hmoty a suché píce byly tedy počítány pouze na základě hmotnosti biomasy cílových druhů).

Pokus 1 byl založen na pokusných pozemcích Výzkumného ústavu pícninářského v Troubsku (N 49°10'09'', E 16°29'24''), v nadmořské výšce 287 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 9,3 °C, a dlouhodobý roční úhrn srážek je 529 mm. Půdní typ na lokalitě je hnědozem, s jílovito-hlinitou texturou. Obsah C<sub>ox</sub> je 1,19 % a půdní pH<sub>KCl</sub> je v rozmezí od 6,0 do 7,0. V rámci tohoto pokusu byly v roce 2012 provedeny čtyři seče (21.5., 19.6., 23.7. a 5.9.).

Pokus 2 byl založen na pozemcích Školního zemědělského podniku Mendelovy university v Brně v Žabčicích (N 49°00'41'', E 16°35'31''), v nadmořské výšce 186 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 9,9 °C, a dlouhodobý roční úhrn srážek je 480 mm (Brotan & al., 2013). Půdní typ je arenická černozem s písčito-hlinitou texturou. Obsah C<sub>ox</sub> je 1,56 % a půdní pH<sub>KCl</sub> se pohybuje od 6,8 do 7,0. Využitelná vodní kapacita této půdy je výrazně omezována písčitým podložím. V rámci tohoto pokusu byly v roce 2012 provedeny tři seče (4.6., 14.7., 20.8.).

Tabulka 8 porovnává klimatická data za období IX.2011-VIII.2012 na obou lokalitách. Obě lokality náleží do teplé a suché klimatické oblasti nejen v rámci ČR, ale

i v rámci střední Evropy, s pravidelnými výskyty velmi teplých suchých period (Tolasz & al., 2007).

Tabulka 8: Klimatická data z lokalit Troubsko a Žabčice pro období IX.2011-VIII.2012 a dlouhodobé průměrné hodnoty za období 1990-2015.

Měsíc	Žabčice 2011/2012		Dlouhodobý průměr		Troubsko 2011/2012		Dlouhodobý průměr	
	Průměrná měsíční teplota (°C)	Úhrn srážek (mm)	Průměrná měsíční teplota (°C)	Úhrn srážek (mm)	Průměrná měsíční teplota (°C)	Úhrn srážek (mm)	Průměrná měsíční teplota (°C)	Úhrn srážek (mm)
IX.	17,1	31,1	14,8	41,4	16,1	44,5	14,2	50,9
X.	9,3	22,6	9,7	32,9	8,7	15,7	9,0	33,8
XI.	2,5	1,6	4,7	36,5	2,0	0,4	4,2	34,9
XII.	2,2	14,6	-0,1	26,6	1,9	13,4	-0,5	30,8
I.	1,0	27,4	-0,6	22,7	0,6	27,5	-0,9	23,7
II.	-3,4	7,4	0,8	23,0	-3,8	5,6	0,5	20,6
III.	7,0	2,4	4,7	27,7	6,2	1,8	4,2	30,2
IV.	10,8	19,8	10,6	32,2	9,9	12,1	10,0	32,2
V.	16,9	21,4	15,1	58,2	16,0	25,4	14,7	57,1
VI.	19,9	101,2	18,3	65,0	18,8	60,6	17,9	68,7
VII.	21,4	64,6	20,5	63,5	20,4	60,0	19,9	71,3
VIII.	21,2	43,0	19,8	56,9	19,7	72,4	19,3	60,8
<b>Rok</b>	<b>10,5</b>	<b>357,1</b>	<b>9,9</b>	<b>486,6</b>	<b>9,7</b>	<b>339,4</b>	<b>9,3</b>	<b>515</b>

Statistické zhodnocení rozdílů ve výnosech a pokryvnostech bylo provedeno v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, Inc., 2014) metodou ANOVA za použití post-hoc Tukeyho testu na hladině významnosti 0,05. Korelační koeficienty mezi výnosy a pokryvnostmi byly spočítány také na hladině významnosti 0,05.

#### **4.7. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin**

Zjištěné významné rozdíly v polní vzcházivosti testovaných druhů v rámci pokusů popsaných v kapitole 4.6. vedly k otestování efektu zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen jetelovin. V pokuse byly testovány stejné druhy a odrůdy jako v rámci pokusů popsaných v předchozí kapitole 4.6.

Různé koncentrace polyethylenglyku (PEG) byly použity k simulaci vlivu zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin. Jako

kontrola byla použita destilovaná voda. Detailní informace o testovaných koncentracích a finálním osmotickém tlaku jsou uvedeny v Tabulce 9.

Tabulka 9: Testované koncentrace PEG a jejich výsledný osmotický tlak

Koncentrace PEG (MOL/L)	Množství PEG v g/L vody	Osmotický tlak (MPa)
0,2	77,2	-0,128
0,3	115,8	-0,192
0,4	154,4	-0,323
0,5	193,0	-0,515
0,6	231,6	-0,618
0,7	270,2	-0,721

Koncentrace byly zvoleny na základě metodologie použité autory Bláha & al. (2011) a Brant & al. (2005). Tyto koncentrace byly mírně upraveny na základě předchozích screeningových testů provedených se semeny jetelovin. Výpočty osmotického tlaku byly provedeny na základě publikace autorů Burlyn & Merill (1973).

Od každého druhu bylo použito sto semen ve čtyřech opakováních. Semena byla dána na vlhký filtrační papír do Petriho misek a poté byly na ovlhčení filtračního papíru v Petriho miskách použity dané koncentrace roztoku PEG. Test klíčivosti trval 21 dní; v termostatu ve tmě při teplotě 8 °C. Vyklíčená semena byla počítána a odstraňována každě 3-4 dny. Během posledního hodnocení byly zjišťovány i počty dormantních a mrtvých semen (Pelikán & al., 2005).

Statistické zhodnocení rozdílů v klíčivosti bylo provedeno v programu Statistica for Windows, verze 12 (STATSOFT, Inc., 2014) metodou ANOVA za použití post-hoc Tukeyho testu na hladině významnosti 0,05.

#### **4.8. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin**

Na pokusných pozemcích Výzkumného ústavu pícninářského, spol. s r. o. v Troubsku bylo hodnoceno celkem 9 druhů jetelovin v pokuse, který si kladl za cíl otestovat netradiční podzimní termíny výsevu s ohledem na pravidelné riziko výskytu jarního sucha. Byly zvoleny a testovány tři podzimní termíny výsevů: 7. 9. 2010, 3. 10. 2010, 4. 11. 2010, plus kontrolní termín 8. 3. 2011.



Obrázek 11: Zavlažený pokus s netradičními termíny výsevů jetelovin, Troubsko, 27.9.2011. ©  
Tomáš Vymyslický

Testované druhy a jejich výsevky byly následující: *Lotus corniculatus* cv. „Taborak“, výsevek  $13 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Medicago lupulina* cv. „Ekola“, výsevek  $13 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Medicago sativa* cv. „Palava“, výsevek  $15 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Melilotus albus* cv. „Krajová“, výsevek  $15 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Onobrychis viciifolia* cv. „Višňovský“, výsevek  $100 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Securigera varia* cv. „Eroza“, výsevek  $25 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Trifolium pratense* cv. „Start“, výsevek  $13 \text{ kg.ha}^{-1}$ ; *Trifolium repens* cv. „Jura“, výsevek  $13 \text{ kg.ha}^{-1}$  a *Trifolium resupinatum* „Pasat“, výsevek  $13 \text{ kg.ha}^{-1}$ . Od každého druhu byly založeny tři parcely o velikosti  $1 \text{ m}^2$  metodou znáhodněných bloků.

Počítání vzešlých rostlin a stanovování pokryvnosti proběhlo dne 25. 5. 2011. Výnosy byly stanoveny 25. 5., 4. 7. a 3. 9. 2011. Statisticky hodnocený byl celkový roční výnos suché píce za rok 2011 ze tří sklizní.

Fenologické fáze podle BBCH stupnice (Hess & al., 1997) byly stanovovány vždy na pěti vybraných rostlinách z každé parcelky. Pro statistické výpočty byla použita průměrná hodnota pro každou parcelku.

## **5. VÝSLEDKY**

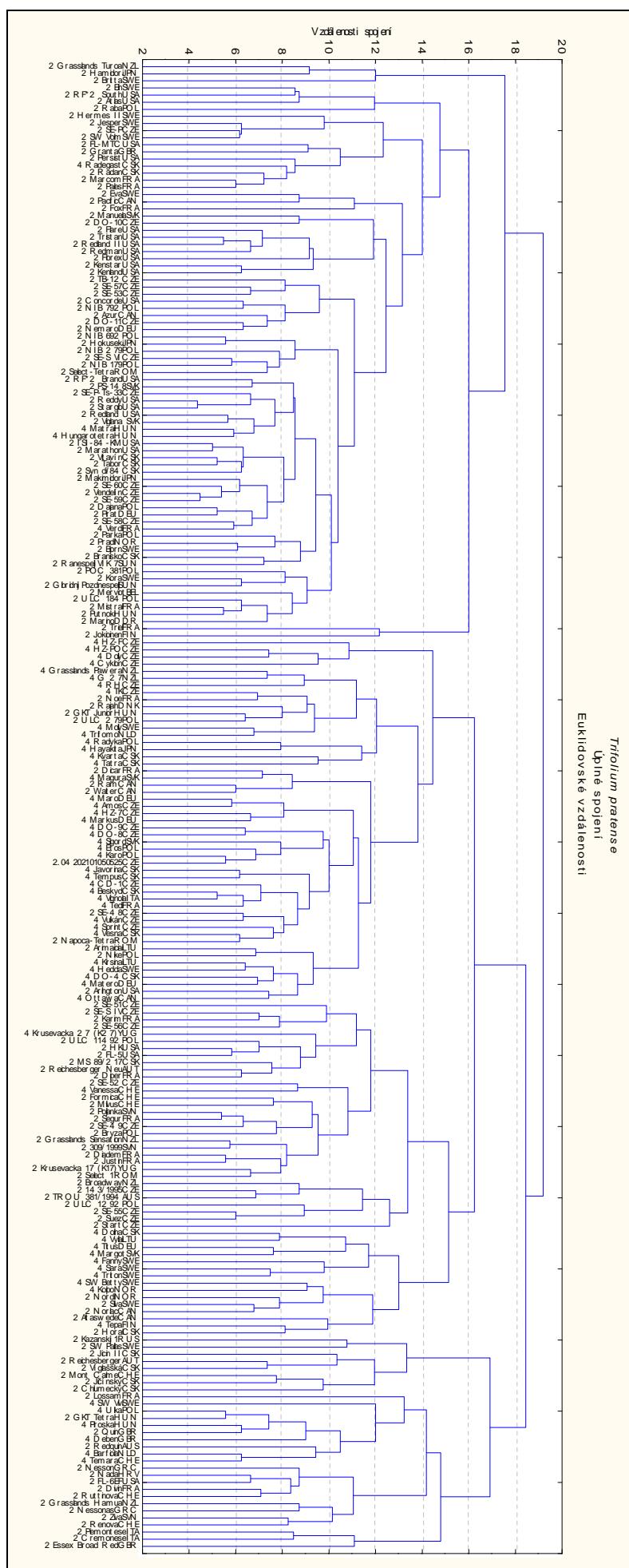
### **5.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu *Trifolium pratense* a sestavení core kolekce**

Mezi diploidními a tetraploidními položkami nebyly shledány pomocí shlukové analýzy jasné rozdíly (Obrázek 12), takže výsledky jsou prezentovány pro všechny položky současně. Celý cluster má dvě hlavní části: v první je více diploidů, zatímco ve druhé je více tetraploidů.

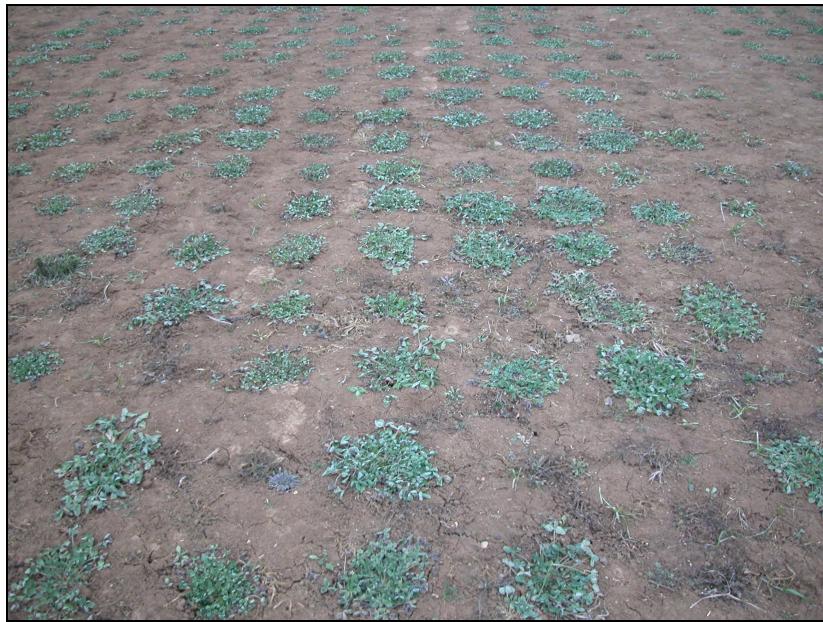
Malé shluky často obsahovaly položky ze stejné země (stát původu byl převzat z katalogů OECD). Například odrůdy Marcom a Pales z Francie; Flare, Tristan, Redland II, Redman, Florex, Kenstar, Kenland z USA; Reddy a Starglo z USA; Vltavín a Tábor z České republiky; Vendelín a SE-59 z České Republiky; Ram a Walter z Kanady; Diadem a Justin z Francie; Piemontese a Cremonese z Itálie. Někdy nejbližší původy pocházejí ze stejné šlechtitelské stanice (například SE-57 a SE-53; DO-8 a DO-9 (nyní registrován pod jménem Blizzard); SE-48 a Vulkán; SE-55 a Suez z České republiky; Reddy a Starglo; ISI-84-KM a Marathon z USA; Grasslands Pawera a G 27 z Nového Zélandu; Ram a Walter z Kanady).

Tabulka 10: Česká národní core kolekce druhu *Trifolium pratense*. Pořadí položek v tabulce je shodné s pořadím v níže uvedeném dendrogramu (Obrázek 12). Legenda vysvětlující zkratky zemí původu je umístěna na konci práce v kapitole 12 na straně 134.

Ploidní úroveň	Název	Země původu	Ploidní úroveň	Název	Země původu
2n	Essex Broad Red	GBR	4n	Vesna	CSK
2n	Horal	CSK	2n	Tabor	CSK
2n	Chlumecký	CSK	2n	HK	USA
2n	Jokioinen	FIN	2n	Reddy	USA
4n	Ottawa	CAN	4n	Hayakita	JPN
2n	Reichesberger	AUT	2n	Nemaro	DEU
2n	Renova	CHE	2n	Bryza	POL
2n	Start	CZE	2n	RF* 2 South	USA
4n	Tatra	CSK	4n	Vanessa	CHE
4n	Kvarta	CSK	4n	Markus	DEU
2n	Britta	SWE	2n	84/1999	CZE
4n	Barfiola	NLD	2n	Suez	CZE
2n	Gibridnij Pozdnespelij	SUN	2n	TB-12	CZE
2n	Granta	GBR	2n	Karim	FRA
2n	Select-Tetra	ROM	4n	Amos	CZE
2n	Napoca-Tetra	ROM	4n	Krusevacka 27 (K27)	YUG
2n	Ranespelij VIK 7	SUN	4n	Manuela	SVK
2n	Arlington	USA	4n	Dolly	CZE
4n	Triton	SWE	2n	143/1995	CZE
4n	Sara	SWE	2n	Vendelín	CZE
4n	Radegast	CSK	2n	Hokuseki	JPN
2n	Piemontese	ITA	2n	Makimidori	JPN
4n	Lossam	FRA	2n	Walter	CAN
4n	Trifomo	NLD	2n	Concorde	USA
2n	Quin	GBR	4n	RH	CZE
2n	Kenland	USA	4n	Kirsinai	LTU
2n	Norlac	CAN	4n	Kolpo	NOR
4n	Tempus	CSK	4n	Sigord	SVK
2n	Mistral	FRA	4n	Dolina	CSK
2n	GKT Junior	HUN	4n	Magura	SVK
2n	Verdi	FRA	4n	HZ-F	CZE
2n	Reichesberger Neu	AUT	2n	Triel	FRA
2n	Nesson	GRC	2n	309/1999	SVN
2n	Parka	POL	2n	SW Volm	SWE
2n	Pacific	CAN	2n	Divin	FRA
4n	Maďarskogarotetra	HUN	2n	Grasslands Hamua	NZL
2n	Marathon	USA	2n	Grasslands Turoa	NZL
2n	Viglana	SVK	2n	G 27	NZL



Obrazek 12: Dendrogram pro 209 položek druhu *Trifolium pratense*. Čísla 2 a 4 před jménem považují za plodní úroveň.



Obrázek 13: Individuální rostliny druhu *Trifolium pratense* na poli, 14.12.2004 (rok výsadby).

© Tomáš Vymyslický



Obrázek 14: Individuální rostliny druhu *Trifolium pratense* v polní výsadbě, sklizeň a hodnocení, dne 3.6.2005. © Tomáš Vymyslický

Největší míra podobnosti v souboru byla nalezena mezi odrůdami Reddy a Starglo z USA a mezi odrůdou Vendelín a šlechtitelskou linií SE-59 z České republiky.

Překvapivě některé položky měly rozdílnou ploidní úroveň, než která byla deklarována šlechtiteli. Tyto položky byly vyjmuty z analýz. Celkově bylo vybráno 76 položek do core kolekce. Jejich přehled je uveden v Tabulce 10.

## **5.2. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů komplexu *Medicago sativa* a sestavení core kolekce**

Všech dostupných 457 položek bylo na základě shlukové analýzy rozděleno do skupin a poté byli vybráni zástupci do nově vytvářené core kolekce. Celkem bylo vybráno do core kolekce 99 položek ze světového sortimentu, 88 z nich náleželo k odrůdám druhu *Medicago sativa*, 4 byly šlechtitelské materiály druhu *M. sativa*, 5 byly odrůdy *M. x varia*, jedna byla šlechtitelský materiál *M. x varia* a jen jedna odrůda reprezentuje druh *M. falcata*. Přehled materiálů je prezentován v Tabulce 11. Celkem 54 z vybraných 99 položek je registrováno ve společném katalogu odrůd Evropské Unie.



Obrázek 15: Individuální rostliny *Medicago sativa* na poli, před hodnocením a sklizní biomasy,  
10.5.2006. © Tomáš Vymyslický



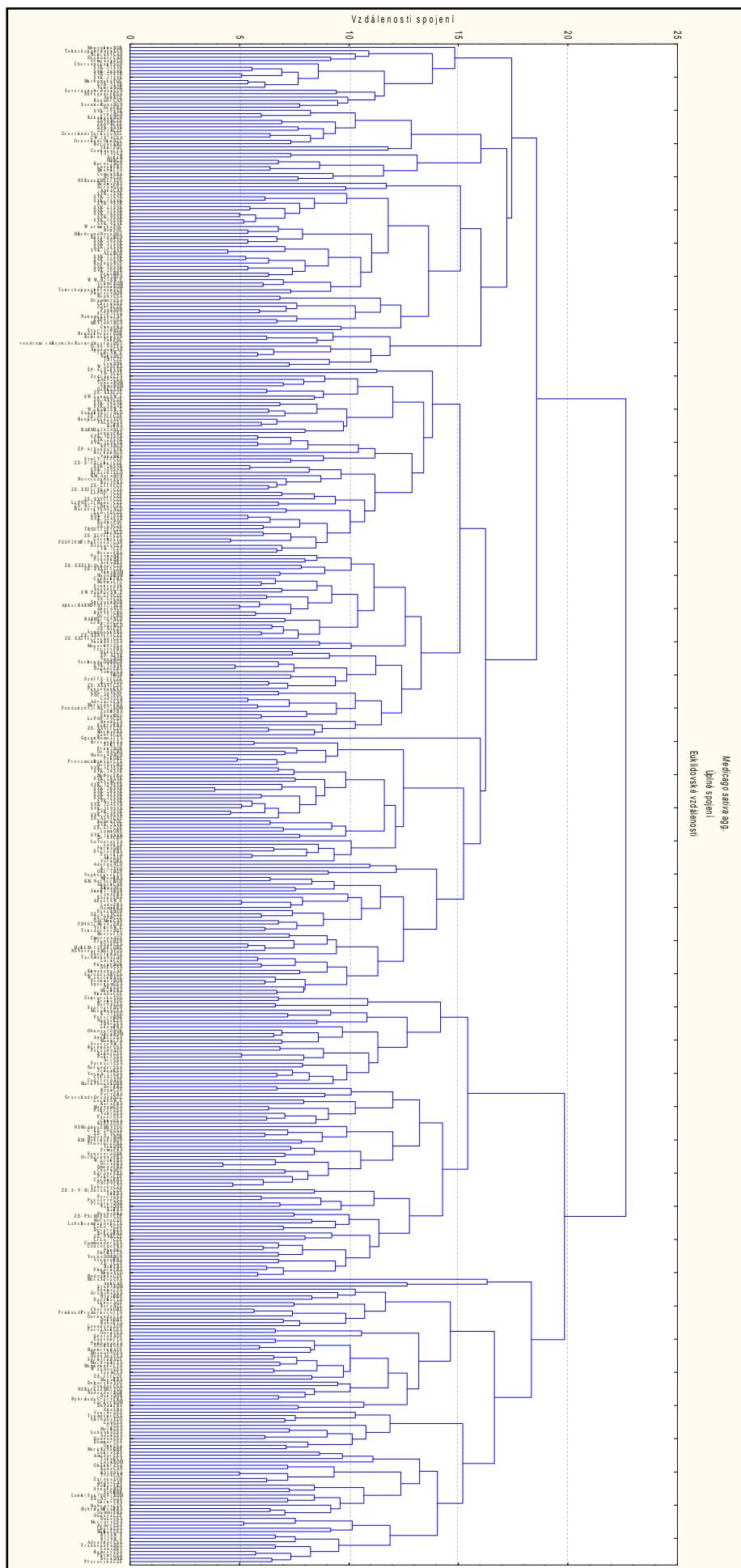
Obrázek 16: Individuální rostliny druhu *Medicago sativa*, kvetoucí ve druhém nárůstu, 27.7.2006.

© Tomáš Vymyslický

Opět byla, stejně jako u druhu *Trifolium pratense*, potvrzena dobrá prediktivní schopnost shlukové analýzy. Nejbližší dvojice zahrnovala slovenské materiály označené jako SVK 3/6 a SVK 2/8. V prvním případě se jednalo o hybrid mezi odrůdami Burgaltaj a Leonicena z oblasti bývalého Sovětského svazu, ve druhém případě to byl materiál pocházející z Kazachstánu. Další nejbližší dvojice byla tvořena francouzskými odrůdami Orca a Omega. Dále byly vytvořeny shluky tvořené materiály z jedné země, například shluk tvořený odrůdami z bývalé šlechtitelské stanice Libochovice (Li-POP-1, Li-1 a odrůda Hana (Li-POP-2)), a dvěma českými původy ze šlechtitelské stanice Želešice (ZE-XXVIII a odrůda Niva (ZE-N2-2)). Z toho můžeme vyvazovat, že materiály byly vyšlechtěny ze stejných předků. Další shluky byly tvořeny zcela nebo velkou většinou původy *Medicago x varia*. Například, shluk tvořený původy Mnogolistna (BGR), Tulunskaja gibridnaja (SUN), Heinrichs (CAN), Drylander (CAN) a Ufimskaja (SUN). Podobný cluster byl vytvořen odrůdami Bendelebener (DDR), Beloruskaja (SUN), Tula (POL) a von Arnim's Altdeutsche Bastard (DEU). Poslední cluster tvořily pouze původy *Medicago x varia*, dva polské šlechtitelské materiály POC – 1/79 a POC – 4/82, obě pocházející ze stejné šlechtitelské stanice.

Tabulka 11: Česká core kolekce komplexu *Medicago* spp. Pořadí položek v tabulce je shodné s pořadím v níže uvedeném dendrogramu (Obrázek 17).

Číslo	Název položky	Země původu	Typ	Číslo	Název položky	Země původu	Typ	Číslo	Název položky	Země původu	Typ
1	Mnogolistna	BGR	sativa	34	Malvina	LTU	sativa	67	Nadezda 2	BGR	sativa
2	Victoria	BGR	sativa	35	Os-11	HRV	sativa	68	Vela	DNK	sativa
3	Naraganset	USA	varia	36	Jarka	CZE	sativa	69	Orca	FRA	sativa
4	Kákalelegelo	HUN	sativa	37	Jersey	FRA	sativa	70	Europe	FRA	sativa
5	Centauro	ITA	sativa	38	Bistra	SLO	sativa	71	Palava	CZE	sativa
6	Midi	NLD	sativa	39	Daphne	FRA	sativa	72	Zuzana	CZE	sativa
7	NS Banat ZMS II	YUG	sativa	40	Precedent	USA	sativa	73	Preserve	USA	sativa
8	Medina	FRA	sativa	41	POC-4/82	POL	varia	74	Morava	CZE	sativa
9	SVK 21	SVK	sativa	42	Mercedes	FRA	sativa	75	Belfeuil	FRA	sativa
10	SVK 39	SVK	sativa	43	Planet	DEU	sativa	76	Verko	DDR/HUN	sativa
11	Préri	HRV	sativa	44	Biruté	LTA	sativa	77	Hodonínka	CZE	sativa
12	Tatarskajapastbiščnaja	SUN	varia	45	Pella	GRC	sativa	78	Anik	CAN	falcata
13	Paula	DDR	sativa	46	Meldore	FRA	sativa	79	Equipe	ITA	sativa
14	Natsuwakaba	JAP	sativa	47	Kometa	POL	varia	80	Leonicena	SUN	sativa
15	Cinna	FRA	sativa	48	Altiva	ESP	sativa	81	Sirosal1	AUS	sativa
16	Tula	POL	varia	49	Adorna	NLD	sativa	82	Eugenia	ITA	sativa
17	Julus	SWE	sativa	50	Vogherese	ITA	sativa	83	Team	USA	sativa
18	Isis	DNK	sativa	51	KM Norbert	HUN	sativa	84	Hybride de Crécy	FRA	sativa
19	Vali	SVK	sativa	52	Euver	FRA	sativa	85	Du Puits	FRA	sativa
20	Gabika	SVK	sativa	53	Vertus	SWE	sativa	86	Slavonka	YUG	sativa
21	WeibulB7	SWE	sativa	54	Cimarron	AUS	sativa	87	C 3	USA	sativa
22	Tango	FRA	sativa	55	Szapko	HUN	sativa	88	Agata	USA	sativa
23	KPTS 2	HUN	sativa	56	Saranac AR	USA	sativa	89	Lutece	FRA	sativa
24	Barlydia	NLD	sativa	57	Poroteina 1	BGR	sativa	90	Luxin	ROM	sativa
25	Jitka	CZE	sativa	58	Krajina	YUG	sativa	91	Zarnica	SUN	sativa
26	Vlasta	CZE	sativa	59	Baron	USA	sativa	92	Sabilt	GBR	sativa
27	Niva	CZE	sativa	60	Prescot	DNK	sativa	93	Gamma	FRA	sativa
28	Bardesi	NLD	sativa	61	Nugget	USA	sativa	94	Ondava	SVK	sativa
29	Radius	POL	varia	62	Sverre	SWE	sativa	95	Multileaf	USA	sativa
30	Casalina	ITA	sativa	63	Resistador	USA	sativa	96	Advantage	USA	sativa
31	Express	USA	sativa	64	Maris Phoenix	GBR	sativa	97	Resis	DNK	sativa
32	Panonia	HRV	sativa	65	Grassland Oranga	NZL	sativa	98	Přerovská	CZE	sativa
33	Magnat	ROM	sativa	66	Lesina	SWE	sativa	99	Gigante Romea	ITA	sativa

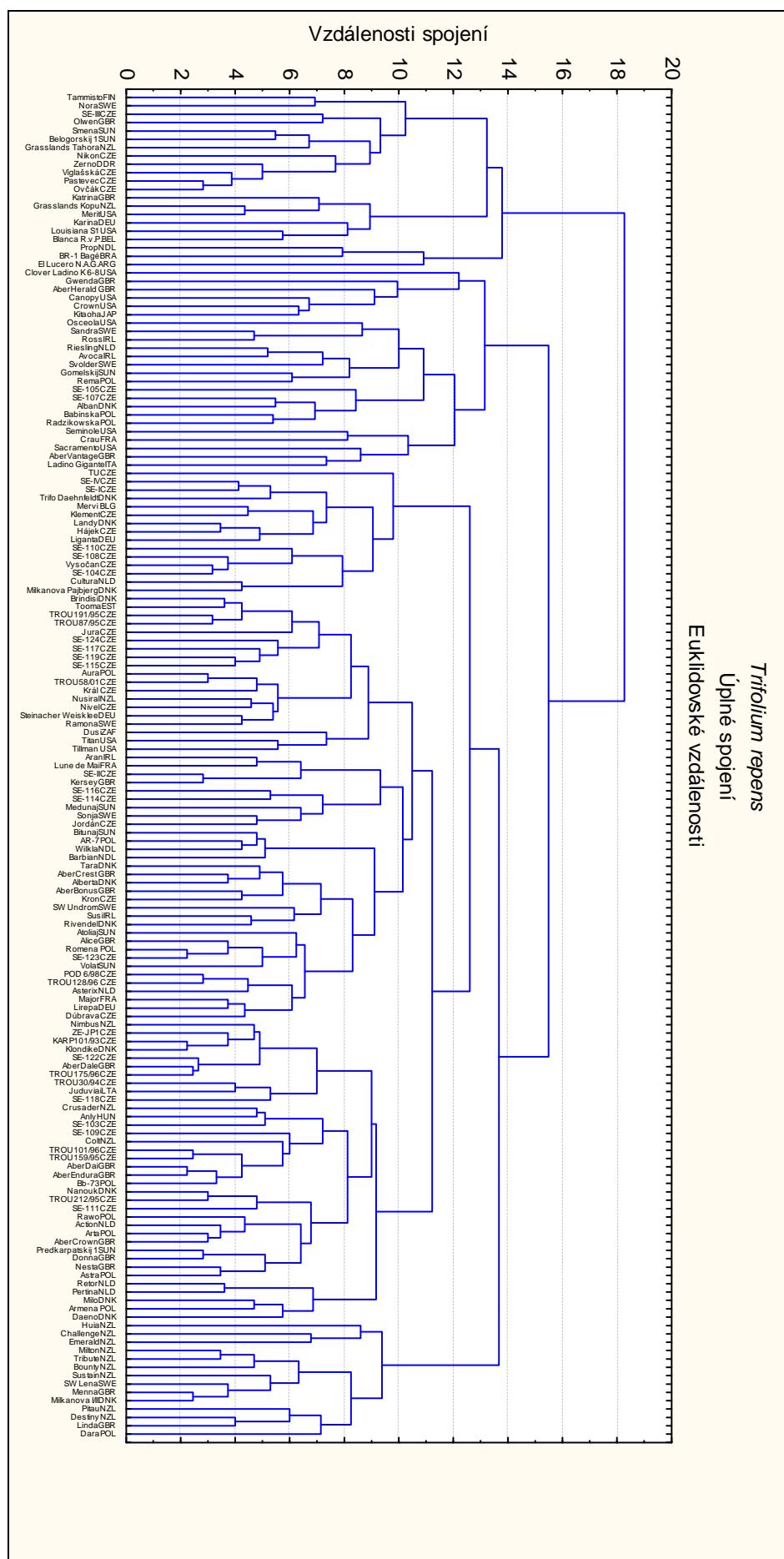


Obrazek 17: Česká core kolekce komplexu *Medicago sativa*. Vzhledem k vysokému počtu shlukovaných položek (celkem 457) a grafickým možnostem je obrázek pouze ilustrativní.

Samostatný shluk byl vytvořen 10 původy ze Slovenska, včetně planých forem sbíraných ve Vysokých Tatrách. Další shluky byly tvořeny odrůdami ze stejné země, jako například shluk amerických odrůd Duke, Mercury, Armor, Liberty a Multileaf; shluk francouzských odrůd Warotte, Orca a Omega; a konečně shluk chorvatských odrůd Posavina, Panonia a Astra nebo shluk amerických odrůd Nuget a Thor. Mnoho shluků bylo vytvořeno kombinací původů ze stejné země a jednou nebo dvěma odrůdami z jiné země. Například shluk francouzských odrůd Janu, Euver, Jade a Gemini a švédská odrůda Alfa II; shluk amerických odrůd Resistador, Raidor, Polar I a Arc, plus australská odrůda Paravivo. Další podobný shluk je tvořen americkými odrůdami Fortress, Defender, Trident, Voris A-77 a CUF 101, plus australská odrůda Cancreep a anglická Maris Phoenix; a shluk amerických odrůd Mesilla, Lahontan, Agata, Dawson, Dominor a Uinta, plus anglická odrůda Maris Kabul. Bohužel nemáme k dispozici detailní rodokmeny odrůd tak, abychom u nich mohli najít společné předky.

### **5.3. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhu *Trifolium repens* a sestavení core kolekce**

Na základě shlukové analýzy celkového počtu 161 hodnocených položek bylo vytvořeno celkem 39 skupin (viz Obrázek 18). Opět byla potvrzena dobrá prediktivní schopnost shlukové analýzy. Většina novozélandských položek byla soustředěna na pravé straně dendrogramu, zatímco české odrůdy a šlechtitelské materiály (ze šlechtitelské stanice Slavice) byly soustředěny ve střední části dendrogramu. Nejrozšířenější typ *hollandicum* byl soustředěn ve shlucích 1, 2, 4, 6, 10, 21, 33 a 35. Shluky 17, 18, 38 a 40 byly tvořeny zástupci tohoto typu a některým dalším typem. Shluk číslo 19 obsahoval typ *giganteum*. Shluky 11 a 12 obsahovaly zástupce typu *giganteum* a jednoho zástupce typu *hollandicum*. Pouze zástupci typu *sylvestre* byli rozmištěni skrz všechny shluky bez jakékoliv pravidelnosti.



Obrazek 18: Dendrogram pro 161 položek druhu *Trifolium repens*.

Založená core kolekce druhu *Trifolium repens* se skládá ze 41 položek ze 17 zemí (detailey viz Tabulka 12). Tato česká core kolekce je podmnožinou z celkem 161 položek dostupných v české národní genové bance.

Celkem 8 položek pochází z České republiky; pět položek pochází z Velké Británie; po čtyřech položkách pochází z Nového Zélandu, Nizozemí a Dánska; tři položky pochází z Francie; po dvou položkách pochází ze Švédska a z Polska a po jedné položce pochází z Finska, USA, Německa, Japonska, Irska, Estonska, Jihoafrické republiky, Lotyšska a Maďarska. Forma *hollandicum* je v core kolekci zastoupena 17 krát, forma *gigantem* devětkrát, forma *sylvestre* osmkrát a u sedmi položek není známa forma. Celkem bylo pro výběr členů core kolekce zvoleno 39 shluků. Položky nejrozšířenější formy *hollandicum* jsou koncentrovány ve 12 shlucích. Položky formy *giganteum* jsou soustředěny ve třech shlucích. Položky formy *sylvestre* jsou roztroušeny napříč ostatními shluky.

Tabulka 12: Česká core kolekce druhu *Trifolium repens*. Pořadí položek v tabulce je shodné s pořadím ve výše uvedeném dendrogramu (Obrázek 18).

Číslo	Položka	Země	Číslo	Položka	Země
1	Tammisto	FIN	22	Lune de Mai	FRA
2	Olwen	GBR	23	Jordán	CZE
3	Grassland Tahora	NZL	24	Barbian	NLD
4	Ovčák	CZE	25	AberCrest (AC 50)	GBR
5	Merit	USA	26	Rivendel	DNK
6	Karina	DEU	27	Alice	GBR
7	Prop	NDL	28	Major	FRA
8	Kitachoa	JAP	29	AberDale	GBR
9	Ross	IRL	30	Juduviai	LTA
10	Rema	POL	31	Anly	HUN
11	Alban	DNK	32	Colt	NZL
12	Crau	FRA	33	Nanouk	DNK
13	TU	CZE	34	Action	NDL
14	Klement	CZE	35	Astra	POL
15	Hájek	CZE	36	Pertina	NDL
16	Vysočan	CZE	37	Milo	DNK
17	Tooma	EST	38	Grassland Challenge	NZL
18	SE-119	CZE	39	Tribute	NZL
19	Král	CZE	40	SW Lena	SWE
20	Ramona	SWE	41	Linda	GBR
21	Dusi	ZAF			

Nejbližší dvojice nalezené touto shlukovací metodou jsou: Romena (POL) a SE-123 (nyní registrována pod jménem Bak) (CZE), Klondike (DNK) a KARP 101/93 (CZE – planá forma), AberDai a AberEndura (GBR).

Jeden shluk byl vytvořen zaráz jak novozélandskými (Huia, Challenge, Emerald, Milton, Tribute, Bounty a Sustain), tak i českými původami (TROU 191/95, TROU 87/95, Jura, SE-124 (nyní registrována pod jménem Borek), SE-117, SE-119 a SE-115) – čtyři šlechtitelské linie, dvě plané formy a jedna odrůda (ze šlechtitelské stanice Slavice). I přes značnou geografickou vzdálenost obou zemí byly tyto původy shlukovou analýzou umístěny do jednoho shluku.

#### 5.4. Zhodnocení české core kolekce druhu *Trifolium pratense*

Prvním krokem bylo analyzovat, jestli existují rozdíly mezi diploidními a tetraploidními položkami za využití zhodnocených morfologických znaků. Shlukovou analýzou morfologických dat nebyla nalezena jasná diference mezi diploidními a tetraploidními položkami v rámci core kolekce druhu *Trifolium pratense*. Nicméně některé odlišnosti byly patrné – tetraploidní původy měly ve srovnání s diploidy chlupatější a větší děložní lístky, silnější lodyhy, širší terminální lístky, větší hmotnost semen a menší odolnost k mrazu (Bonferroni  $P<0,05$ ; viz Tabulka 13).

Tabulka 13: Rozdíly mezi diploidními a tetraploidními genotypy jetele lučního v rámci morfologických znaků. Rozdíly označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$  po aplikování Bonferronova korekce.

Znak	Signifikance Mann-Whitney
Ochlupení děložních lístků	0,000*
Velikost děložních lístků	0,000*
Tloušťka kořenového krčku	0,236
Tvar listové růžice (od široce rozprostřené po vzpřímenou)	0,230
Velikost listové růžice	0,296
Individuální rostlina – morfobiotyp (bez růžice → s růžicí)	0,166
Individuální rostlina – tvar (od široce větvené po vzpřímenou)	0,491
Individuální rostlina – počet lodyh	0,511
Tvar lodyhy na průřezu – kulatý (1) nebo oválný (0)	0,471
Barva lodyhy	0,838
Tloušťka lodyhy	0,000*
Délka lodyhy	0,282
Ochlupení lodyhy	0,112
Lodyha – počet internodií	0,219
Lodyha – délka středního internodia	0,206
Terminální lístek – tvar (od kulatého po kopinatý)	0,640

Znak	Signifikance Mann-Whitney
Terminální lístek – barva	0,837
Terminální lístek – okraj	0,166
Terminální lístek – ochlupení	0,017
Terminální lístek – intensita kresby	0,470
Terminální lístek – délka	0,200
Terminální lístek – šířka	0,000*
Terminální lístek – plocha	0,788
Tvar květenství (od kulatého po úzce cylindrické)	0,526
Délka květenství	0,119
Šířka květenství	0,067
Květenství – počet květů	0,006
Květenství – počet na lodyze	0,631
Tvar semene vejčitý	0,491
Tvar semene eliptický	0,002
Tvar semene srdčitý	0,166
Tvar semene okrouhlý	0,009
Barva semene (tmavost)	0,169
Hmotnost 1000 semen	0,000*
Délka vegetace do počátku kvetení (ranost)	0,026
Odolnost k mrazům	0,000*
Přežívání rostlin během vegetace	0,796
Odolnost k virovým chorobám	0,343
Odolnost ke rzím	0,022
Odolnost k padlí	0,185
Odolnost k antraknoze jetele	0,962
Odolnost k hladkoplodce jetelové	0,797
Odolnost ke skvrnitosti listů	0,760
Výška porostu na počátku kvetení	0,517
Porost – počet sečí za rok	0,049
Výnos zelené hmoty	0,114
Výnos suché píce	0,343
Individuální rostlina – výnos zelené hmoty	0,861
Individuální rostlina – produkce semen	0,893
Obsah dusíkatých látek v sušině	0,041
Obsah hrubé vlákniny v sušině	0,536

Některé základní výnosové charakteristiky jsou prezentovány v Tabulce 14. Produkce suché píce z jedné rostliny se pohyboval od 0,09 do 0,7 kg. Z jedné rostliny bylo sklizeno od 0 do 5,34 g semen. Zajímavý fakt je, že nejlepší výsledky v obou parametrech byly zjištěny u odrůdy Brita (SWE), naopak odrůda Nesson (GRC) nevytvořila žádná semena a měla nejnižší výnos suché píce.

Tabulka 14: Vybrané výnosové charakteristiky získané během hodnocení individuálních rostlin.

V tabulce jsou prezentovány průměry z 10 hodnocených rostlin.

Jméno položky	Země původu	Ploidní úroveň	Produkce suché píce z jedné rostliny (kg)	Produkce semen z jedné rostliny (g)
143/1995	CZE	2	0,46	0,58
309/1999	SVN	2	0,14	0,91
84/1999	CZE	2	0,47	0,14
Amos	CZE	4	0,52	0,2
Arlington	USA	2	0,45	0,57
Barfiola	NLD	4	0,19	0,14
Brita	SWE	2	0,7	5,34
Bryza	POL	2	0,32	1,95
Concorde	USA	2	0,55	0,45
Divin	FRA	2	0,2	2
Dolina	CZE	4	0,41	0,16
Dolly	CZE	4	0,46	0,12
Essex Broad Red	GBR	2	0,19	0
G 27	NZL	2	0,38	0,88
Gibridnij Pozdnespelij	SUN	2	0,51	0,97
GKT Junior	HUN	2	0,36	3
Granta	GBR	2	0,28	0,72
Grasslands Hamua	NZL	2	0,3	1,01
Grasslands Turoa	NZL	2	0,48	0
Hayakita	JPN	4	0,27	0,67
HK	USA	2	0,32	0,81
Hokuseki	JPN	2	0,5	0,34
Horal	CSK	2	0,43	1,52
Hungarotetra	HUN	4	0,43	0,06
HZ-F	CZE	4	0,4	0,16
Chlumecký	CSK	2	0,19	2,12
Jokioinen	FIN	2	0,33	0,56
Karim	FRA	2	0,41	0,82
Kenland	USA	2	0,42	0,63
Kirsinai	LTU	4	0,68	0,12
Kolpo	NOR	4	0,59	0,09
Krusevacka 27	YUG	4	0,3	0,17
Kvarta	CZE	4	0,28	0,59
Lossam	FRA	4	0,16	0
Magura	SVK	4	0,34	0,12
Makimidori	JPN	2	0,53	0,53
Manuela	SVK	4	0,38	1,13
Marathon	USA	2	0,46	0,39
Markus	DEU	4	0,55	0,07
Mistral	FRA	2	0,52	1,33

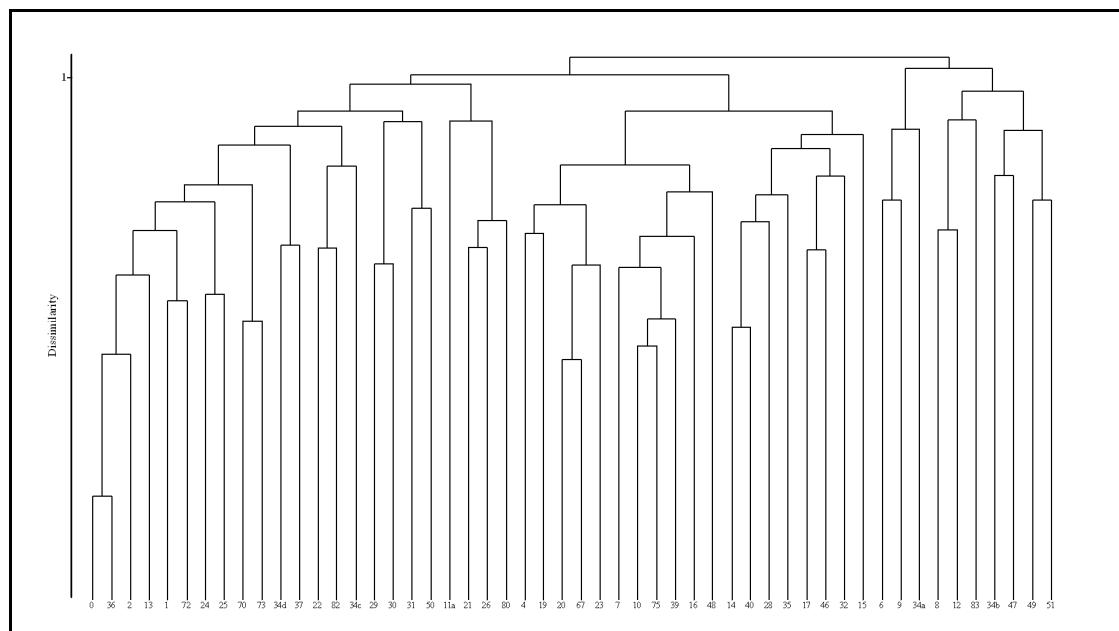
Jméno položky	Země původu	Ploidní úroveň	Produkce suché píce z jedné rostliny (kg)	Produkce semen z jedné rostliny (g)
Napoca-Tetra	ROM	2	0,46	0,91
Nemaro	DEU	2	0,38	2,45
Nesson	GRC	2	0,09	0
Norlac	CAN	2	0,59	1,03
Ottawa	CAN	4	0,34	0,22
Pacific	CAN	2	0,32	0
Parka	POL	2	0,45	0,37
Piemontese	ITA	2	0,27	0
Quin	GBR	2	0,32	1,2
Radegast	CZE	4	0,63	0,16
Ranespelij VIK 7	SUN	2	0,48	0,86
Reddy	USA	2	0,45	1,45
Reichesberger	AUT	2	0,32	4,09
Reichesberger Neu	AUT	2	0,34	1,31
Renova	CHE	2	0,18	1,23
RF*2 South	USA	2	0,52	0,23
RH	CZE	4	0,49	0
Sara	SWE	4	0,56	0,2
Select-Tetra	ROM	2	0,39	0,32
Sigord	SVK	4	0,37	0,08
Start	CZE	2	0,26	3,46
Suez	CZE	2	0,46	0,59
SW Volm	SWE	2	0,38	0,87
Tabor	CZE	2	0,38	1,5
Tatra	CSK	4	0,39	0,53
TB-12	CZE	2	0,68	0,98
Tempus	CZE	4	0,47	0,42
Triel	FRA	2	0,23	0
Trifomo	NLD	4	0,51	0,52
Triton	SWE	4	0,5	0,2
Vanessa	CHE	4	0,37	0,07
Vendelín	CZE	2	0,51	0,57
Verdi	FRA	2	0,34	1,77
Vesna	CZE	4	0,49	0,14
Viglana	SVK	2	0,38	0,09
Walter	CAN	2	0,61	0,45

Byl vytvořen dendrogram morfologických charakteristik použitých pro zhodnocení české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense*. Kofenetická korelace výsledného dendrogramu (Obrázek 20) je 0,65. Je to korelace mezi vzdálenostmi vzorků v originální matici a na dendrogramu (= míra zkreslení dat danou shlukovací metodou).

Vzájemné vztahy morfologických charakteristik v rámci core kolekce jsou na Obrázku 20. Morfologické znaky většinou nebyly korelovány. Významná korelace byla zjištěna jen mezi hmotností tisíce semen a ploidní úrovní (Spearmannův korelační koeficient = 0,8; P<0,001).



Obrázek 19: Hodnocení morfologických znaků na rostlině druhu *Trifolium pratense* v laboratoři,  
3.6.2005. © Tomáš Vymyslický



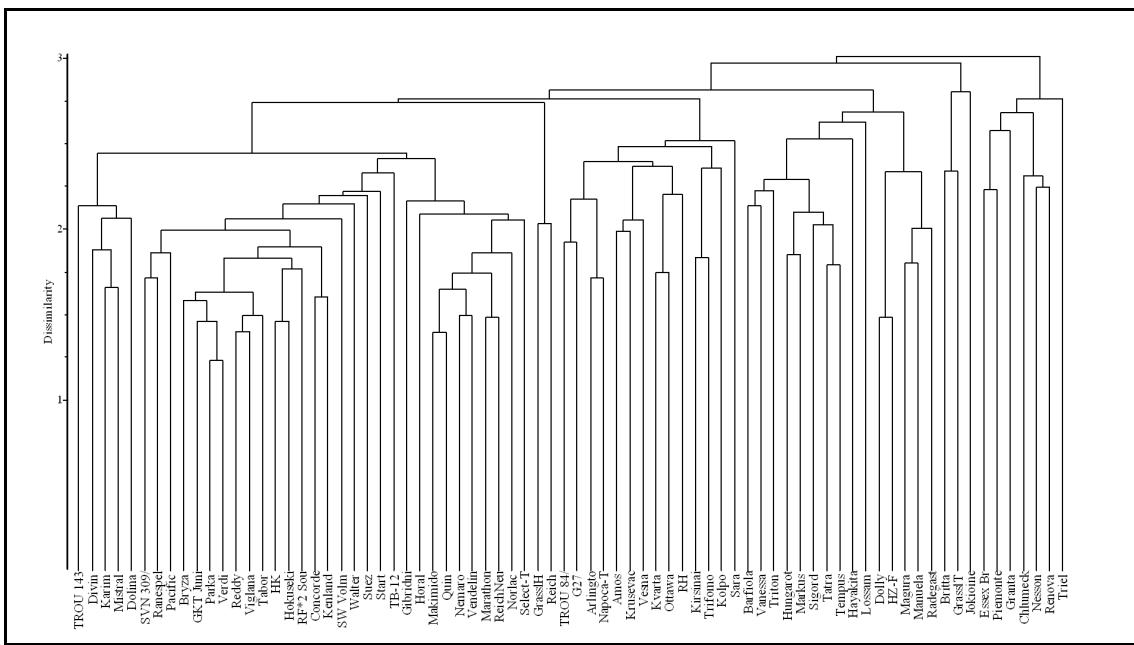
Obrázek 20: Dendrogram morfologických znaků použitých pro zhodnocení české core kolekce druhu *Trifolium pratense*.

Znaky a jejich označení v dendrogramu: Ploidní úroveň 0; Hmotnost tisíce semen 36; Velikost děložních lístků 2; Tloušťka lodyhy 13; Ochlupení děložních lístků 1; Výnos zelené hmoty 72; Délka terminálního lístku 24; Šířka terminálního lístku 25; Porost – počet sečí během roku 70; Porost – výnos suché píce za rok 73; Tvar semene kulatý 34d, Délka vegetace do počátku kvetení (ranost) 37; Ochlupení terminálního lístku 22; Obsah dusíkatých látek v sušině 82; Tvar semene srdčitý 34c, Délka kvetenství 29; Šířka kvetenství 30; Počet květů v kvetenství 31; Odolnost k hladkoplodce jetelové 50; Tvar lodyhy na průřezu kulatý (1) nebo oválný (0) 11a, Okraj terminálního lístku 21; Plocha terminálního lístku 26; Produkce semen na rostlině 80; Tloušťka kořenového krčku 4; Tvar terminálního lístku (od kulatého po kopinatý) 19; Barva terminálního lístku 20; Výška porostu na počátku kvetení 67; Intenzita kresby na terminálním lístku 23; Velikost listové růžice 7; Individuální rostlina – počet lodyh 10; Individuální rostlina – výnos zelené hmoty 75; Odolnost k mrazu 39; Počet internodií na lodyze 16; Odolnost k padlý 48; Délka lodyhy 14; Přežívání rostlin během vegetace 40; Tvar kvetenství (kulaté – úzce cylindrické) 28; Barva semene (tmavost) 35; Délka středního internodia 17; Odolnost k virovým chorobám 46; Počet kvetenství na lodyze 32; Ochlupení stonku 15; Tvar listové růžice (od široce rozkladité po vzpřímenou) 6; Tvar trsu (od široce rozkladitého po vzpřímený) 9; Tvar semene oválný 34a, Individuální rostlina – morfobiotyp (bez růžice → s růžicí) 8; Barva lodyhy 12; Obsah vlákniny v sušině 83; Tvar semene eliptický 34b, Odolnost ke rzi 47; Odolnost k antraknóze jetele 49; Odolnost ke skvrnitosti listů 51;

Molekulární a morfologická data nebyla signifikantně korelována (Mantelův test - jednostranný,  $P = 0,188$ ). Kofenetické korelace dendrogramů založených na morfologických a molekulárních datech byly 0,75 a 0,87.

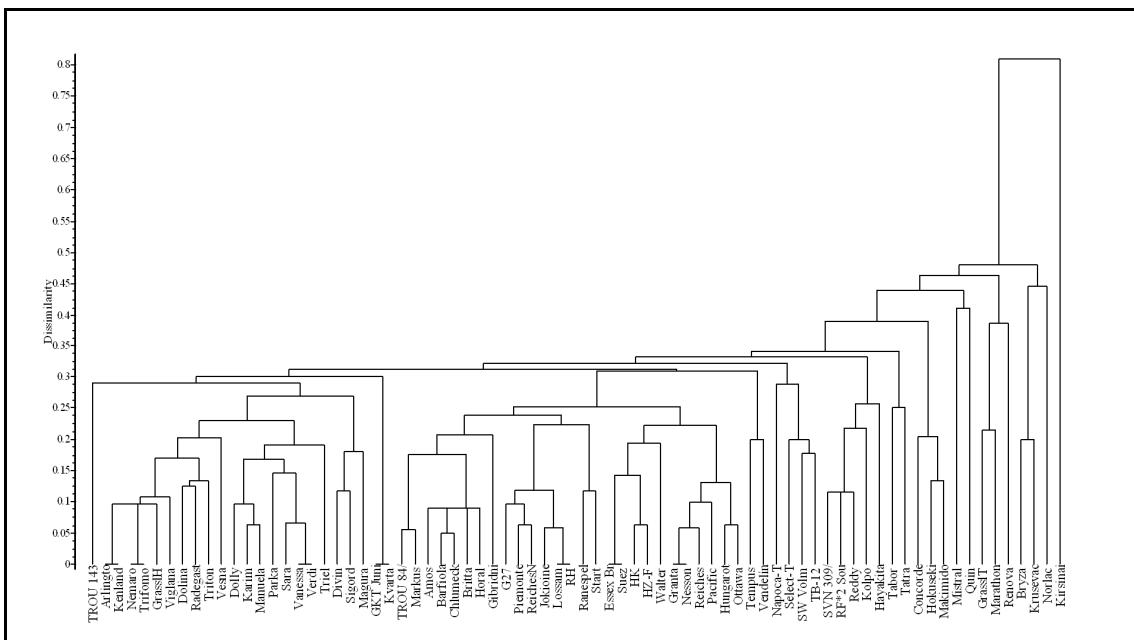
Nebyly zjištěny korelace konkrétních morfologických znaků s prezencí/absencí konkrétních proužků ani celkového rozložení polymorfních SSR markerů (Bonferoniho korekce  $P>0,1$ ).

Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense* založený na morfologických datech (viz Obrázek 21) ukazuje separaci položek do 7 shluků. Jen jeden shluk obsahuje 2 položky, není zde žádná odlehlá položka.



Obrázek 21: Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense* vytvořený na základě morfologických dat.

Pro srovnání, dendrogram založený na molekulárních datech (Obrázek 22) ukazuje separaci položek do 13 shluků (ve srovnání s morfologickými daty) – 10 z nich má více než dvě položky, jeden má jen dvě položky a dva obsahují pouze po jedné položce. Odrůda Kirsinai se projevila jako odlehlá položka, z důvodu přítomnosti pouze tří polymorfních proužků (z 23 možných). Příčina přítomnosti pouze tří proužků není známa.



Obrázek 22: Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense* vytvořený na základě molekulárních dat.

U položek zařazených v core kolekci byla zjištěna určitá míra rezistence k infekci *Fusarium* spp. a BYMV. V případě *Fusarium* spp. bylo 8 položek středně náchylných (AGD<2), 65 bylo vysoce náchylných (AGD≥2). Žádná položka nebyla klasifikována jako náchylná nebo naopak rezistentní (viz Tabulka 15). Nejvyšší hladina AGD byla nalezena u odrůd Kolpo (NOR) a RH (nyní registrována pod jménem Nodula) (CZE). Nejnižší AGD byla nalezena u odrůd Ruin (GBR) a Ranespelij VIK 7 (SUN).

Tabulka 15: Úroveň rezistence položek v core kolekci.

Vysvětlivky: AGD – Průměrný stupeň napadení; IPP – Procento infikovaných rostlin; R – Rezistentní; S – Náchylný; MS – Středně náchylný; HS – Vysoce náchylný.

Položka	Původ	Ploidie	<i>Fusarium</i> spp.		BYMV	
			AGD	Kategorie	IPP	Kategorie
143/1995	CZE	2	2,25	HS	40	S
309/1999	SVN	2	1,9	MS	65	MS
84/1999	CZE	2	1,95	MS	55	MS
Amos	CZE	4	2,75	HS	60	MS
Arlington	USA	2	2,25	HS	75	MS
Barfiola	NLD	4	2,65	HS	95	HS
Brita	SWE	2	2,75	HS	95	HS
Bryza	POL	2	2,4	HS	53	MS
Concorde	USA	2	2,3	HS	60	MS
Divin	FRA	2	2,9	HS	75	MS
Dolina	CSK	4	2,7	HS	55	MS
Dolly	CZE	4	2,65	HS	70	MS
Essex Broad Red	GBR	2	2,7	HS	100	HS
G 27	NZL	2	Netestováno		90	HS
Gibridníj Pozdnespelij	SUN	2	2,75	HS	90	HS
GKT Junior	HUN	2	2,8	HS	80	MS
Granta	GBR	2	2,95	HS	Netestováno	
Grasslands Hamua	NZL	2	2,6	HS	65	MS
Grasslands Turoa	NZL	2	Netestováno		67	MS
Hayakita	JPN	4	2,2	HS	80	MS
HK	USA	2	2,65	HS	55	MS
Hokuseki	JPN	2	Netestováno		Netestováno	
Horal	CSK	2	2,5	HS	95	HS
Hungarotetra	HUN	4	2,25	HS	65	MS
HZ-F (Fresko)	CZE	4	2,45	HS	55	MS
Chlumecky	CSK	2	2,55	HS	80	MS
Jokioinen	FIN	2	2,85	HS	88	HS
Karim	FRA	2	2,8	HS	60	MS
Kenland	USA	2	1,95	MS	77	MS
Kirsinai	LTU	4	2,5	HS	70	MS
Kolpo	NOR	4	3,0	HS	60	MS
Krusevacka 27 (K27)	YUG	4	2,55	HS	70	MS

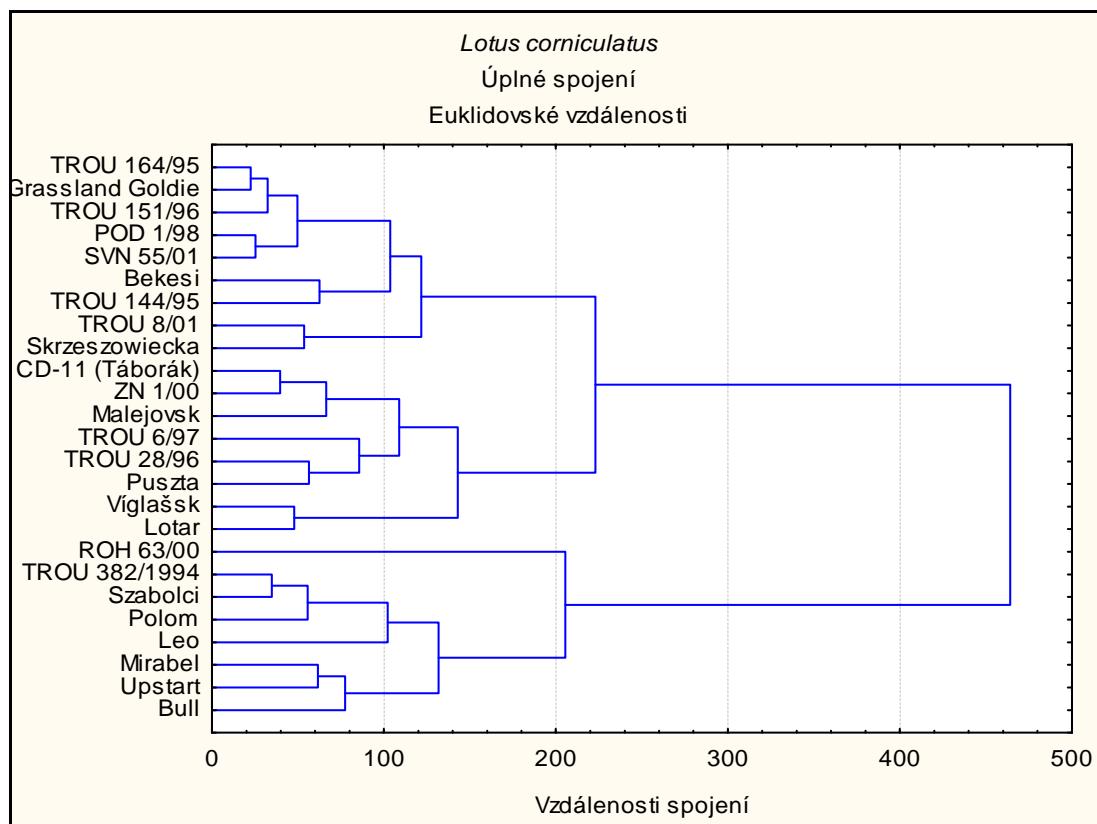
Položka	Původ	Ploidie	<i>Fusarium spp.</i>		BYMV	
			AGD	Kategorie	IPP	Kategorie
Kvarta	CSK	4	2,25	HS	95	HS
Lossam	FRA	4	2,4	HS	100	HS
Magura	SVK	4	2,35	HS	60	MS
Makimidori	JPN	2	2,9	HS	Netestováno	
Manuela	SVK	4	2,7	HS	60	MS
Marathon	USA	2	2,25	HS	80	MS
Markus	DEU	4	2,3	HS	60	MS
Mistral	FRA	2	2,55	HS	78	MS
Napoca-Tetra	ROM	2	2,55	HS	80	MS
Nemaro	DEU	2	2,2	HS	50	S
Nesson	GRC	2	2,25	HS	65	MS
Norlac	CAN	2	2,95	HS	83	MS
Ottawa	CAN	4	2,2	HS	90	HS
Pacific	CAN	2	2,85	HS	Netestováno	
Parka	POL	2	2,45	HS	60	MS
Piemontese	ITA	2	2,5	HS	81	HS
Radegast	CSK	4	2,8	HS	75	MS
Ranespelij VIK 7	SUN	2	1,85	MS	65	MS
Reddy	USA	2	2,1	HS	45	S
Reichesberger	AUT	2	1,9	MS	90	HS
Reichesberger Neu	AUT	2	2,4	HS	65	MS
Renova	CHE	2	2,9	HS	85	HS
RF*2 South	USA	2	2,5	HS	55	MS
RH	CZE	4	3,0	HS	60	MS
Ruin	GBR	2	1,8	MS	66	MS
Sara	SWE	4	2,85	HS	85	HS
Select-Tetra	ROM	2	2,25	HS	80	MS
Sigord	SVK	4	2,55	HS	50	S
Start	CZE	2	2,15	HS	95	HS
Suez	CZE	2	1,75	MS	70	MS
SW Volm	SWE	2	2,95	HS	71	MS
Tabor	CSK	2	1,9	MS	55	MS
Tatra	CSK	4	2,5	HS	90	HS
TB-12	CZE	2	2,45	HS	62	MS
Tempus	CSK	4	2,3	HS	88	HS
Triel	FRA	2	2,9	HS	80	MS
Trifomo	NLD	4	2,7	HS	83	HS
Triton	SWE	4	2,2	HS	70	MS
Vanessa	CHE	4	2,25	HS	75	MS
Vendelin	CZE	2	2,1	HS	55	MS
Verdi	FRA	2	2,6	HS	85	HS
Vesna	CSK	4	2,0	HS	80	MS
Viglana	SVK	2	2,85	HS	70	MS
Walter	CAN	2	2,85	HS	60	MS

Čtyři položky byly klasifikovány jako náchylné k BYMV ( $IPP \leq 50$ ), 49 bylo středně náchylných ( $IPP = 51-80$ ) a 19 bylo vysoce náchylných ( $IPP > 80$ ). Žádná položka nebyla klasifikována jako rezistentní. Nejvyšší četnost výskytu virové choroby (DI) byla zjištěna u odrůd Lossam (FRA) a Essex Broad Red (GBR). Nejnižší DI byl nalezen u planých forem TROU 143/1995 (CZE) a u odrůdy Reddy (USA).

Korelace mezi rezistencí položek v core kolekci k *Fusarium* spp. a BYMV nebyla na hladině  $P > 0,5$  signifikantní (0,197). V naší core kolekci jsme nenalezli ani jednu položku s dobrou hladinou kombinované rezistence jak k *Fusarium* spp., tak i k BYMV. Podobně nebyla nalezena ani jedna položka náchylná k oběma patogenům.

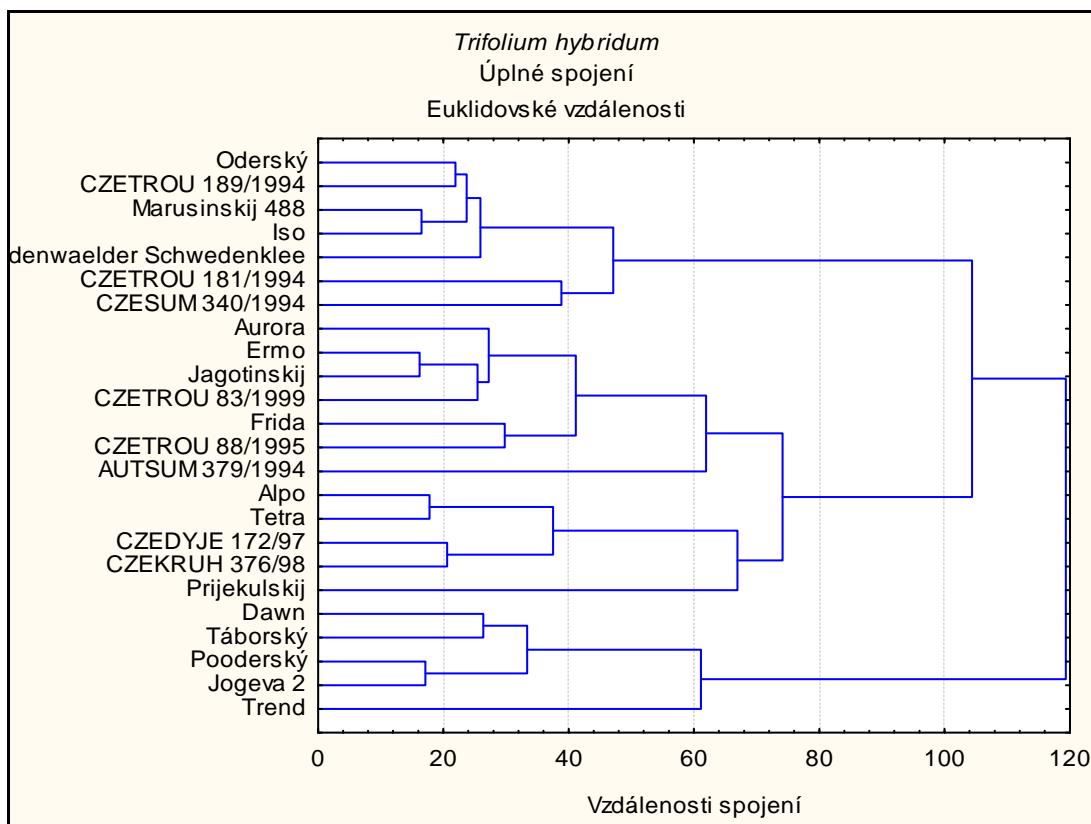
### **5.5. Morfologické hodnocení genetických zdrojů druhů *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum***

Výsledky shlukové analýzy 25 položek české kolekce druhu *Lotus corniculatus* jsou zobrazeny na Obrázku 23. Nejbližší dvojici tvořily plané formy TROU 164/95 a TROU 151/96; velká podobnost byla zjištěna i u dvojice planých forem POD 1/98 a SVN 55/01. Protože tyto položky pocházejí nejen z různých lokalit, ale i z různých zemí, nejedná se s největší pravděpodobností o duplikace v kolekci. V rámci odrůd byla vysoká podobnost nalezena mezi odrůdami Táborák (CZE) a Grassland Goldie (NZL). Obecně ale materiály byly rozděleny do pěti shluků. První shluk obsahoval plané formy (TROU 164/95, TROU 151/96 a ZN 1/00) a dále výše zmíněné odrůdy Táborák a Grassland Goldie. Druhý shluk byl tvořen pouze planými formami (POD 1/98, SVN 55/01 a TROU 8/01). Třetí shluk zahrnoval odrůdy Bekesi (HUN) a Skrzeszowiecka (POL) a dále planou formu TROU 144/95. Další shluk byl tvořen odrůdami Víglašský (SVK), Lotar (CZE), Puszta (HUN) a Malejovský (CZE). Poslední shluk zahrnoval zbývající odrůdy Mirabel, Upstart, Bull a Leo z Kanady, Szabolci (HUN), Polom (SVK) a planou formu SUM 382/94 z Rakouska. Planá forma ROH 63/00 byla poměrně osamocená od ostatních položek. Tato položka měla nejvyšší hodnoty u znaků jako počet internodií, výnos zelené hmoty a suché píce na rostlinu, počet kvetenství na rostlině a na lodyze.



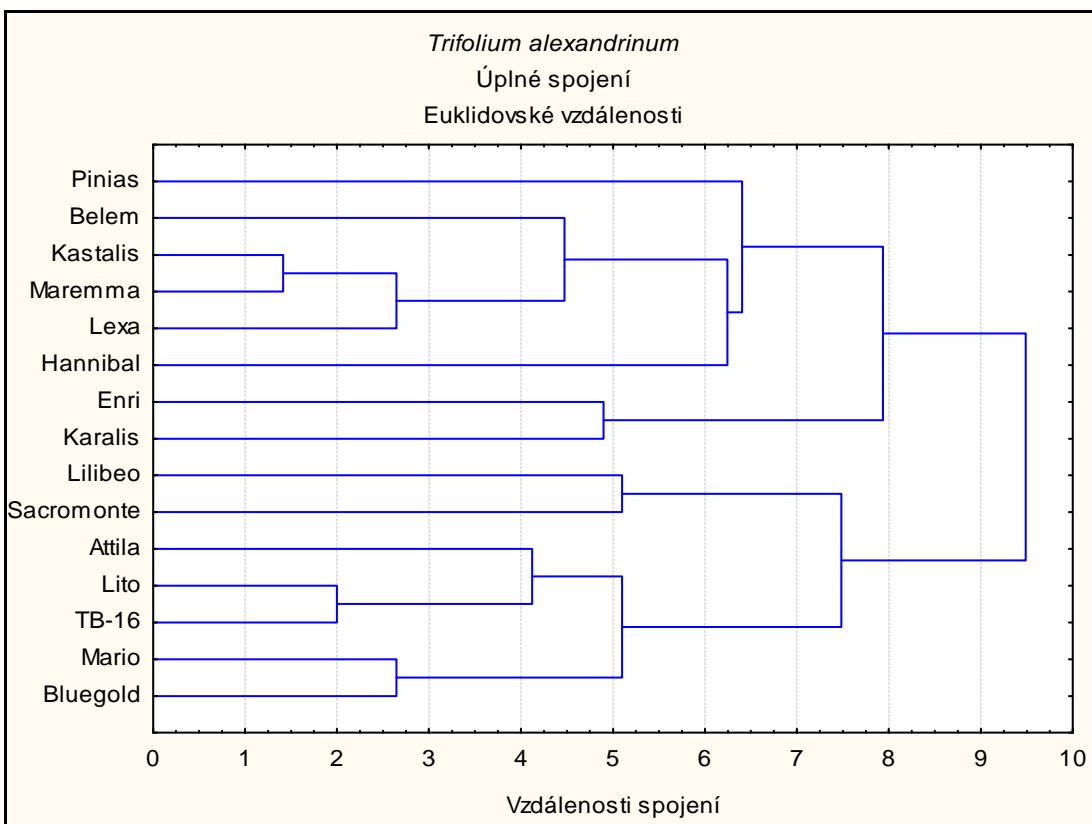
Obrázek 23: Dendrogram položek české kolekce druhu *Lotus corniculatus*.

U druhu *Trifolium hybridum* byla nejprve stanovena ploidní úroveň metodou průtokové cytometrie. V souboru 24 položek bylo nalezeno celkem 6 tetraploidních původů a zbytek byly diploidní odrůdy. Tetraploidní byly následující odrůdy: Iso, Frida, Alpo, Tetra, Prijekulskij a Trend. Dendrogram pro položky druhu *Trifolium hybridum* je na Obrázku 24. Nejpodobnější byly odrůdy Ermo a Jagotinskij, Marusinskij 488 a tetraploidní odrůda Iso. Ještě další dva páry byly velmi podobné, a sice tetraploidní odrůdy Alpo a Tetra a diploidní odrůdy Pooderský a Jogevo 2. Celkově byly položky rozloženy do 4 hlavních shluků. Je také zajímavé, že nebyl vytvořen samostatný shluk s tetraploidními materiály, ale tyto položky jsou rozptýleny napříč shluky, kromě shluku tvořeného jen diploidními odrůdami Alpo, Tetra a Prijekulskij a dvěma planými formami. Plané formy také nevytvořily samostatný shluk, ale jsou zastoupeny ve všech shlucích kromě posledního, který je tvořen pouze odrůdami. V české kolekci druhu *Trifolium hybridum* nebyly nalezeny žádné duplicity.



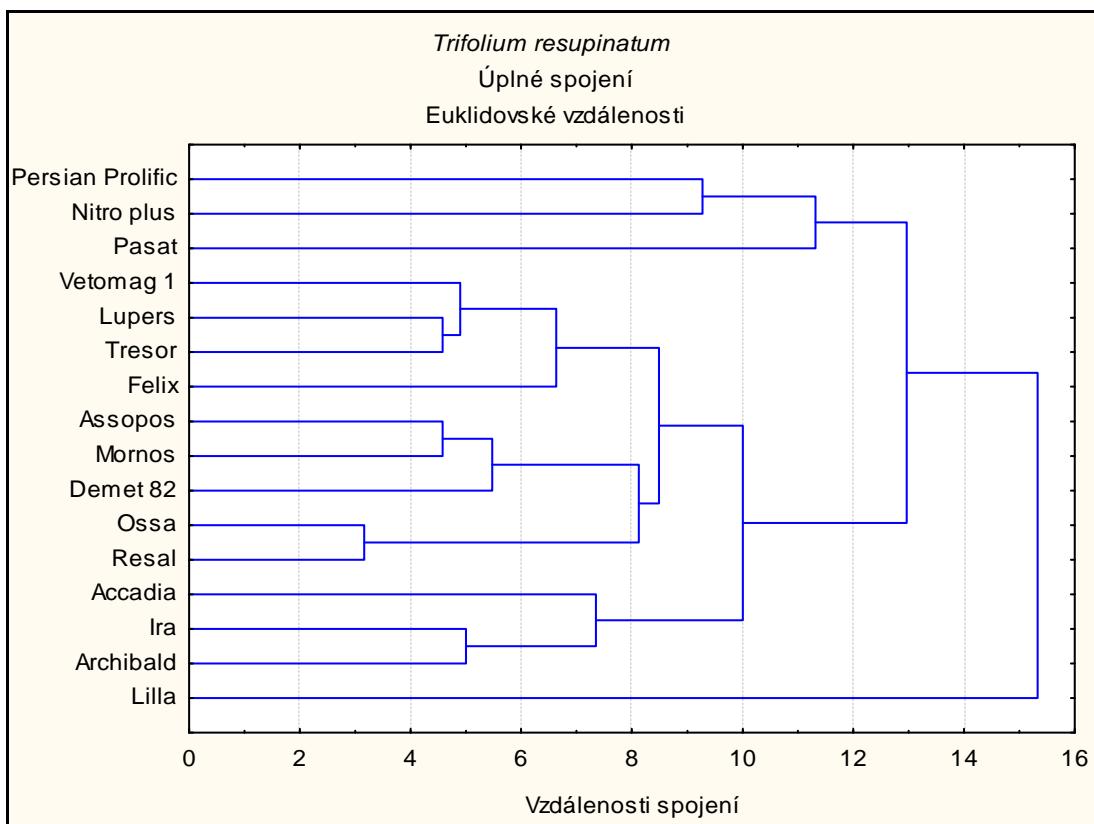
Obrázek 24: Dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium hybridum*.

Výsledkem shlukové analýzy české kolekce druhu *Trifolium alexandrinum* je dendrogram, viz Obrázek 25. Největší podobnost vykázaly řecká odrůda Kastalis a italská Maremma. Dále byla velká podobnost zjištěna u dvojice tvořené řeckou odrůdou Lito a českým novošlechtěním TB-16 a u dvojice tvořené italskými odrůdami Mario a Bluegold, z nichž každá má jiného vlastníka. Celý soubor se rozdělil v podstatě na čtyři shluky. První shluk je tvořen odrůdami Kastalis a Maremma, k nimž se postupně připojují holandská odrůda Lexa, portugalská odrůda Belem, řecká odrůda Pinias a německá Hannibal. Druhý shluk je tvořen dvojicí odrůd, a to italskou Enri a americkou Karalis, stejně jako třetí shluk, který je tvořen italskými odrůdami Lilibeo a Sacromonte, které také patří různým vlastníkům. Poslední shluk je tvořen italskými odrůdami Bluegold a Mario, českým novošlechtěním TB-16 (v současnosti registrováno jako odrůda Faraon), řeckou odrůdou Lito a německou Attila. Na základě výsledků shlukové analýzy lze konstatovat, že v souboru odrůd tvořících českou kolekci nebyla zjištěna žádná duplicita. I když se v rámci jednotlivých shluků vyskytly odrůdy z jednoho státu původu, patří tyto odrůdy různým majitelům a s největší pravděpodobností nelze u nich předpokládat shodný původ.



Obrázek 25: Dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium alexandrinum*

Na obrázku 26 je znázorněn dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium resupinatum*. Největší podobnost mezi zkoušenými původy byla zjištěna u dvojice Ossa a Resal. Dále vykázaly vysokou podobnost odrůdy Lupers a Tresor a odrůdy Assopos a Mornos. Celý materiál vytvořil v podstatě čtyři větší shluky. První tvoří odrůdy Persian Prolific, Nitro plus a Pasat. Druhý tvoří Vetomag 1, Lupers, Tresor, Felix, třetí shluk pak odrůdy Assopos, Mornos, Demet 82, Ossa a Resal. Na základě výsledků shlukové analýzy lze podobně jako u ostatních hodnocených druhů konstatovat, že v souboru odrůd tvořících českou kolekci nebyla zjištěna žádná duplicita.



Obrázek 26: Dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium resupinatum*.

## 5.6. Vliv rozdílných výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin

Výnosy zelené hmoty sklizené v roce 2012 na obou pokusných lokalitách (Troubsko a Žabčice) se od sebe výrazně liší (viz Tabulka 16). Nejvyšší výnosy na obou lokalitách poskytly druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*. Oba druhy poskytly v teplých a suchých podmírkách jižní Moravy dobré výnosy. Na lokalitě Troubsko poskytl vysoké výnosy také druh *Lotus corniculatus*. Detailní údaje jsou uvedeny v Tabulkách 16 a 17.

Tabulka 16: Vliv druhů, lokalit a výsevků na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druhy	3	38,82	116,30	0,000*
Lokality	1	12,47	37,30	0,000*
Výsevek	2	0,21	0,60	0,536
Druhy*Lokality	3	34,20	102,50	0,000*
Druhy*Výsevek	6	0,21	0,60	0,717
Lokalita*Výsevek	2	0,30	0,90	0,414
Druhy*Lokality*Výsevek	6	0,22	0,70	0,683
Chyba	60	0,33		

Tabulka 17: Výnosy suché píce v t.ha<sup>-1</sup> v Troubsku a v Žabčicích v roce 2012. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 2,7. Tabulka je seřazena vzestupně podle dosažených výnosů.

Žabčice			Troubsko		
Druh	Výsevek	Průměrný výnos suché píce	Druh	Výsevek	Průměrný výnos suché píce
<i>Lotus corniculatus</i>	50%	2,66 <sup>a</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	200%	3,08 <sup>a</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	100%	2,72 <sup>a</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	100%	3,38 <sup>a</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	200%	2,76 <sup>a</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	50%	3,74 <sup>ab</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	100%	2,84 <sup>a</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	50%	4,20 <sup>abc</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	50%	3,1 <sup>a</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	100%	4,24 <sup>abc</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	200%	3,32 <sup>a</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	200%	5,14 <sup>abcd</sup>
<i>Medicago sativa</i>	200%	9,58 <sup>efgh</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	100%	6,70 <sup>bcd</sup>
<i>Medicago sativa</i>	100%	10,24 <sup>fghi</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	50%	6,78 <sup>bcd</sup>
<i>Medicago sativa</i>	50%	11,08 <sup>ghi</sup>	<i>Medicago sativa</i>	200%	7,00 <sup>cdef</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	100%	11,84 <sup>hi</sup>	<i>Medicago sativa</i>	50%	7,42 <sup>def</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	200%	12,04 <sup>hi</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	200%	7,50 <sup>def</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	50%	13,42 <sup>i</sup>	<i>Medicago sativa</i>	100%	7,72 <sup>defg</sup>

Mezi jednotlivými hodnocenými druhy byly ve výnosech nalezeny statisticky významné rozdíly. Nejvyšší výnosy byly zjištěny u druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*, naopak nejnižší byly zjištěny u druhů *Trifolium pratense* a *Lotus corniculatus*. Detailní údaje jsou uvedeny v Tabulkách 18 a 19.

Tabulka 18: Rozdíly ve výnosech mezi jednotlivými hodnocenými druhy, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	32,47	18,74	0,000*
Chyba	80	1,73		

Tabulka 19: Výnosy suché píce v t.ha<sup>-1</sup> u jednotlivých hodnocených druhů. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 1,18.

Druh	Suchá píce průměr	Signifikance
<i>Trifolium pratense</i>	1,63	a
<i>Lotus corniculatus</i>	2,58	a
<i>Onobrychis viciifolia</i>	3,96	b
<i>Medicago sativa</i>	4,32	b

Statisticky významné rozdíly byly nalezeny i mezi jednotlivými pokusnými lokalitami. O něco lepších výnosů bylo dosaženo na lokalitě Žabčice. Detailní údaje jsou uvedeny v Tabulkách 20 a 21.

Tabulka 20: Rozdíly ve výnosech mezi jednotlivými pokusnými lokalitami, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Lokalita	1	12,47	4,57	0,035*
Chyba	82	2,723		

Tabulka 21: Výnosy suché píce v  $t.ha^{-1}$  na jednotlivých pokusných lokalitách. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 0,61.

Lokalita	Suchá píce průměr	Signifikance
Troubsko	2,79	a
Žabčice	3,57	b

Rozdíly ve výnosech u jednotlivých hodnocených druhů na pokusných lokalitách jsou prezentovány v Tabulkách 22 a 23. Jak je vidět v Tabulce 23, tak na lokalitě Žabčice byly extrémnější hodnoty výnosů jak směrem dolů (druhy *Lotus corniculatus* a *Trifolium pratense*), tak i směrem nahoru (druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*).

Tabulka 22: Rozdíly ve výnosech u jednotlivých hodnocených druhů na pokusných lokalitách, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	38,82	125,49	0,000*
Lokalita	1	12,47	40,30	0,000*
Druh*lokalita	3	34,20	110,55	0,000*
chyba	76	0,31		

Tabulka 23: Rozdíly ve výnosech u jednotlivých hodnocených druhů na pokusných lokalitách. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 0,74.

Druh	Lokalita	Suchá píce průměr	Signifikance
<i>Lotus corniculatus</i>	Žabčice	1,36	a
<i>Trifolium pratense</i>	Žabčice	1,54	ab
<i>Trifolium pratense</i>	Troubsko	1,70	ab
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Troubsko	2,27	b
<i>Lotus corniculatus</i>	Troubsko	3,50	c
<i>Medicago sativa</i>	Troubsko	3,69	c
<i>Medicago sativa</i>	Žabčice	5,15	d
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Žabčice	6,22	e



Obrázek 27: Polní pokus v Troubsku, situace na podzim v roce zásevu (27.9.2011). © Tomáš Vymyslický



Obrázek 28: Polní pokus v Žabčicích, situace na podzim v roce zásevu (27.9.2011). © Tomáš Vymyslický

V roce 2013 byla data získána pouze z lokality Troubsko. Pokus v Žabčicích byl na podzim roku 2012 zaorán. V roce 2013, s normálními srážkami, byly výnosy blízké obvyklým ( $15\text{-}18 \text{ t.ha}^{-1}$ ) a ve srovnání s rokem 2012 byly asi dvojnásobné. Detaily viz Tabulka 24 a 25.

Tabulka 24: Vliv druhů, lokalit a výsevků na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	326,39	310,85	0,000*
Výsevek	3	12,88	12,27	0,000*
Druh*Výsevek	9	1,01	0,96	0,484
Chyba	48	1,05		

Tabulka 25: Výnosy suché píce v t.ha<sup>-1</sup> v Troubsku v roce 2013. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 1,08. Tabulka je seřazena podle dosažených výnosů.

Druh	Výsevek	Průměrný výnos suché píce
<i>Trifolium pratense</i>	50%	4,98 <sup>ab</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	100%	5,44 <sup>ab</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	200%	6,60 <sup>bc</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	100%	8,66 <sup>cde</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	50%	8,88 <sup>cde</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	200%	9,90 <sup>def</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	50%	11,58 <sup>fg</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	100%	12,58 <sup>gh</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	200%	13,56 <sup>ghi</sup>
<i>Medicago sativa</i>	100%	15,60 <sup>i</sup>
<i>Medicago sativa</i>	200%	15,96 <sup>ii</sup>
<i>Medicago sativa</i>	50%	16,50 <sup>j</sup>



Obrázek 29: Polní pokus v Troubsku, rovnoměrné obrůstání na začátku prvního užitkového roku (6.4.2012). © Tomáš Vymyslický



Obrázek 30: Polní pokus v Žabčicích, jsou patrné rozdíly v obrůstání a pokryvnosti začátku prvního užitkového roku (6.4.2012). © Tomáš Vymyslický

### Pokryvnosti hodnocených druhů

Pokryvnosti hodnocených druhů byly zaznamenány v období jarního obrůstání – na obou lokalitách 20. dubna 2012. Hodnoty pokryvností se významně lišily, a dosahovaly hodnot od 41 % do 94 %. Nejnižší pokryvnost byla pozorována u druhů *Trifolium pratense* a *Lotus corniculatus*, a to na obou lokalitách. Nejvyšší pokryvnost byla zaznamenána na obou lokalitách u druhů *Onobrychis viciifolia* a *Medicago sativa*. Na lokalitě Žabčice byla nejvyšší pokryvnost zaznamenána u druhu *Onobrychis viciifolia* u výsevků 200 % a 100 % (v obou případech 94 %) a na lokalitě Troubsko u stejněho druhu při výsevku 200 % (93 %). Druh *Onobrychis viciifolia* tvořil na písčitých půdách na lokalitě Žabčice hustší a lépe zapojený porost nežli druh *Medicago sativa*. Detailní údaje jsou uvedeny v Tabulkách 26 a 27.

V Tabulkách 28 a 29 jsou pak výsledky hodnocení rozdílů v pokryvnostech jednotlivých druhů jetelovin bez ohledu na výsevky. Nejvyšších hodnot pokryvností dosáhly druhy *Onobrychis viciifolia* a *Medicago sativa*. Statisticky významně nižších hodnot pokryvností pak dosáhly druhy *Lotus corniculatus* a *Trifolium pratense*.

V Tabulce 30 je pak výsledek analýzy vlivu výsevního množství na pokryvnost hodnocených druhů. Mezi výsevky a pokryvností nebyl nalezen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 26: Vliv hodnocených druhů, lokalit a výsevků na pokryvnost porostů jetelovin, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	8717,71	507,21	0,000*
Lokalita	1	2604,17	151,52	0,000*
Výsevek	2	82,29	4,79	0,011*
Druh*Lokalita	3	494,44	28,77	0,000*
Druh*Výsevek	6	2,08	0,12	0,994
Lokalita*Výsevek	2	82,29	4,79	0,011*
Druh*Lokalita*Výsevek	6	25,69	1,49	0,192
Chyba	72	17,19		

Tabulka 27: Pokryvnost hodnocených druhů (%). Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 2. Tabulka je seřazena podle průměrné pokryvnosti.

Žabčice			Troubsko		
Druh	Výsevek	Průměrná pokryvnost	Druh	Výsevek	Průměrná pokryvnost
<i>Trifolium pratense</i>	50%	41 <sup>a</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	100%	59 <sup>defg</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	200%	44 <sup>ab</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	50%	63 <sup>efg</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	100%	48 <sup>abc</sup>	<i>Trifolium pratense</i>	200%	65 <sup>fgh</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	50%	50 <sup>abcd</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	50%	69 <sup>gh</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	200%	53 <sup>bcd</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	100%	69 <sup>gh</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	100%	56 <sup>cdef</sup>	<i>Lotus corniculatus</i>	200%	75 <sup>hi</sup>
<i>Medicago sativa</i>	50%	81 <sup>ij</sup>	<i>Medicago sativa</i>	200%	90 <sup>jk</sup>
<i>Medicago sativa</i>	100%	85 <sup>ijk</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	100%	91 <sup>jk</sup>
<i>Medicago sativa</i>	200%	88 <sup>jk</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	50%	91 <sup>jk</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	50%	89 <sup>jk</sup>	<i>Medicago sativa</i>	100%	91 <sup>jk</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	100%	94 <sup>k</sup>	<i>Medicago sativa</i>	50%	91 <sup>jk</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	200%	94 <sup>k</sup>	<i>Onobrychis viciifolia</i>	200%	93 <sup>k</sup>

Tabulka 28: Rozdíly v pokryvnostech jednotlivých druhů jetelovin bez ohledu na výsevek, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	8717,7	137,79	0,000*
Chyba	92	63,3		

Tabulka 29: Rozdíly v pokryvnostech jednotlivých druhů (%) jetelovin bez ohledu na výsevky. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 8,2.

Druh	Průměrná pokryvnost	Signifikance
<i>Trifolium pratense</i>	53,1	a
<i>Lotus corniculatus</i>	61,9	b
<i>Medicago sativa</i>	87,7	c
<i>Onobrychis viciifolia</i>	91,9	c

Tabulka 30: Vliv výsevního množství na pokryvnost hodnocených druhů (%), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Výsevní množství	2	82,29	0,24	0,787
Chyba	93	342,04		

### Korelace mezi pokryvností a výnosem píce

Korelační koeficienty mezi pokryvností a výnosem píce byly vypočítány u všech hodnocených druhů. Na hladině významnosti  $p>0,05$  nebyly nalezeny žádné statisticky významné korelace. Detaily viz Tabulka 31.

Tabulka 31: Korelační koeficienty mezi pokryvností a výnosem píce hodnocených druhů. Průkaznost koeficientů byla počítána na hladině významnosti  $p>0,05$ .

Druh	Troubsko	Žabčice
<i>Medicago sativa</i>	0,43	0,13
<i>Trifolium pratense</i>	-0,11	0,01
<i>Onobrychis viciifolia</i>	-0,11	-0,01
<i>Lotus corniculatus</i>	-0,1	0,52



Obrázek 31: Rozdíly v pokryvnostech mezi druhy *Trifolium pratense* a *Onobrychis viciifolia* za podmínek dlouhodobého sucha, Žabčice, 20.5.2012. © Stanislav Hejduk

### 5.7. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin

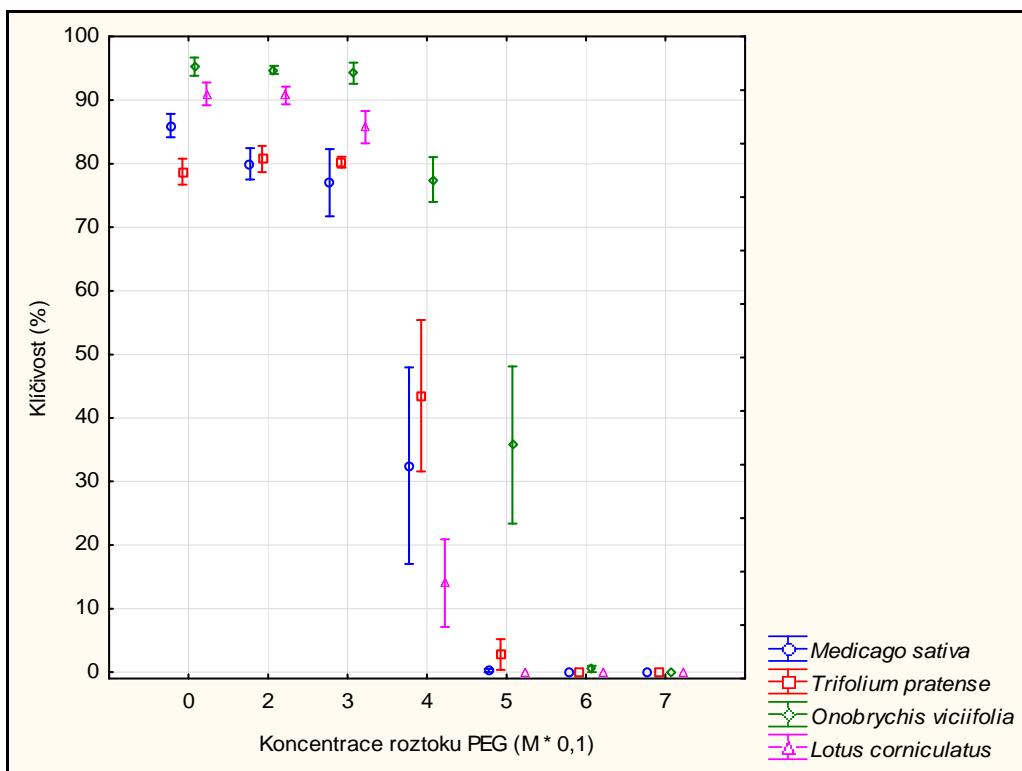
U zkoušených druhů byly zjištěny statisticky významné rozdíly v klíčivosti za různých hodnot osmotického tlaku. Koncentrace PEG vyšší než 0,3 M statisticky významně redukovaly klíčivost testovaných druhů. To odpovídá hraničnímu osmotickému tlaku o hodnotě 0,192 MPa. Koncentrace 0,7 M roztoku kompletne znemožňovala klíčení zkoušených druhů. Zvýšený osmotický tlak mírně prodlužoval dobu klíčení. Druh *Onobrychis viciifolia* byl nejvíce tolerantní ke zvýšeným hodnotám osmotického tlaku, zatímco nejméně tolerantní byl druh *Trifolium pratense*. Detaily viz Tabulka 32 a 33. Obrázek 32 graficky znázorňuje průměrné hodnoty klíčivosti a směrodatné odchylky pro testované druhy.

Tabulka 32: Vliv druhů a koncentrací PEG na klíčivost, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	3	1962,84	20,73	0,000*
Koncentrace PEG	6	27714,24	292,75	0,000*
Druh*Koncentrace PEG	18	457,36	4,83	0,000*
Chyba	84	94,67		

Tabulka 33: Klíčivosti při různých koncentracích PEG. Tabulka je seřazena podle koncentrací PEG. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 16,25. Tabulka je seřazena podle testovaných koncentrací PEG. Koncentrace 0,6 a 0,7 nejsou v tabulce uváděny, protože při nich osivo neklíčilo.

Druh	Koncentrace PEG (MOL)	Klíčivost (%)
<i>Lotus corniculatus</i>	0,5	0 <sup>a</sup>
<i>Medicago sativa</i>	0,5	0 <sup>a</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0,5	36 <sup>bc</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	0,5	3 <sup>a</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	0,4	14 <sup>ab</sup>
<i>Medicago sativa</i>	0,4	33 <sup>bc</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0,4	78 <sup>d</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	0,4	44 <sup>c</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	0,3	86 <sup>d</sup>
<i>Medicago sativa</i>	0,3	77 <sup>d</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0,3	94 <sup>d</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	0,3	80 <sup>d</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	0,2	91 <sup>d</sup>
<i>Medicago sativa</i>	0,2	80 <sup>d</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0,2	95 <sup>d</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	0,2	81 <sup>d</sup>
<i>Lotus corniculatus</i>	0	91 <sup>d</sup>
<i>Medicago sativa</i>	0	86 <sup>d</sup>
<i>Onobrychis viciifolia</i>	0	95 <sup>d</sup>
<i>Trifolium pratense</i>	0	79 <sup>d</sup>



Obrázek 32: Vliv koncentrace PEG na klíčivost u čtyř zkoušených druhů. Intervalové odhady středních hodnot ( $P = 0,95$ ) jsou označeny úsečkami.

Jak je vidět v Tabulkách 34 a 35, tak v hodnotách klíčivostí byly mezi jednotlivými koncentracemi PEG nalezeny statisticky významné rozdíly. Koncentrace 0,7 a 0,6 M se statisticky významně lišily od koncentrace 0,4 M. Tato koncentrace se dále signifikantně lišila od koncentrací 0,3 M, 0,2 M a kontroly.

Tabulka 34: Vliv koncentrací PEG na dosažené hodnoty klíčivosti bez ohledu na hodnocený druh, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P < 0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Konzentrace PEG	6	27714,2	131,83	0,000*
Chyba	105	210,2		

Tabulka 35: Vliv koncentrací PEG na dosažené hodnoty klíčivosti bez ohledu na hodnocený druh. Tabulka je seřazena podle koncentrací PEG. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 25,57.

Koncentrace PEG	Průměrná klíčivost	Signifikance
0,7	0,00	a
0,6	0,13	a
0,5	9,69	a
0,4	41,88	b
0,3	84,31	c
0,2	86,56	c
Kontrola	87,75	c

### **5.8. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin**

K dispozici jsou pouze data z roku 2010. Stejný pokus byl založen i v roce 2011. Kvůli silnému suchu na podzim roku 2011 byly parcely zavlaženy (ve dnech 27.9., 30.9. a 5.10.) pokaždé množstvím vody odpovídající 3 mm srážek. Tato zálivka nedostačovala na přežití semenáčků. I přes provedenou zálivku se nepodařilo na jaře nalézt zimu přeživší nebo na jaře vzcházející rostlinky. Jedním z důvodů může být, že silné sucho trvalo od září 2011 do června 2012 a druhý důvod byl ten, že se v únoru 2012 vyskytlo období silných holomrazů s teplotou vzduchu až  $-18^{\circ}\text{C}$ . To je jedním z důvodů, proč musel být druhý rok vyloučen z hodnocení.

Statisticky významné rozdíly byly nalezeny mezi počty vzešlých rostlin na metr čtvereční u testovaných druhů v jednotlivých termínech výsevu. Nejvyšší počty byly nalezeny u druhů vysetých v zářijovém termínu - *Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium pratense* a *Medicago lupulina*. Detaily viz Tabulky 36 a 37.

Tabulka 36: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na m<sup>2</sup>, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	8	876,38	10,38	0,000*
Termín výsevu	3	5669,27	67,17	0,000*
Druh*Termín výsevu	24	752,59	8,92	0,000*
Chyba	72	84,41		

Tabulka 37: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na 1 m<sup>2</sup>, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 22,04.

Druh	Měsíc výsevu	Průměrný počet rostlin na m <sup>2</sup>	Signifikance
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Listopad	1,3	a
<i>Trifolium resupinatum</i>	Říjen	1,7	a
<i>Securigera varia</i>	Listopad	2	a
<i>Medicago sativa</i>	Listopad	2,7	a
<i>Lotus corniculatus</i>	Březen	3,7	a
<i>Medicago sativa</i>	Říjen	3,7	a
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Říjen	4	a
<i>Securigera varia</i>	Březen	4	a
<i>Trifolium repens</i>	Listopad	4,3	a
<i>Trifolium pratense</i>	Říjen	5	a
<i>Securigera varia</i>	Říjen	5,7	a
<i>Lotus corniculatus</i>	Listopad	6,3	ab
<i>Trifolium repens</i>	Říjen	6,3	ab
<i>Trifolium pratense</i>	Listopad	6,7	ab
<i>Medicago lupulina</i>	Říjen	7	ab
<i>Securigera varia</i>	Září	7,3	ab
<i>Trifolium resupinatum</i>	Září	8	ab
<i>Melilotus albus</i>	Říjen	8,3	ab
<i>Melilotus albus</i>	Září	9,3	ab
<i>Medicago lupulina</i>	Listopad	9,3	ab
<i>Melilotus albus</i>	Listopad	12,3	abc
<i>Trifolium pratense</i>	Březen	15,3	abc
<i>Melilotus albus</i>	Březen	15,7	abc
<i>Lotus corniculatus</i>	Říjen	17	abc
<i>Trifolium repens</i>	Březen	19	abc
<i>Trifolium repens</i>	Září	21	abc
<i>Medicago lupulina</i>	Březen	22,7	abc
<i>Lotus corniculatus</i>	Září	23	abc
<i>Medicago sativa</i>	Březen	26,3	abc
<i>Trifolium resupinatum</i>	Březen	28,7	abc
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Březen	36,3	bcd
<i>Medicago lupulina</i>	Září	39,7	cd
<i>Trifolium pratense</i>	Září	65,3	de
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Září	65,7	de
<i>Medicago sativa</i>	Září	87,7	e

Dále byly nalezeny statisticky významné rozdíly ve vlivu termínu výsevu na počet rostlin na m<sup>2</sup> bez ohledu na hodnocený druh. Nejnižší počty byly zjištěny u listopadu a října, statisticky významně vyšší pak u března a nejvyšší počty u září. Detaily viz Tabulky 38 a 39.

Tabulka 38: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na m<sup>2</sup>, bez ohledu na hodnocený druh, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Termín výsevu	3	5669,27	18,93	0,000*
Chyba	104	299,52		

Tabulka 39: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na m<sup>2</sup>, bez ohledu na hodnocený druh, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 8,04.

Termín výsevu	Průměrný počet rostlin na m <sup>2</sup>	Signifikance
Listopad	5,1	a
Říjen	6,5	a
Březen	19,1	b
Září	36,3	c

Statisticky signifikantní rozdíly byly nalezeny i mezi počty rostlin na metr čtvereční u jednotlivých hodnocených druhů. Tyto rozdíly byly sice statisticky významné, ale velmi těsně. Tukeyho test dokonce všechny druhy zařadil do stejné skupiny. Výsledky viz Tabulky 40 a 41.

Tabulka 40: Počty rostlin na m<sup>2</sup> v závislosti na hodnoceném druhu, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	8	876,38	2,11	0,042*
Chyba	99	415,63		

Tabulka 41: Počty rostlin na m<sup>2</sup> v závislosti na hodnoceném druhu, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 6,85.

Druh	Počet rostlin na m <sup>2</sup>	Signifikance
<i>Securigera varia</i>	4,8	a
<i>Trifolium resupinatum</i>	9,8	a
<i>Melilotus albus</i>	11,4	a
<i>Lotus corniculatus</i>	12,5	a
<i>Trifolium repens</i>	12,7	a
<i>Medicago lupulina</i>	19,7	b
<i>Trifolium pratense</i>	23,1	b
<i>Onobrychis viciifolia</i>	26,8	b
<i>Medicago sativa</i>	30,1	b

Dalším hodnoceným parametrem u hodnocených druhů byla fenologická fáze (BBCH). Zde byly opět nalezeny statisticky významné rozdíly mezi jak mezi

hodnocenými druhy, tak i mezi termíny výsevu. Výsledky jsou prezentovány v Tabulkách 42 a 43.

Tabulka 42: Vliv termínu výsevu na fenologickou fázi (BBCH stupnice), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	8	626,69	18,22	0,000*
Termín výsevu	3	3359,47	97,66	0,000*
Druh*Termín výsevu	24	320,60	9,32	0,000*
Chyba	72	34,40		

Tabulka 43: Vliv termínů výsevu na fenologickou fázi (BBCH stupnice) u testovaných druhů, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17.

Druh	Měsíc výsevu	BBCH fáze	Signifikance
<i>Trifolium resupinatum</i>	Listopad	11	a
<i>Securigera varia</i>	Září	13	ab
<i>Securigera varia</i>	Březen	13	ab
<i>Lotus corniculatus</i>	Říjen	15	abc
<i>Medicago sativa</i>	Říjen	16	abc
<i>Securigera varia</i>	Listopad	17	abc
<i>Trifolium pratense</i>	Listopad	19	abc
<i>Medicago sativa</i>	Listopad	20	abc
<i>Lotus corniculatus</i>	Březen	21	abc
<i>Lotus corniculatus</i>	Listopad	21	abc
<i>Trifolium pratense</i>	Březen	22	abc
<i>Trifolium repens</i>	Říjen	22	abc
<i>Trifolium repens</i>	Březen	23	abc
<i>Medicago lupulina</i>	Březen	23	abc
<i>Securigera varia</i>	Říjen	24	abc
<i>Trifolium repens</i>	Listopad	24	abc
<i>Medicago lupulina</i>	Listopad	24	abc
<i>Medicago lupulina</i>	Říjen	24	abc
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Listopad	24	abc
<i>Trifolium resupinatum</i>	Březen	26	abc
<i>Trifolium pratense</i>	Říjen	26	abc
<i>Trifolium resupinatum</i>	Říjen	31	bc
<i>Melilotus albus</i>	Březen	32	bcd
<i>Melilotus albus</i>	Listopad	32	bcd
<i>Melilotus albus</i>	Říjen	32	bcd
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Březen	32	bcd
<i>Medicago sativa</i>	Březen	32	bcd
<i>Melilotus albus</i>	Září	33	cd
<i>Lotus corniculatus</i>	Září	33	cd
<i>Medicago sativa</i>	Září	33	cd
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Říjen	51	de
<i>Trifolium resupinatum</i>	Září	59	e
<i>Trifolium pratense</i>	Září	59	e
<i>Onobrychis viciifolia</i>	Září	59	e
<i>Trifolium repens</i>	Září	62	e
<i>Medicago lupulina</i>	Září	65	e

Byl vyhodnocen i vliv měsíce výsevu na vegetativní fázi BBCH. Zde byly dosaženy nejvyšší hodnoty BBCH fází u zářijového termínu výsevu, ostatní termíny výsevu se pak od sebe signifikantně nelišily. Detaily jsou prezentovány v Tabulkách 44 a 45.

Tabulka 44: Vliv měsíce výsevu na vegetativní fázi (BBCH stupnice), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
BBCH fáze	3	3359,47	23,01	0,000*
Chyba	104	146,01		

Tabulka 45: Vliv měsíce výsevu na vegetativní fázi (BBCH stupnice), datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17.

Termín výsevu	BBCH fáze průměr	Signifikance
Listopad	21	a
Březen	25	a
Říjen	27	a
Září	46	b

Vegetativní fáze (BBCH) byla nejpokročilejší u zářijového termínu výsevu u druhů *Onobrychis viciifolia*, *Medicago lupulina* a *Trifolium repens*. Nejméně vyvinuté rostliny byly v případě listopadového termínu výsevu a druhu *Trifolium resupinatum*. Detaily jsou prezentovány v Tabulkách 46 a 47.

Tabulka 46: Rozdíly ve vegetativních fázích (BBCH stupnice) u jednotlivých hodnocených druhů, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	8	626,69	3,06	0,004*
Chyba	99	204,54		

Tabulka 47: Rozdíly ve vegetativních fázích (BBCH stupnice) u jednotlivých hodnocených druhů, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17.

Druh	BBCH fáze průměr	Signifikance
<i>Securigera varia</i>	17	a
<i>Lotus corniculatus</i>	23	a
<i>Medicago sativa</i>	25	ab
<i>Trifolium pratense</i>	32	ab
<i>Trifolium resupinatum</i>	32	ab
<i>Melilotus albus</i>	32	ab
<i>Trifolium repens</i>	33	ab
<i>Medicago lupulina</i>	34	ab
<i>Onobrychis viciifolia</i>	42	b

Navzdory výrazně odlišným průměrným výnosům zkoušených druhů nebyly nalezené rozdíly ve výnosech suché píce mezi druhy a termíny výsevu statisticky významné. Výnosy suché píce byly velmi variabilní i mezi opakováními, absolutní hodnoty se pohybovaly od několika desítek kilogramů až po 15,2 tuny z hektaru. Nejvyšší výnosy byly zjištěny u zářijových termínů výsevu. Mezi zkoušenými druhy poskytly nejvyšší výnosy druhy *Trifolium resupinatum*, *Onobrychis viciifolia*, *Medicago lupulina*, *Trifolium pratense* a *Trifolium repens*. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 48.

Tabulka 48: Vliv termínu výsevu na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05.

Zdroj variability	DF	MS	F	p
Druh	8	7,96	1,36	0,23
Termín výsevu	3	10,68	1,82	0,15
Druh*Termín výsevu	24	6,43	1,10	0,37
Chyba	72	5,87		

## **6. DISKUZE**

### **6.1. Morfologické hodnocení genetických zdrojů, sestavení core kolekcí, jejich zhodnocení a význam**

Hypotéza, že na základě vyhodnocení souboru morfologických, fytopatologických, fyziologických a geneticko-molekulárních znaků shlukovou analýzou lze efektivně vybrat zástupce do core kolekce tak, abychom významně redukovali původní velký počet položek a zároveň maximálně zachovali diverzitu obsaženou v genofondových kolekcích druhů *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Medicago sativa* byla potvrzena. U položek vybraných do core kolekcí bylo následně provedeno kontrolní shlukování, které ve všech případech ukázalo podobné rozložení a variabilitu, jako vstupní soubory.

Během morfologického hodnocení genetických zdrojů byly individuální výsadby v letech 2005-2007 negativně ovlivňovány průběhem počasí. Pokud se týká teploty, z celkového počtu 36 měsíců, byla u 21 měsíců průměrná teplota vyšší nežli dlouhodobý průměr za období let 1990-2015. Naopak, u 14 měsíců byla průměrná teplota nižší než dlouhodobý průměr. Ve všech letech byla průměrná roční teplota vyšší nežli dlouhodobé teplotní normály. Rostliny jsou nejvíce negativně ovlivňovány zejména vysokými teplotami nad 30 °C v kombinaci se suchem.

Důležitým faktorem je také rozložení srážek během roku. V květnu, červnu a červenci převažovala suchá období. V červnu, což je velice důležitý měsíc z hlediska růstu a vývoje rostlin, byl vždy měsíční úhrn srážek nižší, nežli dlouhodobý průměr. Na druhé straně, zimní měsíce měly vyšší srážkové úhrny. Roční průměry byly v roce 2006 vyšší a v letech 2005 a zejména 2007 nižší ve srovnání s dlouhodobým průměrem. Rozdíly mezi jednotlivými roky nebyly signifikantní. Sucho vegetační sezóny roku 2007 signifikantně ovlivnilo porosty a výnosy testovaných druhů a položek, zejména u druhu *Trifolium repens*, v jiných letech vliv sucha nebyl již tak výrazný. Rostliny byly celkově nižší, s kratšími stolony a drobnějšími listy, docházelo k zasychání kvetenství. V některých případech došlo i k zaschnutí listů a jetel plazivý tak přešel do letní dormance. Díky porovnávání morfologických znaků s kontrolními odrůdami a přepočtu výnosů na procenta kontroly došlo k eliminaci vlivu prostředí na morfologii a výnosy hodnocených původů.

Jedním z hlavních výsledků shlukové analýzy založené na morfologických znacích je to, že jsme v našich genových kolekcích nenalezli žádné duplicity. Pouze morfologické znaky se ale projevily jako nedostatečné k odlišení vnitrodruhových taxonů i ploidních úrovní. Konkrétně byly nedostatečné k odlišení třech hlavních forem druhu *Trifolium repens*. To je nejpravděpodobněji zapříčiněno faktem, že taxonomické a morfologické rozdíly mezi odrůdami jsou minimalizovány díky intenzivnímu šlechtění, využívajícím různé ekotypy, formy a morfotypy, které se vyskytují v rámci druhu *Trifolium repens*.

V rámci druhu *Trifolium hybridum* je zajímavé zmínit pozici dvou českých odrůd, Oderský a Pooderský. Položka Oderský je stará restringovaná odrůda a odrůda Pooderský je nově odrůda povolená od roku 2008, která byla vytvořena přešlechtěním odrůdy Oderský během udržovacího šlechtění. Proto by se dalo předpokládat, že tyto materiály budou blízko sebe. Toto se ve skutečnosti nestalo. Přešlechtění tedy přineslo významné vylepšení ve výnosových (výnos zelené hmoty a suché píce, počet lodyh) a v kvalitativních (obsah dusíkatých látek, stravitelných dusíkatých látek a tuků) charakteristikách, které byly při hodnocení zaznamenány.

V rámci shlukové analýzy různých původů vojtěšek se shlukovou analýzou poměrně dobře odlišily původy řazené k hybridnímu taxonu *Medicago x varia*. Dále byla odlišena i jediná přítomná odrůda náležející k taxonu *Medicago falcata*. Jak již bylo zmiňováno v úvodních kapitolách, tak okruh *Medicago sativa* je velice komplikovaný. Taxony v rámci okruhu *Medicago sativa* mají stejný areál, taxony o stejně ploidní úrovni se často a snadno kříží. Ploidní bariéra je relativně slabá kvůli časté redukci gamet, přispívající významnou měrou k velké diverzitě, kterou můžeme pozorovat v tomto komplexu (Kaljund & Leht, 2013).

U méně intenzivně prošlechtěného druhu *Lotus corniculatus* jsou na základě našich hodnocení a provedené shlukové analýzy plané formy cennými zdroji vlastností pro šlechtění, jako například lepší vytrvalost, větší odolnost k chorobám a škůdcům či zpožděné pukání lusků, což je důležitý znak z hlediska semenářské produkce tohoto druhu.

Shluková analýza morfologických dat u druhu *Trifolium pratense* nevedla k nalezení statisticky významný rozdíl v morfologii mezi diploidními a tetraploidními položkami zařazených v core kolekci. Některé odlišnosti však zaznamenány byly. Ve srovnání s diploidy, mají tetraploidní položky více ochlupené děložní lístky, větší děložní lístky, tlustší lodyhy, širší terminální lístky, vyšší hmotnost semen, a nižší

zimovzdornost (nižší % rostlin přeživších zimní období). Některé výše zmíněné korelace ploidní úrovně a morfologických znaků jsou z literatury známy, zejména se jedná o korelaci ploidní úrovně a hmotnosti semen, která je známá u mnoha druhů. Bretagnolle & al. (1995) publikoval na případu diploidních a tetraploidních rostlin druhu *Dactylis glomerata* vliv velikosti semen a ploidní úrovně na klíčivost semen a růst semenáčků.

Nedostatečné oddělení 2n a 4n původů může být způsobeno faktem, že 4n původy byly syntetizovány z diploidních položek za použití kolchicinu. To je odpověď na otázku proč core kolekce byla sestavena jak pro diploidy tak i pro tetraploidy společně. Finální poměr 2n a 4n položek je podobný jak v původní kolekci (52 ku 48 %), tak i v core kolekci (44 ku 56 %).

Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense*, založený na morfologických datech, rozdělil položky do 7 shluků, zatímco dendrogram založený na molekulárních datech, rozdělil položky do 13 shluků. Odrůdy ze stejné země nebyly společně ve shlucích, takže můžeme konstatovat, že core kolekce dobře koresponduje s existující diverzitou v rámci druhu *Trifolium pratense*. Co se týká molekulárních dat, našli jsme dvě odlehlé položky – odrůdu Kirsinai a původ TROU 143/1995 (planá forma získaná sběrem v přírodě v České republice). Tato planá forma je zajímavá i tím, že měla nejnižší četnost výskytu BYMV, takže ji lze považovat za slibný materiál pro využití ve šlechtitelských programech.

Ve výzkumu core kolekce jetele lučního nebyly nalezeny statisticky významné korelace mezi rozložením variability morfologických a molekulárních dat. Stejně výsledky byly zdokumentovány u mnoha jiných plodin (například Bruschi & al., 2003 – *Quercus petraea*; Martinez & al., 2003 – *Vitis vinifera*, Greene & al., 2004 – *Trifolium pratense*, Zhang & al., 2010 – *Trifolium repens*). Royo & Itoiz (2004) předpokládají, že existuje několik důvodů pro nízkou shodu mezi klasifikacemi založenými na morfologických a molekulárních datech. Obecně genetická regulace jednoho nebo druhého markeru je různá a fenotypická exprese je podmíněna zdravotním stavem a fenofází rostliny, agrotechnikou a podmínkami prostředí. Výsledkem je, že hypotéza „Výsledky klasifikace core kolekce druhu *Trifolium pratense* založené na morfologických a molekulárních datech jsou korelovány“ nebyla potvrzena.

Položky u core kolekce mohou být využity jakožto vstupní materiály pro šlechtění. Kombinace odolnosti k několika patogenům může být pro šlechtitele velmi výhodná, ale bohužel v naší core kolekci jsme nenalezli položky s kombinovanou

odolností k *Fusarium* spp. a BYMV. Autoři Nedělník & Pokorný (1992) také ve svém výzkumu souboru položek jetele lučního nenalezli žádnou korelaci mezi rezistencí k BYMV a *Fusarium* spp. Během posledních dvaceti let se mnoho autorů věnovalo studiu kořenových hnilob u druhu *Trifolium pratense* (Rufelt, 1985; Skipp & al., 1986; Nedělník, 1993; Venuto & al., 1995). Ochrana proti této chorobě je obtížná. To je také příčinou velkého zájmu o nalezení rezistentních materiálů u druhu *Trifolium pratense*. Podobně je tomu i u BYMV. Této problematice se v devadesátých letech věnovali autoři Nedělník & Pokorný (1992) a Pokorný & al. (2003).

Hlavním šlechtitelským cílem zůstávají u druhu *Trifolium pratense* výnosy píce. Diploidní odrůdy jetele lučního se pěstovaly nejvíce v první polovině dvacátého století, od sedesátých let se začaly rozšiřovat tetraploidní odrůdy a nyní jsou diploidní odrůdy opět více pěstovány, protože jejich osivo je levnější a mají vyšší podíl sušiny v píci, což je významné pro jejich snadnější konzervaci (Hejduk & Knot, 2010). Diploidní odrůdy mají menší buňky a také nižší obsah vody v rostlinách, což je výhodné pro konzervaci píce. V rámci naší core kolekce byly nejvyšší výnosy zelené hmoty zjištěny u odrůd Sara - SWE (4n) a Vendelin - CZE (2n). Obecně jsou výnosy zelené hmoty, ale i semen, závislé nejen na ploidní úrovni, ale hlavně na počasí v daném roce.

Diploidní odrůdy jsou lepší pro extrémní podmínky (mají lepší odolnost vůči mrazu), pro organické zemědělství a pro druhově bohaté směsi. Tetraploidní odrůdy byly u nás šlechtěny zejména pro plynulý pás produkce zelené píce (používal se do poloviny 90. let minulého století). Ve střední Evropě a v České republice je optimum pro pěstování druhu *Trifolium pratense* spíše ve vyšších polohách a v horách, kde je více humidní klima. Jetel luční není vhodný pro pěstování v teplých a suchých oblastech. Problémem je také omezená vytrvalost jetele lučního, pokud ho používáme do směsí pro dočasné a trvalé travní porosty (Hejduk, 2006).

V devadesátých letech započala v České republice diverzifikace odrůd. Obvykle v každé zemi převažují odrůdy domácího původu. V České republice měly u jetele lučního nejvíce semenářských ploch odrůdy Start (diploidní odrůda), dále pak Suez a Tempus (tetraploidní odrůdy). U vojtěšky měly největší výměru semenářských ploch odrůdy Palava, Jarka a Holyna. U jetele plazivého pak měly největší plochy odrůdy Jura, Fantastico a Vysočan (ÚKZUZ 2014).

## **6.2. Vliv různých výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin**

Hypotéza, že zvýšení či snížení výsevku ovlivňuje zápoj porostů i výnosy píce u různých druhů jetelovin v suchých podmínkách, nebyla potvrzena. Nejlepší výsledky byly dokonce dosaženy u snížených výsevků. Tyto výsledky poskytují důkaz o tom, že použití snížených výsevků přináší výhody dokonce i v oblastech, kde je limitovaná půdní zásoba vláhy. Výnosy suché píce zjištěné v roce 2012 u testovaných druhů na dvou pokusných lokalitách se významně lišily. Hlavními důvody byly odlišný průběh počasí, půdní podmínky a také různý počet sečí. Snížené výsevky (50 %) u druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* poskytly lepší výnosy ve srovnání se standardními výsevkami v suché oblasti v Žabčicích. Druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* jsou doporučovány pro použití v teplých a suchých podmínkách Evropy s hlubokými půdami. Druh *Onobrychis viciifolia* je doporučován pro písčité a kamenité půdy, kde dosahuje lepších výnosů než druh *Medicago sativa* (Carbonero & al., 2011). To bylo potvrzeno i v našich pokusech. Na úrodnějších půdách v Troubsku poskytl druh *Medicago sativa* statisticky významně vyšší výnosy než druh *Onobrychis viciifolia*, ale nebyl zde nalezen vliv výsevku na velikost výnosů. Vyšší výnosy na lokalitě Žabčice mohou být způsobeny nižším počtem sečí za rok. Častější seče snižují celkový výnos píce. Pokus v Žabčicích byl sklizen pouze třikrát, ale v Troubsku čtyřikrát. Tento rozdíl byl dán pomalejším obrůstáním porostů po sečích ve vrcholném létě, kdy byly projevy sucha na lokalitě Žabčice s písčitými půdami největší. Naopak lehké a propustné půdy umožnily větší prohřívání půdy, rychlejší růst a tím i vyšší výnosy v jarním a podzimním období (zřetelné rozdíly viz Obrázek 29 a 30). Rozložení výnosů z jednotlivých sečí bylo bez extrémních výkyvů a odpovídalo hodnotám, které jsou obvyklé na obou lokalitách.

Pokud srovnáme nejvyšší výnos vojtěšky v pokusech ( $8 \text{ t.ha}^{-1}$  na lokalitě Troubsko a  $14 \text{ t.ha}^{-1}$  na lokalitě Žabčice), tak je patrné, že v Žabčicích bylo dosaženo téměř dvojnásobného maximálního výnosu nežli v Troubsku. Může to být způsobeno faktem, že v Žabčicích nebyla před založením pokusu pěstována žádná plodina, ale byl zde udržován úhor. Tento úhor mohl zvýšit obsah dostupné vody a živin v půdě a tím zvýšit výnosy vojtěšky na této lokalitě. Pozitivní efekt úhoru, který předcházel pokusu, byl silnější než efekt těžkých, vododržných půd na lokalitě Troubsko, kde jsou obecně lepší podmínky pro růst rostlin v případě sucha. Na druhé straně, pokud je srážkově normální období, jsou těžké půdy lokality Troubsko utužené a trpí nedostatkem vzduchu, což

způsobuje horší růst a nižší výnosy pěstovaných plodin ve srovnání s půdami písčitými. Výnosy suché píce získané v roce 2012 u testovaných druhů na dvou pokusných lokalitách se významně lišily. Hlavními důvody byly odlišný průběh počasí, půdní podmínky a také různý počet sečí.

Je potřeba zmínit, že v roce 2013 bylo dosaženo ve stejném pokuse v Troubsku maximálního výnosu suché píce u vojtěšky ve výši  $16,5 \text{ t.ha}^{-1}$ . Bohužel, není možné srovnání s lokalitou Žabčice, kde byl pokus zaorán na podzim roku 2012. Na šlechtitelské stanici Želešice, která se nachází asi 15 km od Troubska i Žabčic, dosahují za dobrých klimatických výnosy vojtěšky  $21 \text{ t.ha}^{-1}$  (Pelikán, ústní sdělení, nepublikovaná data).

Ačkoliv sucho snižuje výnosy biomasy u všech druhů, vojtěška má nejvyšší výnosový potenciál za předpokladu dostatečně hlubokého půdního profilu (Peterson & al., 1992). Na písčitých půdách pak vojtěšku ve výnosech překonává vičenec. Peterson & al. (1992) studoval vliv sucha na výnosy a kvalitu biomasy vytrvalých leguminóz. Autoři zjistili, že za suchých podmínek byly průměrné výnosy vojtěšky o 20 % vyšší než výnosy druhů *Lotus corniculatus* a *Astragalus cicer*, a dokonce o 65 % vyšší, nežli výnosy druhu *Trifolium pratense*.

Polní vzcházivost je závislá na aktuálních podmírkách prostředí, zejména na teplotě (Sakanoue, 2010) a půdní vlhkosti (Wang & al., 1996). Významné rozdíly v hustotě porostů v prvním užitkovém roce byly způsobeny rozdílnou vzcházivostí v roce výsevu a různou mírou přežití období sucha. Velmi suché období po výsevu, které mělo za následek nízkou půdní vlhkost, způsobilo špatné zapojení porostů v roce výsevu (2011). Po suchém roce 2011 následovala nezvykle suchá zima 2011/2012. Jestliže porovnáme měsíční průměry s dlouhodobými průměry (viz Tabulka 9), úhrn srážek v období IX.2011 - VIII.2012 dosáhl 357,1 mm (73 %) v Žabčicích a 339,4 mm (66 %) v Troubsku. Úhrn srážek v období prosinec 2011 - květen 2012 dosáhl v Žabčicích pouze 93 mm (49 % průměru) a v Troubsku 86 mm (44% průměru). Sucho v dubnu a v květnu prvního užitkového roku opozdilo termíny sklizní a tak došlo ke snížení počtu sečí (lokalita Žabčice) a výnosů (obě lokality).

Druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* poskytly v suchých podmírkách průkazně vyšší výnosy suché píce, nežli druhy *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia*. Tolerance druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* k suchu z pohledu výnosů biomasy je podstatně vyšší nežli u druhů *Lotus corniculatus* a *Trifolium pratense*. Dobré výsledky druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* byly potvrzeny i jinými autory.

Tyto výsledky jsou spojené s hlubším kořenovým systémem a se schopností absorbovat méně dostupnou vodu z půdy i v časných fázích ontogeneze (Hall & al., 2004; Chloupek, 1982).

Redukované výsevky vedou k založení řídších porostů, které mohou za sucha poskytovat vyšší výnosy píce nežli husté porosty (viz Tabulka 18). Řídké porosty jsou tolerantnější k suchu, protože jednotlivé rostliny mají sníženou kompetici o vodu. To má za následek silnější rostliny s hlouběji rostoucími kořeny, které mohou absorbovat dostatek vody potřebné pro přežití sucha a zároveň poskytnou dostatečný výnos píce. U suchovzdorných druhů je zaznamenáván vyšší počet lodyh. Naproti tomu jsou v hustých porostech jednotlivé rostliny slabší a nejsou schopny vytvořit dostatečně mohutný a hluboký kořenový systém. Rostliny v hustých porostech využívají významný podíl svých asimilátů ke kompetici se sousedními rostlinami. Toto bylo potvrzeno v několika studiích (Annicchiarico, 2007a; Annicchiarico & al., 2013). Rostliny v hustých porostech jsou také častěji a více napadány chorobami a škůdci (Pang & al., 2011).



Obrázek 33: Rozdíly mezi druhy *Medicago sativa* a *Trifolium pratense* za podmínek velkého sucha, Žabčice, 20.5.2012. © Stanislav Hejduk

Doporučované výsevky jsou obvykle vyšší, nežli je nezbytně nutné pro úspěšné založení porostu. Na lokalitě Troubsko bylo zjištěno, že dokonce 1,75 milionu klíčivých semen (25 % standardního výsevku) umožňuje založení dostatečně hustého porostu, který poskytuje stejný výnos, jako plný výsevek (průměrné výnosy ve srovnání se 100% výsevkem – *Trifolium pratense* 109 %, *Onobrychis viciifolia* 118 %, *Lotus corniculatus* 96 % a *Medicago sativa* 93 %). Tato skutečnost může být vysvětlena díky rozvoji hlubokých a silných kořenů, které mohou využít zdroje půdní vláhy v hlubších vrstvách nebo dokonce zdroje podzemní vody. Při kalkulaci výsevků jetelovin je nutno zohlednit podíl tvrdých semen. V tomto pokuse to bylo do 10 % (stanovení vlastními testy klíčivosti). Tento poměr může být mnohem vyšší v závislosti na druhu a sklizňovém roku.

Porovnáním výnosů píce z porostů založených různými výsevky můžeme konstatovat, že nebyly shledány statisticky významné rozdíly v intervalu 25-200 % standardního výsevku. Úspěšnost založení porostu je ovlivňována zejména počasím v době po zasetí, zejména množstvím a distribucí srážek, teplotou, vlhkostí vzduchu, větrem a také iniciální hodnotou půdní vlhkosti. Velmi důležitou roli hraje důkladné a jemné zpracování půdy a uválení před setím; dostatečné utužení půdy po zasetí, jež umožní kapilární zdvih vody (Málek & Slavík, 1983). U jetelovin se v agrotechnické praxi častěji uplatňuje zakládání porostů podsevem do krycích plodin. Vhodné je setí

jetelovin kolmo na řádky krycí plodiny (Rotrek & Babinec, 2006). Podsev do krycí plodiny má pozitivní vliv především v méně příznivých podmínkách pěstování, ovšem nikoliv za velkého sucha, kdy vzájemná kompetice jeteloviny krycí plodiny působí negativně na porosty a jejich zápoj (Procházka & al., 1985).

U jetelovin se v podmínkách jižní Moravy osvědčily nejčastěji meziřádkové rozteče 12,5 cm pro založení porostů na pícní využití a 25 cm pro semenářské využití (Málek, 1985). Semenářské porosty se zakládají s využitím 50% výsevku. Řidší pícní porosty lze pak s úspěchem použít pro semenářskou produkci. Rostliny v řidších porostech vytvářely v pokusech s vojtěškou asi o 20 % více lodyh. Výnosy píce byly při použití polovičního výsevku a řádkové rozteče 25 cm u porostů bez limitace nedostatkem vody v prvním užitkovém roce o 13 % nižší a ve druhém užitkovém roce o 21 % nižší (Málek, 1985).

Praktické doporučení je použít nižší výsevky i v aridních podmínkách, a to proto, že porosty poskytnou stejnou produkci píce při snížených nákladech na osivo. Zvýšené výsevky vedou k lineárnímu nárůstu počtu rostlin na jednotku plochy. Vyšší hustoty rostlin vedou až k osmkrát vyšší mortalitě rostlin během prvního užitkového roku ve srovnání s nižšími hustotami rostlin (Hall & al., 2004). Skinner (2005) uvádí, že vysoké výsevky vedou ke zvýšení pokryvnosti půdy v časných fázích, ale na druhé straně vedou ke zvýšené mortalitě juvenilních rostlin v prvních dvou měsících po zasetí.

Tyto výše diskutované aspekty mohou být vysvětlením toho, že nebyl nalezen vztah mezi výší výsevků a výnosy.

### **6.3. Vliv zvýšeného osmotického tlaku na klíčivost semen vybraných druhů jetelovin**

Z důvodu statisticky významných rozdílů v zapojení porostů, pokryvnostech a výnosech v pokusech sledujících vliv různých výsevních množství na výnosy vybraných druhů jetelovin, bylo přikročeno k testování klíčivosti semen za podmínek uměle zvýšeného osmotického tlaku. Pokus s klíčivostí semen jetelovin a různých koncentrací roztoku polyethylenglykolu (PEG) pomohl najít tolerantní druhy jetelovin ke zvýšenému osmotickému tlaku ve fázi klíčení. Hypotéza, že druhově významné rozdíly ve vzcházení, v zápoji porostů i ve výnosech jsou korelovány s klíčivostí za zvýšeného osmotického tlaku, jakožto nepřímého indikátoru schopnosti rostlin lépe tolerovat nedostatek vody byla potvrzena.

PEG koncentrace, které limitují klíčivost, se u každého druhu liší. Druhy pocházející z aridních oblastí mají obecně vyšší toleranci ke zvýšeným hodnotám osmotického tlaku. Liu & al. (2013) studovali vliv zvýšených hodnot osmotického tlaku na klíčivost pěti druhů jetelovin. Autoři zjistili, že nízké koncentrace PEG mohou dokonce zvýšit klíčivost ve srovnání s čistou vodou. Toto zjištění bylo nejmarkantnější u druhu *Medicago sativa* (Liu & al., 2013).

Klíčivost statisticky významně klesá, pokud použijeme roztok PEG o vyšší koncentraci. Souza & al. (2012) zjistili statisticky významný negativní efekt na klíčivost druhů *Medicago sativa* a *Dolichos lablab* při snížených hodnotách osmotického tlaku na -0,6 MPa. Noorbakhshian & al. (2011) studovali vliv PEG na klíčivost druhu *Onobrychis viciifolia*. Potvrdili pokles klíčivosti při snížení osmotického tlaku na -0,45 MPa. Djilianov & al. (2003) použili roztok PEG při šlechtění jakožto selekční kritérium. Takto získali šlechtitelské materiály druhu *Medicago sativa*, tolerantní k zasolení, které byly vyselektovány za zvýšeného osmotického tlaku.

Grzesiak & al. (1996) studovali vliv mannitolu na semena druhů čeledi *Fabaceae* a našli signifikantní negativní vliv snížených osmotických potenciálů (-0,3 a -0,6) na klíčivost semen. Nejvíce tolerantní druhy leguminóz byly polní fazol a sója.

#### **6.4. Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházivost a výnos vybraných druhů jetelovin**

Hypotéza, že netradiční termíny výsevu (září, říjen a listopad) v suchém a teplém klimatu umožní lepší založení a zapojení porostu u vybraných druhů jetelovin ve srovnání se standardními jarními termíny výsevu nebyla potvrzena.

Pouze zářijový termín výsevu vedl u druhů *Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia* a *Trifolium pratense* k dostatečným počtům rostlin na jednotku plochy (Málek & Slavík, 1978). Co se týká počtu rostlin na plochu, tak ani březnový termín výsevu nepřekonal zářijový termín. Přitom by se dalo očekávat, že počty na podzim vzejítých rostlin budou redukovány zvýšenou mortalitou v zimním období. Toto se nestalo, a nízké počty rostlin z březnového termínu výsevu se dají vysvětlit výrazným suchem v jarním období, které následovalo po výsevu pokusu a mírnou zimou, která zabránila vyšší mortalitě mladých rostlin z podzimních termínů výsevu.

Nejnižší počet rostlin na plochu byl zjištěn u druhu *Trifolium resupinatum* z listopadového a říjnového termínu výsevu. Protože má tento druh původ v mediteránní

oblasti (Kubát, 1995), lze nízkou míru přežití zimního období vysvětlit nedostatečnou tolerancí k nízkým teplotám.

Podobně, jako v případě počtu rostlin na plochu, i v případě pokročilosti vegetativní fáze, měl druh *Trifolium resupinatum* statisticky významně nižší pokročilost vegetativní fáze ve srovnání s ostatními druhy. Pomalý vývoj tohoto druhu mohlo mít za následek chladné zimní počasí ve srovnání s mediteránní oblastí, odkud tento druh pochází, s výrazně teplejšími a vlhčími zimami ve srovnání se střední Evropou.

Pouze zářijové termíny výsevu poskytly v následujícím roce produkci suché píce blížící se běžným výnosům dosahovaným v zemědělské praxi. Podobná zjištění uvádějí i Málek & Slavík (1978). Vysoké výnosy píce byly dosaženy pouze u několika druhů, jako například *Trifolium resupinatum*, *Medicago lupulina*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium pratense* a *Trifolium repens*. Na druhé straně u druhu *Trifolium resupinatum* a listopadového, respektive říjnového termínu výsevu byly výnosy takřka nulové. Opět se potvrdilo, že tyto pozdní výsevy v chladném období nejsou vhodné pro zakládání porostů testovaných druhů jetelovin.

Podobné výsledky získali autoři Ambruz & Hejduk (2011). Ti studovali úspěšnost postupných podzimních termínů výsevu trávníkových odrůd trav a leguminóz. Podle jejich výsledků může být listopadový termín v řepařské oblasti (při mírném průběhu zimního období) ještě vhodný pro zakládání porostů některých druhů trav (kostřava červená, jílek vytrvalý), ale ne leguminóz.

Dostupnost vody, doba slunečního záření a teplota jsou považovány za nejdůležitější faktory ovlivňující vývin semenáčků. Nízké teploty seťového lůžka prodlužují období vzcházení a redukují rychlosť následného růstu (Larsen & Bibby, 2005). Nízké teploty vzduchu a půdy v kombinaci s krátkými dny prodlužují dobu vzcházení (Larcher, 2003). Skinner (2005) zjistil, že polní vzcházivost u vybraných trav a jetelovin závisí pouze z 20 až 41 % na teplotě a půdní vlhkosti. Výskyt stresových faktorů během vzcházení a počátečního růstu semenáčků zvyšuje podíl mezer v porostu. Mezery v porostu statisticky významně zvyšují výskyt plevelů a míru zaplevelení.

Pozitivní efekt podzimních termínů výsevu ve srovnání s jarními termíny v oblastech kontinentálního klimatu je zmiňován mnoha autory u různých plodin: *Vicia sativa* (Aydogdu & Acikgoz, 1995), *Medicago sativa* a *Trifolium repens* ve směsích a použití různých výsevků (Al-Suhaibani, 2010). Autoři Maslinkov & al. (1980) zmiňují pro druh *Medicago sativa* a podzimní výsevy v kontinentálním klimatu Bulharska nízké výsevky, dokonce v rozmezí  $2\text{--}8 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

Podzimní termíny výsevu umožňují lepší polní vzcházivost (ve srovnání s pozdně jarními termíny) díky nižším teplotám, výrazně nižšímu výparu a menším denním amplitudám v teplotě povrchu půdy. Na druhé straně mohou být tyto termíny riskantní v případě časného nástupu nízkých teplot a výskytu následné tuhé zimy s holomrazy. To se stalo právě v sezóně 2011-2012 v regionu jižní Moravy a způsobilo to vážné poškození většiny ozimých plodin, jak na příkladu Žabčic na jižní Moravě popisuje Truhlářová & al. (2012). Abychom se vyhnuli anebo abychom omezili tato poškození, lze doporučit u jetelovin pouze termín výsevu nejpozději v první polovině září. Zde však může být vzcházení a počáteční vývin semenáčků limitován suchem.

Listopad není vhodným měsícem pro výsev leguminóz a to ani v letech s mírným, oceánickým průběhem zimního období. Zářijový termín je jistý z hlediska dostatečného rozvoje rostlin, které by měly před trvalým nástupem zimních mrazů mít vyvinuty alespoň čtyři pravé lístky a dostatečně rozvinutý kořenový systém tak, aby rostliny přežily zimní podmínky. V BBCH stupnici se jedná o fázi 14 (Hess & al., 1997).

## **7. VYUŽITELNOST VÝSLEDKŮ V PRAXI A NÁMĚTY PRO DALŠÍ VÝZKUM**

### **7.1. Využitelnost výsledků v praxi**

#### **Genetické zdroje jetelovin a core kolekce**

Originálně vytvořená česká core kolekce je prakticky využívána jako zdroj vstupních materiálů pro šlechtitelské procesy jak v České republice, tak i v zahraničí. Všechny zhodnocené znaky jsou dostupné v informačním systému české národní genové banky, takže uživatelé této core kolekce mohou efektivně zvolit a kombinovat požadované vstupní materiály v počáteční fázi šlechtění. Z důvodu zvýšeného zájmu o osivo u položek uložených v core kolekci, jsou preferenčně u těchto původů udržovány dostatečné zásoby osiva. Semenné vzorky od položek zařazených v core kolekci byly přednostně vybrány pro bezpečnostní duplikaci ve slovenské národní genové bance při Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Piešťanech.

#### **Suchovzdornost jetelovin**

Vojtěška poskytuje vysoké výnosy píce na lokalitách s hlubokými, vodu zadržujícími půdami. Tolerance druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* k suchu z pohledu produkce píce je podstatně vyšší nežli u druhů *Lotus corniculatus* a *Trifolium pratense*. Dobré výsledky druhů *Medicago sativa* a *Onobrychis viciifolia* jsou spojené nejen s hlubším kořenovým systémem, ale také se schopností absorbovat méně dostupnou vodu z půdy i v časných fázích ontogeneze. Vojtěška má nejvyšší výnosový potenciál za předpokladu dostatečně hlubokého půdního profilu. Druh *Onobrychis viciifolia* je doporučován pro písčité půdy, kde dosahuje lepších výnosů než druh *Medicago sativa*. Bylo potvrzeno, že častější seče snižují výnosy, zejména v suchých letech.

#### **Velikosti výsevků u jetelovin**

Použití redukovaných výsevků vede k založení řídších porostů, které mohou za sucha poskytovat vyšší výnosy píce nežli husté porosty. Řídké porosty jsou tolerantnější k suchu, protože jednotlivé rostliny mají sníženou kompetici o vodu. To má za následek

silnější rostliny s hlouběji rostoucími kořeny, které mohou absorbovat dostatek vody potřebné pro přežití sucha a zároveň poskytnou dostatečný výnos.

Praktické doporučení je použít nižší výsevky i v aridních podmínkách, a to mimo výše uvedené důvody i z hlediska snížení nákladů, které není spojeno s poklesem produkce. Vysoké výsevky vedou ke zvýšení pokryvnosti půdy v časných fázích (výhoda při vyšším zaplevelení), ale na druhé straně vedou ke zvýšené mortalitě semenáčků, zejména v prvních dvou měsících po zasetí.

V hustých porostech jsou rostliny slabší; nejsou schopny vytvořit dostatečně hluboké kořeny. Rostliny v hustých porostech využívají významný podíl svých asimilátů ke kompetici se sousedními rostlinami.

Doporučované výsevky jsou obvykle vyšší, nežli je nezbytně nutné pro úspěšné založení porostu. Dokonce 1,75 milionu klíčivých semen vysetých na 1 ha (25 % standardního výsevku) umožňuje založení dostatečně hustého porostu u testovaných druhů *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*, *Onobrychis viciifolia* a *Lotus corniculatus*.

### **Vliv netradičních termínů výsevu na vzcházkovost vybraných druhů jetelovin**

Na základě porovnání tří podzimních termínů výsevu (září, říjen, listopad) a kontroly (března) lze doporučit pro zakládání porostů jetelovin pouze termín v první polovině září. Pouze zářijový termín výsevu vedl u druhů *Medicago sativa*, *Onobrychis viciifolia* a *Trifolium pratense* k dostatečným počtům rostlin na jednotku plochy. Pouze zářijové termíny výsevu vedou k běžně dosahovaným výnosům píce, ale jen u několika druhů, jako například *Trifolium resupinatum*, *Medicago lupulina*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium pratense* a *Trifolium repens*. Naopak u druhů *Lotus corniculatus*, *Securigera varia*, *Medicago sativa* byly dosaženy při podzimních výnosech pouze minimální výnosy píce.

Nízké teploty vzduchu a půdy v kombinaci s krátkými dny prodlužují dobu vzcházení a redukují rychlosť následného růstu. Z tohoto důvodu nelze říjnové a listopadové termíny výsevu jetelovin pro praxi doporučit. Časné podzimní termíny výsevu umožňují lepší polní vzcházkovost díky nižším teplotám, výrazně výparu a menším denním amplitudám v teplotě oproti tradičním termínům výsevů v březnu a dubnu. Na druhé straně mohou být tyto termíny riskantní v případě výskytu následné tuhé zimy s holomrazy. To se stalo právě v sezóně 2011-2012 v regionu jižní Moravy a

způsobilo to vážné poškození většiny ozimých plodin. Výskyt stresových faktorů během vzcházení a počátečního růstu semenáčků zvyšuje podíl mezer v porostu.

Na podzim založené porosty jsou po přezimování slabší, než ty, které byly založeny brzo na jaře. Na druhé straně ale mají náskok před porosty založenými až po zimě. U jetelovin lze proto z pozdních termínů výsevu doporučit pouze termín podzimního výsevu do první poloviny září nebo pak provést výsev až na jaře v měsíci březnu.

## 7.2. Náměty pro další výzkum

Nové možnosti využití jetelovin zahrnují následující aspekty: komponenty v silvopastorálních systémech; meziplodiny a půdopokryvné plodiny především v ekologickém zemědělství; půdopokryvné a protierozní rostliny ve vinohradech a sadech; perspektivní rostliny pro produkci medu; bioremediace antropogenně poškozených půd; jako botanické pesticidy a v neposlední řadě využití pro farmaceutické a lékařské účely.

Velký potenciál mají a budou mít jeteloviny i v bioenergetice, zde se otevírají nové příležitosti pro praktické využití druhů s nižší kvalitou píce a planých příbuzných druhů s vysokou produkcí nadzemní biomasy.

Perspektivní možností jak obohatit diverzitu jetelovin, kromě introdukce nových druhů, je i mezidruhové křížení. V čeleďi *Fabaceae* není mezidruhová hybridizace častá, proto bude většina hybridů, stejně jako nyní, produkována metodami *in vitro*. Velká genetická variabilita jetelovin poskytuje dobrý základ pro šlechtění na specifické vlastnosti a podmínky prostředí (tolerance k suchu a zasolení, zvýšení fixace dusíku). Předpokladem úspěchů ve šlechtění je praktická aplikace moderních geneticko-molekulárních metod při šlechtění, jako je např. Marker assisted selection (MAS).

Především u vojtěšky se rozvíjela tvorba transgenních materiálů, jejich praktické využití je nyní ale poměrně malé. Zejména z legislativních, etických a regulačních důvodů nejsou geneticky modifikované jeteloviny v současné době kromě Roundup Ready vojtěšky k dispozici. Budoucnost genetických modifikací u jetelovin je velmi diskutabilní, ale na druhé straně může vést k získání velmi zajímavých transgenních rostlin, např. s vysokou tolerancí k suchu a zasolení nebo s rezistencí k chorobám a škůdcům.

Za důležitou je považována nejen odolnost k biotickým a abiotickým stresorům, ale i dobrá semenářská produkce spojená se snadnou sklizní semen. Z hlediska abiotických stresorů bude zemědělskou produkci stále více ovlivňovat klimatická změna, zejména pak sucho. Proto budou mít genotypy jetelovin tolerantní k suchu stále větší význam. S aridním klimatem je spojena nejen desertifikace, ale i zasolování půdy. Se vzrůstající rozlohou zasolených půd bude narůstat zájem o materiály tolerantní k vysokému obsahu solí v půdě.

Výzkum, který by v budoucnu mohl navazovat na dizertační práci, by se měl zaměřit v oblasti genetických zdrojů na zhodnocení genotypů v různých podmínkách prostředí, se zaměřením na porovnání interakcí genotyp x prostředí. Vhodné by bylo z tohoto pohledu také ověřit, případně na více lokalitách otestovat, materiály zastoupené ve stávajících core kolekcích.

Co se týká odolnosti k biotickým a abiotickým stresorům, budoucí výzkum by se mohl zaměřit na polní zhodnocení širšího druhového spektra jetelovin s cílem vybrat hlavní i některé další minoritní druhy, které lze doporučit nejen pro aridní podmínky, ale i třeba pro zasolené půdy. Význam budou mít ale i druhy se širokou ekologickou amplitudou a dobrou adaptabilitou, které budou zvládat předvídané častější a větší výkyvy počasí.

## 8. ZÁVĚR

Hlavním výsledkem dizertační práce bylo zhodnocení diverzity morfologických i hospodářských znaků nejdůležitějších druhů jetelovin v České republice – *Trifolium pratense*, *Trifolium repens*, *Medicago sativa*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium hybridum*, *T. alexandrinum* a *T. resupinatum*. Položky pro studium byly vybrány z genofondových kolekcí české národní genové banky v Praze-Ruzyni. Byl proveden detailní popis kolejek studovaných druhů v podmínkách suchého a teplého klimatu pomocí morfologických, fytopatologických, výnosových a biologických znaků. Celkem bylo zhodnoceno 907 genotypů náležejících k sedmi druhům jetelovin.

Hypotéza, že na základě vyhodnocení souboru dat shlukovou analýzou byli vybráni zástupci do core kolejek tak, aby došlo k významné redukci počtu položek, a zároveň byla zachována diverzita obsažená v genofondových kolejek druhů *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* a *Medicago sativa*, byla potvrzena. Jak v původních kolejek, tak i v core kolejek nebyly nalezeny žádné duplicity.

U druhu *Trifolium pratense* bylo provedeno zhodnocení morfologických, molekulárních a fytopatologických dat na všech položkách core kolejce. Tetraploidní původy mají ve srovnání s diploidními chlupatější a větší děložní lístky, tlustší lodyhy, širší terminální lístky, vyšší hmotnost semen a nižší odolnost k přezimování. Korelace výsledků shlukových analýz provedených na základě morfologických a molekulárních dat nebyla nalezena. Vztah mezi rezistencí k *Fusarium* spp. a BYMV nebyl prokázán.

Hypotéza, že rozdílné výsevky ovlivňují zápoj porostů i výnosy u různých druhů jetelovin v suchých podmínkách, nebyla potvrzena. Nejlepší výsledky byly dokonce získány u porostů založených sníženými výsevkami. Při použití redukovaných výsevků, druh *Medicago sativa* poskytl nejlepší výnosy na hlinitých půdách v Troubsku a druh *Onobrychis viciifolia* na písčitých půdách v Žabčicích.

Pokus s klíčením osiv vybraných druhů jetelovin v různých koncentracích roztoku polyetylenglyku (PEG), který imitoval zvýšený osmotický tlak, pomohl nalézt nejvíce suchovzdorné druhy jetelovin ve fázi klíčení. Druh *Onobrychis viciifolia* se ukázal jako nejvíce tolerantní k vysokému osmotickému tlaku ve fázi klíčení, zatímco druh *Trifolium pratense* byl nejméně odolný.

Hypotéza, že druhově významné rozdíly ve vzcházení, v zápoji porostů i ve výnosech jsou korelovány s klíčivostí za zvýšeného osmotického tlaku, jakožto nepřímého indikátoru schopnosti rostlin lépe tolerovat nedostatek vody byla potvrzena.

Výsledkem studia vlivu pozdních termínů výsevů na polní vzcházivost a zimovzdornost devíti vybraných druhů leguminóz je doporučení termínu výsevu v první polovině září pro podmínky kukuřičné a řepařské výrobní oblasti. Tento termín lze doporučit pro ročníky, kdy není příliš suché září a pokud se nevyskytne tuhá zima s holomrazy. Pozdější termíny výsevu jsou rizikové, míra přežití zimního období je nízká a rostliny jsou pak na jaře málo vyvinuté. Zářijový termín je jistý z hlediska umožnění dostatečného rozvoje rostlin, které by měly mít alespoň čtyři pravé lístky a dostatečně rozvinutý kořen tak, aby rostliny přežily zimní podmínky (odpovídá to fázi 14 v BBCH stupnici).

Hypotéza, že netradiční termíny výsevu (září, říjen, listopad, březen) v suchém a teplém klimatu umožní lepší založení a zapojení porostu u vybraných druhů jetelovin ve srovnání se standardními jarními termíny výsevu nebyla potvrzena.

## 9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY:

- Abadouz G., Hasanzadeh-Gortapeh A., Rahnema A. A. & Behradfar A. (2010): Effect of row spacing and seeding rate on yield component and seed yield of lucerne (*Medicago sativa* L.). *Not. Sci. Biol.* 2(1): 74–80.
- Abberton M. T. & Marshall A. H. (2005): Progress in breeding perennial clovers for temperate agriculture. *J. Agric. Sci.* 143: 117–135.
- Abberton M. T. & Marshall A. H. (2010): *Trifolium repens*. In: Boller B., Posselt U. & Veronesi F. (eds): Fodder Crops and Amenity Grasses. *Handbook of Plant Breeding*, Springer, Berlin 5: 457–476.
- Abberton M. T. & Thomas I. (2011): Genetic resources in *Trifolium* and their utilization in plant breeding. *Plant Genet. Resour. Charact. Util.*, 9 (1): 38–44.
- Ambruz J. & Hejduk S. (2011): Autumn terms of sowing of turf grasses and legumes and their initial development. *Acta Univ. Agric. & Silvic. Mendel. Brun.* 59 (6): 9–16.
- Annicchiarico P. & Pagnotta M. A. (2012): Agronomic value and adaptation across climatically contrasting environments of Italian red clover landraces and natural populations. *Grass Forage Sci.* 67: 597–605.
- Annicchiarico P. (2007a): Lucerne shoot and root traits associated with adaptation to favourable or drought-stress environments and to contrasting soil types. *Field Crop. Res.* 102: 51–59.
- Annicchiarico P. (2007b): Wide versus specific adaptation strategy for lucerne breeding in northern Italy. *Theor. Appl. Genet.* 114: 647–657.
- Annicchiarico P., Barrett B., Brummer E. Ch., Julier B. & Marshall A. H. (2015): Achievements and Challenges in Improving Temperate Perennial Forage Legumes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34: 1–3 & 327–380.
- Annicchiarico P., Pecetti L. & Tava A. (2013): Physiological and morphological traits associated with adaptation of lucerne (*Medicago sativa*) to severely drought-stressed and to irrigated environments. *Ann. Appl. Biol.* 162: 27–40.
- Annicchiarico P., Pecetti L., Abdelguerfi A., Bouizgaren A., Carroni A. M., Hayek T., Bouzina M. M. & Mezni M. (2011): Adaptation of landrace and variety germplasm and selection strategies for lucerne in the Mediterranean basin. *Field Crops Res.* 120: 283–291.

- Annicchiarico P., Scotti C., Carelli M. & Pecetti L. (2010): Questions and avenues for lucerne improvement. *Czech J. Genet. Plant.* 46: 1–13.
- Aydogdu L. & Acikgoz E. (1995): Effect of seeding rate on seed and hay yield in common vetch (*Vicia sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 174 (3): 181–187.
- Bábková-Hrochová M. (2004): Banka semen ohrožených druhů při Vlastivědném muzeu v Olomouci a Expozice ohrožených druhů rostlin – 1. část. *Zprávy Vlastivědného muzea v Olomouci*, 281: 1–12.
- Badr A., El-Shazly H. H. & Mekki L. (2012): Genetic diversity in *Trifolium repens* and its progenitors as revealed by DNA fingerprinting. *Biol. Plantarum* 56 (2): 283–291.
- Barnes D. K., Goplen B. P. & Baylor J. E. (1988): Highlights in the USA and Canada. In: Hanson A. A. (1988): Alfalfa and alfalfa improvement. – American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. – p. 373.
- Barrett B., Griffiths A., Schreiber M., Ellison N., Mercer C., Bouton J., Ong B., Forster J., Sawbridge T., Spangenberg G., Bryan G. & Woodfield D. (2004): A microsatellite map of *Trifolium repens*. *Theor. Appl. Genet.*, 109: 596–608.
- Bauchan G. & Greene S. L. (2002): Status of the USDA *Medicago* germplasm collection. *Plant Genet. Res. News.*, 129: 1–8.
- Bell K., Dixon R. & Farmer A. (2001): The *Medicago* genome initiative: a model legume database. *Nucleic Acids Res.* 29 (1): 547–223.
- Bhandari H. S., Al Lawati A. H. & Ray I. M. (2011): Amplified fragment length polymorphism marker diversity among high yielding perennial alfalfa (*Medicago sativa* L.) core collection accessions. *Crop Sci.* 51(3): 1110–1121.
- Bláha L., Laskafeld D., Stehno Z., Capouchová I. & Konvalina P. (2011): Hodnocení vlastností a vhodnosti praktického použití certifikovaných a farmářských osiv u obilnin. Sborník z konference Osivo a sadba, 10: 50–55.
- Boller B., Schubiger F. X. & Kolliker R. (2010): *Trifolium pratense*. In: Boller B., Posselt U. & Veronesi F. (eds): Fodder Crops and Amenity Grasses. Handbook of Plant Breeding, Springer, Berlin 5: 439–456.
- Boller B., Tanner P., Günter S. & Schubiger F. X. (2003): Description and Evaluation of a Collection of former Swiss *Trifolium pratense* Landraces. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 39: 31–37.

- Brant V., Neckář K., Žamboch M. & Hlavičková D. (2005): Seed germination of selected summer intercrops in conditions of water stress. In: conference proceedings: The influence of abiotic and biotic stressors on plant characters, Crop Research Institute, Prague, 60–64.
- Bretagnolle F., Thompson J. D. & Lumarand R. (1995): The influence of seed size variation on seed germination and seedling vigour in diploid and tetraploid *Dactylis glomerata* L. *Ann. Bot.* 76: 607–615.
- Brotan J., Trnka M., Hlavinka P., Semerádová D. & Žalud Z. (2013): Climatic and agroclimatic conditions of Žabčice experimental field in the period 1961–2010. *Folia Univ. Agric. & Silvic. Mendel. Brun.* VI (6): 52 pp.
- Brummer E. C., Bouton J. H. & Kochert G. (1995): Analysis of annual *Medicago* species using RAPD markers. *Genome* 38: 362–367.
- Brummer E. C., Cazcarro P. M. & Luth D. (1999): Ploidy determination of *Medicago sativa* germplasm accessions using flow cytometry. *Crop Sci.* 39: 1202–1207.
- Brummer E. C., Kochert G. & Bouton J. H. (1991): RFLP variation in diploid and tetraploid alfalfa. *Theor. Appl. Genet.* 83: 89–96.
- Bruschi P., Vendramin G. G., Bussotti F. & Grossoni P. (2003): Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae). *Ann. Bot.* 91: 707–716.
- Burlyn E. M. & Merill R. K. (1973): The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914–916.
- Carbonero C. H., Mueller-Harvey I., Brown T. A. & Smith L. (2011): Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): A beneficial forage legume. *Plant Genet. Res.* 9(1): 70–85.
- Clarke P. J., Davison E. A. & Fulloon L. (2000): Germination and dormancy of grassy woodland and forest species: effects of smoke, heat, darkness and cold. *Aust. J. Bot.* 48: 687–699.
- Dear B. S., Moore G. A. & Hughes S. J. (2003): Adaptation and potential contribution of temperate perennial legumes to the southern Australian wheat belt: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 43: 1–18.
- Djilianov D., Prinsen E., Oden S., Onckelen H. & Müller J. (2003): Nodulation under salt stress of alfalfa lines obtained after *in vitro* selection for osmotic tolerance. *Plant Sci* 165 (4): 887–894.

- Doležel J. & Göthe W. (1995): Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. *Cytometry* 19: 103–106.
- Drobná J. & Žáková M. (2001): Zhodnotenie súboru genetických zdrojov d'ateliny plazivej (*Trifolium repens* L.) zhľukovou analýzou. In: Vedecké práce VÚRV Piešťany. 30: 187–192.
- Dubrovský M., Nemešová I. & Kalvová J. (2005): Uncertainties in climate change scenarios for the Czech Republic. *Climate Res.* 29: 139–156.
- Ellison N. W., Liston A., Steiner J. J., Williams W. M. & Taylor N. L. (2006): Molecular phylogenetics of the clover genus (*Trifolium* - *Leguminosae*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 39 (3): 688–705.
- Fairey D. T., Lefkovich L. P. & Fairey N. A. (1996): The relationship between fall dormancy and germplasm source in North American alfalfa cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 76: 429–433.
- FAO (2010): The second report on the state of the world's Plant Genetic Resources for food and agriculture, Rome.
- FAO (2013): Towards the establishment of a global network for *in situ* conservation and on-farm management of PGRFA. Report of Technical Workshop held in Rome, Italy 13<sup>th</sup> November, 2012. Food and Agriculture Organisation of the UN, Rome Italy.
- Franks S. J. (2011): Plasticity and evolution in drought avoidance and escape in the annual plant *Brassica rapa*. *New Phytol.*, 190(1), 249–257.
- George J., Dobrowolski M. P., de Jong E. V., Cogan N. O. I., Smith K. F. & Forster J. W. (2006): Assessment of genetic diversity in cultivars of white clover (*Trifolium repens* L.) detected by SSR polymorphisms. *Genome* 49: 919–930.
- Gillett J. M. & Taylor N. L. (2001): The World of Clovers. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Greene S. L., Afonin A., Dzyubenko E. & Dzyubenko N. (2012): Crop wild relatives of *Medicago* in Russia and neighbouring countries: gap analysis for effective conservation. In: *Agrobiodiversity Conservation: Securing the Diversity of Crop Wild Relatives and Landraces*. pp. 82–90. Maxted, N., Dullo, M. E., Ford-Lloyd, B. V., Frese, L., Iriondo, J., Pinheiro de Carvalho M. A., Eds., Cab International, UK.

- Greene S. L., Gritsenko M., Vandermark G. (2004): Relating morphological and RAPD marker variation to collection site environment in wild populations of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Genet. Resour. Crop Evol.* 51: 643–653.
- Grzesiak S., Filek W., Skrudlik G. & Niziol B. (1996): Screening for drought tolerance: Evaluation of seed germination and seedling growth for drought resistance in legume plants. *J. Agron. Crop Sci.* 177: 245–252.
- Gubiš V. (2001): Predisposition of *Medicago sativa* genetic resources to the Bacterial wilt. – *Scientific studies Research Institute of Crop Production*, Piešťany, 30: 119–123.
- Hall M. H. & Vough L. R. (2007): Forage establishment and renovation. – In: Barnes R. F., Nelson C. J., Moore K. J. & Collins M. (2007): Forages, sixth edition. Blackwell publishing professional, Iowa, pp. 343–354.
- Hall M. H., Nelson C. J., Coutts J. H., & Stout R. C. (2004). Effect of seeding rate on lucerne stand longevity. *Agron. J.* 96(3): 717–722.
- Hejduk S. & Knot P. (2010): Effect of provenance and ploidy of red clover varieties on productivity, persistence and growth pattern in mixture with grasses. *Plant, soil and environment* (3): 111–119.
- Hess M., Barralis G., Bleiholder H., Buhr L., Eggers T., Hack H., Stauss R. (1997): Use of the extended BBCH scale - general for the descriptions of the growth stages of mono- and dicotyledonous weed species. *Weed Research* 37 (6): 433–441.
- Hood G. M. (2005): PopTools version 2.6.9. Available on the internet. URL: <http://www.cse.csiro.au/poptools>
- Chandra A., Roy A. K. & Kumar S. (2010): Molecular techniques for improvement of forage crops. *Range Manag. Agrofor.* 31 (2): 87–96.
- Chloupek O. (1982). Combining ability for growth of young lucerne plants as related to size of the root system. *J. Plant Breed.* 88(1): 54–60.
- Ishii H. S. (2013): Community-dependent foraging habits of flower visitors: cascading indirect interactions among five bumble bee species. *Ecological Research* 28 (4): 603–613.
- Isobe S., Klimenko I., Ivashuta S., Gau M. & Kozlov N. N. (2003): First RFLP linkage map of red clover (*Trifolium pratense* L.) based on cDNA probes and its transferability to other red clover germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 105–112.

- Jahufer M. Z. Z., Cooper M., Ayres J. F. & Bray R. A. (2002): Identification of research to improve the efficiency of breeding strategies for *Trifolium repens* in Australia: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 53: 239–257.
- Jahufer M. Z. Z., Cooper M. & Brien L. A. (1994): Genotypic variation for stolon and other morphological attributes of white clover (*Trifolium repens* L.). Populations and their influence on herbage yield in the summer rainfall region of New South Wales. *Aust. J. Agric. Res.* 45(3): 703–720.
- Jakešová H., Řepková J., Hampel D., Čechová L. & Hofbauer J. (2011): Variation of morphological and agronomic traits in hybrids of *Trifolium pratense* x *T. medium* and a comparison with the parental species. *Czech J. Genet. Plant.* 47 (1): 28–36.
- Jones E. S., Hughes L. J., Drayton M. C., Abberton M. T., Michaelson-Yeates T. P. T., Bowen C. & Forster J. W. (2003): An SSR and AFLP molecular marker-based genetic map of white clover (*Trifolium repens* L.). *Plant Science* 165: 447–479.
- Jungmannová B. & Řepková J. (2005): Obtaining DNA markers for diversity evaluation in *Trifolium pratense* cultivars. In Book of Abstracts, 6<sup>th</sup> International Symposium in the Series Recent Advances in Plant Biotechnology, 12<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> Září 2005. ISBN 80-86778-16-9 p. 42. České Budějovice.
- Kaljund K. & Leht L. (2013): Extensive introgressive hybridization between cultivated lucerne and the native sickle medic (*Medicago sativa* ssp. *falcata*) in Estonia. *Ann. Bot. Fennici* 50:23–31.
- Kang Y., Han Y., Torres-Jerez I., Wang M., Tang Y., Monteros M. & Udvardi M. (2011): System responses to long-term drought and re-watering of two contrasting lucerne varieties. *Plant J.* 68: 871–889.
- Kjaergaard T. (2003): A plant that changed the world: Rise and fall of clover 1000–2000. *Landsc. Res.* 28: 41–49.
- Knotová D., Pelikán J. & Vymyslický T. (2010a): Studium podobnosti původů české kolekce jetele perského (*Trifolium resupinatum* L.). – Nové poznatky z Genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. CVRV Piešťany: 126–127.
- Knotová D., Pelikán J., Gottwaldová P. & Vymyslický T. (2009): The study of similarities among *Trifolium hybridum* L. accessions. – In: Book of abstracts, 19<sup>th</sup> Eucarpia conference Genetic resources section, Ljubljana, Slovenia, May 26<sup>th</sup> - 29<sup>th</sup>, 2009: 64.

- Knotová D., Pelikán J., Vymyslický T. & Hutyrová H. (2010b): Study of Variability and Similarities among *Lotus corniculatus* L. Accessions. – Ratar. Povrt. / Field Veg. Crop Res. 47, 479–484
- Kolliker R., Boller B., Majidi M., Peter-Schmidt M. K. I., Bassin S. & Widmer F. (2009): Characterisation and utilisation of genetic resources for improvement and management of grassland species. In: Yamada T. & Spangenberg G. (eds): Molecular Breeding of Forage and Turf, 55–70.
- Kouamé C. N. & Quesenberry K. H. (1993): Cluster analysis of a world collection of *Trifolium pratense* germplasm. *Gen. Res. and Crop Evol.* 40: 39–47.
- Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. (eds.) (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.
- Küchenmeister K., Küchenmeister F., Wrage N., Kayser M. & Isselstein J. (2012): Establishment and early yield development of five possible alternatives to *Trifolium repens* as a grassland legume. *J. Agric. Sci.* 4(8): 86–95.
- Lamb J. F. S., Samac D. A., Barnes D. K. & Henjum K. I. (2000): Increased herbage yield in lucerne associated with selection for fibrous and lateral roots. *Crop Sci.* 40: 693–699.
- Lamont E. J., Zoghlami A., Sackville-Hamilton R. & Bennett S. J. (2001): Clovers (*Trifolium* L.). In: Maxted N. & Bennett S. J. (eds): Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp. 76–98.
- Lane L. A., Ayres J. F. & Lovett J. V. (1997): A review of the introduction and use of white clover (*Trifolium repens* L.) in Australia – significance for breeding objectives. *Austral. Jour. Exper. Agric.* 37: 831–839.
- Larcher W. (2003): Physiological Plant Ecology. Springer, Berlin, 4<sup>th</sup> edition, 513 pp.
- Larsen S. U. & Bibby B. M. (2005): Differences in thermal time requirement for germination of three turfrass species. *Crop Sci.* 45: 2030–2037.
- Lesins K. A. & Lesins I. (1979): Genus *Medicago* (Leguminosae). A taxogenetic study. Dr. W. Junk, The Hague, The Netherlands.
- Lewis G., Schrire B., Mackinder B. & Lock M. (2005): Legumes of the World. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Liu G. H., Guo Y. P., Ren Y. X. & Cao Ch. M. (2013): Study on drought resistance of five kinds of forage crops during seed germination period under polyethylene glycol (PEG) stress. *Seed* 32 (1): 15–19.

- Lubenets P. A. (1953): Species composition and breeding assessment of cultivated and wild alfalfas. *Bull. Appl. Bot. Genet. Sel. Forage Crops.* 47: 3–155.
- Málek J. & Slavík J. (1978): Výzkum vlivu výsevu a organizace porostu na růst vojtěšky (*Medicago sativa* L.). *Sborník vědeckých prací Výzkumného a šlechtitelského ústavu pícninářského, Troubsko u Brna*, 5/6: 161–166.
- Málek J. & Slavík J. (1983): Vliv výsevku a zapojení porostu jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) na růst rostlin a výnosy píce. *Sborník vědeckých prací Výzkumného a šlechtitelského ústavu pícninářského, Troubsko u Brna*, 8: 183–190.
- Mantel N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27: 209–220.
- Martinez L., Cavagnaro P., Masuelli R. & Rodriguez J. (2003): Evaluation of diversity of Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Electron. J. Biotechnol.* 6: 241–250.
- Maslinkov M., Mirtschev M. & Antonowa N. (1980): Studies on the optimal sowing rate for lucerne for seed production. *Wissenschaftliche Beiträge, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg* 20 (S 23): 324–335.
- Maureira-Butler I. J., Pfeil B. E., Muangprom A., Osborn T. C. & Doyle J. J. (2008): The reticulate history of *Medicago* (Fabaceae). *Syst. Biol.* 57: 466–482.
- Metzger M. J., Bunge R. G. H., Leemans R. & Viner D. (2008). Projected environmental shifts under climate change: European trends and regional impacts. *Environ. Conserv.* 35(1): 64–75.
- Ministerstvo zemědělství České republiky (2015): Požadavky na množitelské porosty a osivo luskovin a jetelovin – vyhláška č. 384/2006 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o uvádění osiva a sadby pěstovaných rostlin do oběhu, příloha 3 <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/100052345.html>. Stránka navštívena dne 17.2.2015.
- Mosjidis J. A. & Klinger K. A. (2006): Genetic diversity in the core subset of the US *Trifolium pratense* germplasm. *Crop Sci.* 46: 758–762.
- Nedělník J. (1986). The sensitivity of some cultivars of *Trifolium pratense* of selected species of *Fusarium* spp. and the effect of fungicides on the growth of Fusaria *in vitro*. *Plant Prot.* 22: 285–293.
- Nedělník J. (1993). Comparison of pathogenicity and ability to produce phytotoxins of *Fusarium* species isolated from *Trifolium pratense* and *Medicago sativa* in Czechoslovakia. *Hodowla Rosl., Aklim. Nasienn.* 37(3): 177–180.

- Nedělník J., Pokorný R. (1992): Relationship between *Trifolium pratense* L. resistance to *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) and some species of *Fusarium* genus. *Plant Prot.* 28: 313–315.
- Nichols P. G. H., Foster K. J., Piano E., Pecetti L., Kaur P., Ghamkhar K. & Collins W. J. (2013): Genetic improvement of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). 1. Germplasm, traits and future prospects. *Crop & Pasture Science* 64 (4): 312–346 (Special Issue).
- Noorbakhshian S. J., Nabipour M., Meskarbashee M. & Amooaghaie R. (2011): Optimization of hydro- and osmo-priming in different seed size of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). *Aust. J Basic Appl. Sci.* 5 (11): 1236–1244.
- Oakley R. A. & Garver S. (1917): *Medicago falcata*, a yellow flowered alfalfa. U. S. *Dept. of Agric. Bull.* 428. Washington D. C.
- Odorizzi A., Basigalup D., Arolfo V. & Balzarini M. (2008): Root traits variability in lucerne (*Medicago sativa* L.) populations with a high number of lateral roots. *Agri Sci.* 25: 65–73.
- Onal A. O. (2011): Biodiversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) collected from Turkey. I: Morpho-agronomic properties. *Afr. J. Biotechnol.* 10 (64): 14073–14079.
- Otto F. (1990): DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H. A. & Darzynkiewicz Z. (eds.): Flow cytometry. *Meth. Cell Biol.* 33: 105–110.
- Pagnotta M. A., Annicchiarico P., Farina A. & Proietti S. (2011): Characterizing the molecular and morphophysiological diversity of Italian red clover. *Euphytica* 179 (3): 393–404.
- Pang, J., Yang, J., Ward, P., Siddique, K. H., M., Lambers, H., Tibbett M. & Ryan, M. (2011). Contrasting responses to drought stress in herbaceous perennial legumes. *Plant Soil* 348(1-2): 299–314.
- Pelikán J., Knotová D., Semanová I., Vymyslický T. (2014): Šedesát let studia genetických zdrojů v Troubsku. In: Genetické zdroje rostlin v ČR po 20 letech existence Národního programu. Sbor. ref. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha–Ruzyně 64–71.
- Pelikán J., Knotová D., Vymyslický T., Hutyrová H. (2010): Stanovení podobnosti v kolekci odrůd jetele alexandrijského. – Úroda 12, vědecká příloha, 27–30.

- Pelikán J., Vymyslický T. & Gottwaldová P. (2005): Hodnocení genetických zdrojů motýlokvětých a příbuzných druhů pícnin v České republice. In: Hodnotenie genetických zdrojov rastlín. VÚRV Piešťany: 73–76.
- Pelikán J., Vymyslický T., Hutyrová H., Knotová D., Minjaríková P., Cholastová T. & Nedělník J. (2009): Metodika tvorby „core collection“ u motýlokvětých pícnin. Uplatněná certifikovaná metodika 9/09. VÚP Troubsko, ZV Troubsko. 34 s.
- Pembleton K. G., Volenec J. J., Rawnsley R. P. & Donaghy D. J. (2010): Partitioning of taproot constituents and crown bud development are affected by water deficit in regrowing lucerne (*Medicago sativa* L.). *Crop Sci.* 50: 989–999.
- Peterson P. R., Sheaffer C. C. & Hall M. H. (1992): Drought effects on perennial forage legume yield and quality. *Agron. J.* 84: 774–779.
- Podani J. (1994): Multivariate Data Analysis in Ecology and Systematics. SPB Publishing, The Hague, pp. 316.
- Pokorný R. (1989): Reakce některých odrůd jetele lučního na infekci virem žluté mozaiky fazolu. *Sborník vědeckých prací Výzkumného a šlechtitelského ústavu pícninářského, Troubsko u Brna*, 11: 205–213.
- Pokorný R., Andersson B., Nedělník J. & Řiha P. (2003): Current state of red clover breeding for resistance in central and northern Europe. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 39: 82–85.
- Procházka J., Kopřiva J. & Blahout J. (1985): Vliv metody výsevu na výnosy semene jetele lučního. *Sborník vědeckých prací Výzkumného a šlechtitelského ústavu pícninářského, Troubsko u Brna*, 7: 143–149.
- Prosperi J. M., Jenczewski E., Angevain M. & Ronfort J. (2006): Morphologic and agronomic diversity of wild genetic resources of *Medicago sativa* L. collected in Spain. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53: 843–856.
- Ptáčková M. (1981): Schopnost udržovat vodu jako kritérium suchovzdornosti vojtěšky (*Medicago sativa* L.). *Sborník vědeckých prací Výzkumného a šlechtitelského ústavu pícninářského, Troubsko u Brna*, 1981: 5–11.
- Putnam D., Russelle M., Orloff S., Kuhn J., Fitzhugh L., Godfrey G., Kiess A. & Longy R. (2001): *Alfalfa, Wildlife, and the Environment: The Importance and Benefits of Alfalfa in the 21<sup>st</sup> Century*. California Alfalfa & Forage Association.
- Ravagnani A., Abberton M. T. & Skøt L. (2012): Development of Genomic Resources in the Species of *Trifolium* L. and Its Application in Forage Legume Breeding. *Agronomy* 2: 116–131.

- Raven P. H. & Polhill R. M. (1981): Biogeography of the *Leguminosae*. In: Polhill R. M. & Raven P. H. (eds.): Advances in Legume Systematics, Part 1. Royal Botanic Gardens, Kew, 27–34.
- Reich J. (2012): Alfalfa's role in feeding a hungry world. Proceedings California Alfalfa & Grains Symposium December 10-12. 2012 Sacramento, CA.
- Robertson M. (2006): Lucerne prospects: drivers for widespread adaptation of lucerne for profit and salinity management. CRC for Plant-Based Management of dryland salinity, Perth, W. Australia. 64 pp.
- Roskov J. R. (1989). Trends in the evolution and the main taxonomic subdivisions in the group *Trifolium* s. l. (*Fabaceae*). *Bot. Ž.* 74: 36–43.
- Rotrek J. & Babinec J. (2006): Je obtížné efektivně pěstovat vojtěšku? *Agro* 7: 55–57.
- Royo J. N. & Itoiz R. (2004): Evaluation of the discriminant capacity of RAPD, isoenzymes and morphologic markers in apple (*Malus x domestica* Borkh.) and the congruence among classifications. *Genet. Resour. Crop Evol.* 51: 153–160.
- Rufelt S. (1985): Selection for *Fusarium* root rot resistance in red clover. *Ann. Appl. Biol.* 107: 527–534.
- Russelle M. P., Lamb J. F. S., Turyk N. B., Shaw B. H. & Pearson B. (2007): Managing nitrogen contaminated soils: Benefits of N<sub>2</sub>-fixing alfalfa. *Agronomy J.* 99: 738–746.
- Sakanoue S. (2010): Thermal time approach to predicting seedling emergence dates of red clover, white clover and lucerne in farm fields. *Grass Forage Sci.* 65: 212–219.
- Sakiroglu M. & Brummer E. C. (2011): Clarifying the ploidy of some accessions in the USDA alfalfa germplasm collection. *Turk. J. Botany* 35: 509–519.
- Sakiroglu M. & Brummer E. C. (2013): Presence of phylogeographic structure among wild diploid alfalfa accessions (*Medicago sativa* L. subsp. *microcarpa* Urb.) with evidence of the center of origin. *Genet. Res. Crop Evol.* 60: 23–31.
- Sakiroglu M. & Kaya M. M. (2012): Estimating genome size and confirming ploidy levels of wild tetraploid alfalfa accessions (*Medicago sativa* subsp. *varia*) using flow cytometry. *Turk. J. Field Crops* 17: 151–156.
- Sakiroglu M., Doyle J. J. & Brummer E. C. (2010): Inferring population structure and genetic diversity of broad range of wild diploid alfalfa (*Medicago sativa* L.) accessions using SSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 121: 403–415.

- Sato S. & Tabata S. (2011): Chapter 8 – *Lotus*. In: Kole Ch. [ed]: Wild Crop Relatives: Genomics and Breeding Resources. Springer, Heidelberg Dordrecht London New York.
- Segovia-Lerma A., Cantrell R. G., Conway J. M. & Ray I. M. (2003): AFLP-based assessment of genetic diversity among nine alfalfa germplasms using bulk DNA templates. *Genome* 46: 51–58.
- Sheaffer C. C. & Evers G. W. (2007): Cool-season legumes for humid areas. – In: Barnes R. F., Nelson C. J., Moore K. J. & Collins M. (2007): Forages, sixth edition. Blackwell publishing professional, Iowa, pp 179–190.
- Sheaffer C. C., Tanner C. B. & Kirkham M. B. (1988): Alfalfa water relations and irrigation. In: Hanson A. A. (1988): Alfalfa and alfalfa improvement. – American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. – p. 373.
- Schnurra J., Jungb H. & Samaca D. (2007): A comparative study of alfalfa and *Medicago truncatula* stem traits: morphology, chemical composition, and ruminant digestibility. *Crop Sci.* 47: 1672–1680.
- Schultz H. K. & Hayes H. K. (1938): Artificial drought tests of some hay and pasture grasses and legumes in sod and seedling stages of growth. *J. Am. Soc. Agron.* 30(8): 676–682.
- Skinner R. H. (2005): Emergence and survival of pasture species sown in monocultures or mixtures. *Agron. J.* 97 (3): 799–805.
- Skipp R. A., Christensen M. J. & Nan Z. B. (1986): Invasion of red clover (*Trifolium pratense*) roots by soil-borne fungi. *N. Z. J. Agric. Res.* 29: 305–313.
- Small E. & Jomphe M. (1989): A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). *Can. J. Bot.* 67: 3260–3294.
- Small E. (2011): Alfalfa and relatives: evolution and classification of *Medicago*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario.
- Smýkal P., Coyne C., Ambrose M., Maxted N., Schaefer H., Blair M., Berger J., Greene S., Nelson M., Besharat N., Vymyslický T., Toker C., Saxena R., Roorkiwal M., Pandey M., Hu J., Li Y., Wang L., Guo Y., Qiu L., Redden R. & Varshney R. (2014): Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34 (2015): 43–104.
- Soldánová M. (2007): New microsatellite loci for red clover (*Trifolium pratense* L.) and study its polymorphism. Book of Abstracts of the 27<sup>th</sup> EUCARPIA Symposium

- on improvement of forage crops and amenity grasses. Copenhagen, 19<sup>th</sup>–23<sup>rd</sup> August 2007. p. 85.
- Souza L. F. G., Melloni M. L. G., Fernandes A. C. & Santos D. M. M. (2012): Effects of spermidine on the germination performance under osmotic stress of seeds of two forage species. *Científica (Jaboticabal)* 40 (1): 47–58.
- SPSS Inc. (1998): SPSS® Base 8.0. SPSS Inc., Chicago.
- STATSOFT, Inc. (2014): Statistica CZ [Software system for data analysis], version 12. www.STATSOFT.cz.
- Steele K. P., Ickert-Bond S. M., Zarre S. & Wojciechowski M. F. (2010): Phylogeny and character evolution in *Medicago* (Leguminosae): Evidence from analyses of plastid *trnK/matK* and nuclear *GA3ox1* sequences *Am. J. Bot.* 97: 1142–1155.
- Strzyzewska C. (1995): Amphidiploid hybrids of *Trifolium pratense* L. (2n equals 14 + 2) with *T. diffusum* Ehrh. (2n equals 16). *J. Appl. Genet.* 36: 147–154.
- Sumner D. & Rosen-Molina J. T. (2011): Alfalfa in the context of global crop price prospects. Proceedings, 2011 Western Alfalfa & Forage Conference, Las Vegas, Nevada.
- Štěpánek P. (2015): Doporučená agrotechnika polních plodin. Dostupné na: <http://www.agromanual.cz/cz/atlas/plodiny>. Stránky navštíveny dne 17.2.2015.
- Taylor N. L. & Quesenberry K. H. (1996): Red clover Science. Kluwer Academic, The Netherlands.
- Taylor N. L. & Smith R. R. (1995): Red clover. In: Barnes R. F, Miller D. A. and Nelson C. J. (eds): Forages vol 1. An Introduction to Grassland Agriculture. 5<sup>th</sup> ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press, pp. 217–226.
- Taylor N. L., Quarles R. F. & Anderson M. K. (1980): Methods of overcoming interspecific barriers in *Trifolium*. *Euphytica* 33: 431–441.
- Tolasz R., Míková T., Valeriánová A., Voženílek V. (2007): Atlas podnebí Česka. – Český hydrometeorologický ústav, Praha.
- Truhlářová E., Smutná P. & Středa T. (2012): Poškození odrůd ozimé pšenice po zimním období 2011/2012 v Žabčicích. In: Neudert L. & Smutný V.: MendelAgro 2012. Sborník odborných příspěvků a sdělení. 14.6.2012 Žabčice.
- Užík M., Vacek V., Tomašovičová A., Bareš I., Sehnalová J., Blahout J. (1985): Klasifikátor genus *Trifolium* L. VÚRV Praha-Ruzyně, Genové zdroje č. 23
- Užík M., Žofajová A. (1997): Klasifikácia znakov a odrôd jačmeňa (*Hordeum vulgare* L.). In: Genetické zdroje rastlín: Ročenka, Nitra: SPU: 7-16

- ÚKZUZ (2014): Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský - Výroční zpráva za sklizňový rok 2013. <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/osivo-a-sadba/publikace/vyrocni-zprava-semenarske-kontroly/vyrocni-zprava-za-skliznovy-rok-2013-1.html>. Stránka navštívena dne 10.7.2015.
- Vacek V., Mrázková V., Sestrienka A., Sehnalová J., Bareš I. & Hájek D. (1985): Descriptor's list of the genus *Medicago* L. Genetic resources 22. Research Institute of Crop Production Praha-Ruzyně.
- Vacek V., Schmied M., Hájek D. & Kristek J. (1971): Klasifikátor pro popisy odrůd víceletých kulturních druhů rodu *Medicago* L. Záv. zpráva VSP Troubsko, 118 s., 11 obr.
- Venuto B. C., Smith R. R., Grau C. R. (1995): Virulence, legume host specificity, and genetic relatedness of isolates of *Fusarium oxysporum* from red clover. *Plant Dis.* 79: 406–410.
- Vymyslický T. & Hejduk S. (2015): Effect of different sowing rates on forage yields in selected perennial legumes and their germination under increased osmotic pressure. *Acta Univ. Agric. & Silvic. Mendel. Brun.* (odesláno do redakce).
- Vymyslický T., Pelikán J., Gottwaldová P. & Nedělník J. (2010): The Czech core collection of *Trifolium repens* L. – In: Christian Huyghe (ed): Sustainable Use of Genetic Diversity in Forage and Turf Breeding. Springer, 167–172.
- Vymyslický T., Pelikán J., Gottwaldová P., Nedělník J. (2006): The Czech national core collection of *Trifolium pratense*. – In: Proceedings of the Eucarpia conference „Breeding and seed production for conventional and organic agriculture“, Perugia, Italy, 3-7.9.2006: 200–205.
- Vymyslický T., Pelikán J., Knotová D., Raab S. & Nedělník J. (2014): The czech core collection of *Medicago* spp. – In: Ed. Sokolović D.: Quantitative traits breeding for multifunctional grasslands and turf. Springer, 109–116.
- Vymyslický T., Šmarda P., Pelikán J., Cholastová T., Nedělník J., Moravcová H., Pokorný R., Soldanova M. & Polakova M. (2012): Evaluation of the Czech core collection of *Trifolium pratense*, including morphological, molecular and phytopathological data. *Afr. J. Biotechnol.* 11 (15): 3583–3595.
- Wang Y. R., Yu L. & Nan Z. B. (1996): Use of seed vigour test to predict field emergence of lucerne. *New Zeal. J. Agr. Res.* 39: 255–262.

- Watson L. E., Sayed-Ahmed H. & Badr A. (2000): Molecular phylogeny of Old World *Trifolium* (*Fabaceae*), based on plastid and nuclear markers. *Plant Syst. Evol.* 224. 3/4: 153–171.
- Weihai M., Jinxin Y., Sihachakr D. (2008): Development of core subset for the collection of Chinese cultivated eggplants using morphological-based passport data. *Plant Genet. Resour. Charact. Util.* 6 (1): 33–41.
- Williams W. M., Easton H. S., Jones C. S. (2007): Future options and targets for pasture plant breeding in New Zealand. *N. Z. J. Agric. Res.* 50 (2): 223–248.
- Williams W. M., Ellison N. W., Ansari H. A., Verry I. M. & Hussain S. W. (2012): Experimental evidence for the ancestry of allotetraploid *Trifolium repens* and creation of synthetic forms with value for plant breeding. *BMC Plant Biol.* 12: 55.
- Yap I. V. & Nelson R. J. (1996): WINBOOT: A program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. IRRI Discussion paper Series No. 14. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Zaccardelli M., Gnocchi S., Carelli M. & Scotti C. (2003): Variation among and within Italian alfalfa ecotypes by means of bio-agronomic characters and amplified fragment length polymorphism analyses. *Plant Breed.* 122: 61–65.
- Zhang X., Zhang Y. J., Yan R., Han J. G., Fuzeng H., Wang J. H. & Cao K. (2010): Genetic variation of white clover (*Trifolium repens* L.) collections from China detected by morphological traits, RAPD and SSR. *Afr. J. Biotechnol.* 9(21): 3032–3041.
- Zohary M. & Heller D. (1984): The Genus *Trifolium*. The Israel Academy of Sciences and Humanities, pp. 606.

## **10. SEZNAM TABULEK V TEXTU**

Tabulka 1: Počty genetických zdrojů testovaných na pracovišti v Troubsku. Strana 24

Tabulka 2: Položky získané individuálními sběry a v rámci sběrových expedic.  
Strana 25

Tabulka 3: Počty hodnocených původů a položek zařazených do „core kolekcí“.  
Strana 27

Tabulka 4: Přehled zpracovaných klasifikátorů. Strana 27

Tabulka 5: Počty předaných pasportních a popisných dat do centrální evidence EVIGEZ  
a počty vzorků předaných do GB celkově a za dobu řešení Národního programu.  
Jsou uvedeny všechny položky včetně nedostupných, chráněných a pracovní  
kolekce. Strana 28

Tabulka 6: Klimatická data z meteorologické stanice v Troubsku z let 2005-2007.  
Měsíce, které byly alespoň o 1 °C teplejší než dlouhodobý průměr, jsou označeny  
červenou barvou. Modrou barvou jsou označeny alespoň o 1 °C chladnější  
měsíce. Červenou barvou jsou vyznačeny měsíce se srážkovým úhrnem nižším  
než 90 % normálu. Modrou barvou jsou vyznačeny měsíce s více než 110%  
úhrnem srážek. Strana 39

Tabulka 7: Základní charakteristiky osiv testovaných druhů. Strana 54

Tabulka 8: Klimatická data z lokalit Troubsko a Žabčice pro období IX.2011 -  
VIII.2012 a dlouhodobé průměrné hodnoty za období 1990-2015. Strana 55

Tabulka 9: Testované koncentrace PEG a jejich výsledný osmotický tlak. Strana 56

Tabulka 10: Česká národní core kolekce druhu *Trifolium pratense*. Pořadí položek  
v tabulce je shodné s pořadím ve výše uvedeném dendrogramu (Obrázek 12).  
Strana 59

Tabulka 11: Česká core kolekce komplexu *Medicago* spp. Pořadí položek v tabulce je  
shodné s pořadím v níže uvedeném dendrogramu (Obrázek 17). Strana 64

Tabulka 12: Česká core kolekce druhu *Trifolium repens*. Pořadí položek v tabulce je  
shodné s pořadím ve výše uvedeném dendrogramu (Obrázek 18). Strana 68

Tabulka 13: Rozdíly mezi diploidy a tetraploidy v rámci morfologických znaků.  
Rozdíly označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$  po  
aplikování Bonferroniho korekce. Strana 69–70

Tabulka 14: Některé výnosové charakteristiky získané během hodnocení individuálních rostlin. V tabulce jsou prezentovány průměry z 10 hodnocených rostlin.  
Strana 71–72

Tabulka 15: Úroveň rezistence položek v core kolekci. Strana 76–77

Tabulka 16: Vliv druhů, lokalit a výsevků na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ .  
Strana 82

Tabulka 17: Výnosy suché píce v  $t.ha^{-1}$  v Troubsku a v Žabčicích v roce 2012.

Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 2,7. Tabulka je seřazena vzestupně podle dosažených výnosů. Strana 83

Tabulka 18: Rozdíly ve výnosech mezi jednotlivými hodnocenými druhy, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 83

Tabulka 19: Výnosy suché píce v  $t.ha^{-1}$  u jednotlivých hodnocených druhů. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 1,18. Strana 83

Tabulka 20: Rozdíly ve výnosech mezi jednotlivými pokusnými lokalitami, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 84

Tabulka 21: Výnosy suché píce v  $t.ha^{-1}$  na jednotlivých pokusných lokalitách. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 0,61. Strana 84

Tabulka 22: Rozdíly ve výnosech u jednotlivých hodnocených druhů na pokusných lokalitách, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 84

Tabulka 23: Rozdíly ve výnosech u jednotlivých hodnocených druhů na pokusných lokalitách. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 0,74. Strana 85

Tabulka 24: Vliv druhů, lokalit a výsevků na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 86

Tabulka 25: Výnosy suché píce v t.ha<sup>-1</sup> v Troubsku v roce 2013. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 1,08. Tabulka je seřazena podle dosažených výnosů. Strana 87

Tabulka 26: Vliv hodnocených druhů, lokalit a výsevků na pokryvností porostů jetelovin, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05. Strana 89

Tabulka 27: Pokryvnost hodnocených druhů (%). Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 2. Tabulka je seřazena podle průměrné pokryvnosti. Strana 89

Tabulka 28: Rozdíly v pokryvnostech jednotlivých druhů jetelovin bez ohledu na výsevky, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05. Strana 89

Tabulka 29: Rozdíly v pokryvnostech jednotlivých druhů (%) jetelovin bez ohledu na výsevky. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 8,2. Strana 90

Tabulka 30: Vliv výsevního množství na pokryvnost hodnocených druhů (%), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05. Strana 90

Tabulka 31: Korelační koeficienty mezi pokryvností a výnosem píce hodnocených druhů. Průkaznost koeficientů byla počítána na hladině významnosti p>0,05. Strana 90

Tabulka 32: Vliv druhů a koncentrací PEG na klíčivosti, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05. Strana 91

Tabulka 33: Klíčivosti při různých koncentracích PEG. Tabulka je seřazena podle koncentrací PEG. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti p>0,05. Nejmenší statisticky významný rozdíl = 16,25. Tabulka je seřazena podle testovaných koncentrací PEG. Koncentrace 0,6 a 0,7 nejsou v tabulce uváděny, protože při nich osivo neklíčilo. Strana 92

Tabulka 34: Vliv koncentrací PEG na dosažené hodnoty klíčivosti bez ohledu na hodnocený druh, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti P<0,05. Strana 93

Tabulka 35: Vliv koncentrací PEG na dosažené hodnoty klíčivosti bez ohledu na hodnocený druh. Tabulka je seřazena podle koncentrací PEG. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 25,57. Strana 94

Tabulka 36: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na  $m^2$ , výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 95

Tabulka 37: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na  $1 m^2$ , datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 22,04. Strana 95

Tabulka 38: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na  $m^2$ , bez ohledu na hodnocený druh, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 96

Tabulka 39: Vliv termínu výsevu na počet rostlin na  $m^2$ , bez ohledu na hodnocený druh, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 8,04. Strana 96

Tabulka 40: Počty rostlin na  $m^2$  v závislosti na hodnoceném druhu, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 96

Tabulka 41: Počty rostlin na  $m^2$  v závislosti na hodnoceném druhu, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 6,85. Strana 96

Tabulka 42: Vliv termínu výsevu na fenologickou fázi (BBCH stupnice), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 97

Tabulka 43: Vliv termínů výsevu na fenologickou fázi (BBCH stupnice) u testovaných druhů, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17. Strana 97

Tabulka 44: Vliv měsíce výsevu na vegetativní fázi (BBCH stupnice), výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 98

Tabulka 45: Vliv měsíce výsevu na vegetativní fázi (BBCH stupnice), datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17. Strana 98

Tabulka 46: Rozdíly ve vegetativních fázích (BBCH stupnice) u jednotlivých hodnocených druhů, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 98

Tabulka 47: Rozdíly ve vegetativních fázích (BBCH stupnice) u jednotlivých hodnocených druhů, datum hodnocení 25.5.2011. Statistická významnost rozdílů byla testována Tukeyho testem na hladině významnosti  $p>0,05$ . Nejmenší statisticky významný rozdíl = 17. Strana 98

Tabulka 48: Vliv termínu výsevu na výnosy suché píce, výsledky ANOVA. Hodnoty p označené \* jsou signifikantní na hladině významnosti  $P<0,05$ . Strana 99

## **11. SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ V TEXTU**

Obrázek 1: *Trifolium alpestre* – planý druh jetele rostoucí na suchých kyselých půdách v teplých oblastech ČR. České Středohoří, Hradišťanská louka, suchomilný stepní trávník, 20.7.2004. © Tomáš Vymyslický. Strana 16

Obrázek 2: *Medicago prostrata* – vojtěše seté příbuzný planý druh s vysokou mírou suchovzdornosti. Moravský Krumlov, vápnomilná stepní vegetace na slepencích, 19.8.2003. © Tomáš Vymyslický. Strana 19

Obrázek 3: Diverzita kvetoucích rostlin druhu *Medicago sativa* v individuálních výsadbách v rámci DUS testů. Stanice ÚKZUZ, Brno-Chrlice, 20.6.2008. © Tomáš Vymyslický. Strana 26

Obrázek 4: Semenáčky druhu *Medicago sativa* v sadbovačích ve skleníku v Troubsku, 25.3.2005. © Tomáš Vymyslický. Strana 42

Obrázek 5: Malé rostliny druhu *Medicago sativa* na poli v Troubsku, 20.6.2005. © Tomáš Vymyslický. Strana 42

Obrázek 6: Ukázka z českého národního klasifikátoru pro rod *Medicago*. Strana 44

Obrázek 7: Hodnocení morfologických znaků na suchých rostlinách se zralými semeny v laboratoři, 3.1.2007. © Tomáš Vymyslický. Strana 45

Obrázek 8: Malé rostliny druhu *Trifolium repens* na poli v Troubsku, 27.7.2006. © Tomáš Vymyslický. Strana 46

Obrázek 9: Polní pokus s různými původy druhu *Trifolium repens* v Troubsku. © Tomáš Vymyslický. Strana 47

Obrázek 10: Individuální kvetoucí rostlina druhu *Trifolium pratense*, Troubsko, 3.6.2005. © Tomáš Vymyslický. Strana 48

Obrázek 11: Zavlažený pokus s netradičními termíny výsevů jetelovin, Troubsko, 27.9.2011. © Tomáš Vymyslický. Strana 57

Obrázek 12: Dendrogram pro 209 položek druhu *Trifolium pratense*. Čísla 2 a 4 před názvem původu označují ploidní úroveň. Strana 60

Obrázek 13: Individuální rostliny druhu *Trifolium pratense* na poli, 14.12.2004 (rok výsadby). © Tomáš Vymyslický. Strana 61

Obrázek 14: Individuální rostliny druhu *Trifolium pratense* v polní výsadbě, sklizeň a hodnocení, dne 3.6.2005. © Tomáš Vymyslický. Strana 61

Obrázek 15: Individuální rostliny *Medicago sativa* na poli, před hodnocením a sklizní biomasy, 10.5.2006. © Tomáš Vymyslický. Strana 62

- Obrázek 16: Individuální rostliny druhu *Medicago sativa*, kvetoucí ve druhém nárůstu, 27.7.2006. © Tomáš Vymyslický. Strana 63
- Obrázek 17: Česká core kolekce komplexu *Medicago sativa*. Vzhledem k vysokému počtu shlukovaných položek (celkem 457) a grafickým možnostem je obrázek pouze ilustrativní. Strana 65
- Obrázek 18: Dendrogram pro 161 položek druhu *Trifolium repens*. Strana 67
- Obrázek 19: Hodnocení morfologických znaků na rostlině druhu *Trifolium pratense* v laboratoři, 3.6.2005. © Tomáš Vymyslický. Strana 73
- Obrázek 20: Dendrogram morfologických znaků použitých pro zhodnocení české core kolekce druhu *Trifolium pratense*. Strana 73
- Obrázek 21: Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense* vytvořený na základě morfologických dat. Strana 75
- Obrázek 22: Dendrogram položek zahrnutých do české národní core kolekce druhu *Trifolium pratense* vytvořený na základě molekulárních dat. Strana 75
- Obrázek 23: Dendrogram položek české kolekce druhu *Lotus corniculatus*. Strana 79
- Obrázek 24: Dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium hybridum*. Strana 80
- Obrázek 25: Dendrogram položek české kolekce druhu *T. alexandrinum*. Strana 81
- Obrázek 26: Dendrogram položek české kolekce druhu *Trifolium resupinatum*. Strana 82
- Obrázek 27: Polní pokus v Troubsku, situace na podzim v roce zásevu (27.9.2011). © Tomáš Vymyslický. Strana 85
- Obrázek 28: Polní pokus v Žabčicích, situace na podzim v roce zásevu (27.9.2011). © Tomáš Vymyslický. Strana 86
- Obrázek 29: Polní pokus v Troubsku, rovnoměrné obrůstání na začátku prvního užitkového roku (6.4.2012). © Tomáš Vymyslický. Strana 87
- Obrázek 30: Polní pokus v Žabčicích, jsou patrné rozdíly v obrůstání i pokryvnostech na začátku prvního užitkového roku (6.4.2012). © Tomáš Vymyslický. Strana 88
- Obrázek 31: Rozdíly v pokryvnostech mezi druhy *Trifolium pratense* a *Onobrychis viciifolia* za podmínek dlouhodobého sucha, Žabčice, 20.5.2012. © Stanislav Hejduk. Strana 91
- Obrázek 32: Vliv koncentrace PEG na klíčivost u čtyř zkoušených druhů. Intervalové odhadu středních hodnot ( $P = 0,95$ ) jsou označeny úsečkami. Strana 93
- Obrázek 33: Rozdíly mezi druhy *Medicago sativa* a *Trifolium pratense* za podmínek velkého sucha, Žabčice, 20.5.2012. © Stanislav Hejduk. Strana 107

## **12. SEZNAM ZKRATEK POUŽITÝCH V TEXTU**

ADF – Acido detergent fibre, kyselá detergentní vláknina

ADL – Acido detergent lignin, kyselý detergentní lignin

AFLP – Amplified fragment length polymorphism, polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů

AGD – Average grade of disease, průměrný stupeň napadení

AMV – Alfalfa mosaic virus, virus mozaiky vojtěšky

ANOVA – Analysis of variance, analýza variance

AUS – Austrálie

AUT – Rakousko

BBCH – stupnice fenologických fází

BGR – Bulharsko

BYMV – Bean yellow mosaic virus, virus žluté mozaiky fazolu

CAN – Kanada

C<sub>ox</sub> – Oxidisable carbon content, obsah rozložitelného uhlíku

CSK – Československo

CWR – Crop wild relatives, plané příbuzné druhy

CZE – Česká republika

ČSOP – Český svaz ochránců přírody

DAI – Days after inoculation, dny po inokulaci

DDR – Německá demokratická republika

DDR/HUN – Německá demokratická republika/Maďarsko

DEU – Spolková republika Německo

DF – Degrees of freedom, stupně volnosti

DNA – Deoxyribonucleic acid, deoxyribonukleová kyselina

DNK – Dánsko

ESP – Španělsko

EURISCO – databáze poskytující informace o *ex situ* kolekcích rostlin udržovaných v Evropě

EVIGEZ – Evidence genetických zdrojů

F – hodnota F testu

FAO – Food and Agriculture Organization, Organizace pro výživu a zemědělství

FIN – Finsko

FRA – Francie  
GB – genová banka  
GBR – Velká Británie  
GRC – Řecko  
GRIN – Germplasm Resources Information Network  
HRV – Chorvatsko  
HS – vysoce náchylný  
HTS – hmotnost tisíce semen  
HUN – Maďarsko  
CHE – Švýcarsko  
CHKO – chráněná krajinná oblast  
ICARDA – International Center for Agricultural Research in the Dry Areas  
IPK – Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung  
IPP – Infected plants percentage, procenta infikovaných rostlin  
IRL – Irsko  
ITA – Itálie  
JPN – Japonsko  
LTA – Litva  
LTU – Lotyšsko  
MAS – Marker assisted selection, výběr za pomoci markerů  
MPa – megapascal  
MS – Mean susceptible, středně náchylný  
NDF – Neutral detergent fibre, neutrálně detergenty vláknina  
NIRS – Near Infra Red Spectrum, blízké infračervené spektrum  
NLD – Nizozemí  
NOR – Norsko  
NP – národní park  
NZL – Nový Zéland  
OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development, Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj  
P – hodnota pravděpodobnosti  
PCR – Polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce  
PEG – polyethylenglykol  
PIC – Polymorphic informative content, polymorfní informační obsahu

POL – Polsko

R – resistant, rezistentní

RAPD – Random Amplification of Polymorphic DNA, náhodná amplifikace polymorfní DNA

ROM – Rumunsko

S – susceptible, náchylný

SSR – Simple Sequence Repeat, krátké tandemové repetice čili mikrosateliity

SUN – Svaz sovětských socialistických republik

SVK – Slovensko

SVN – Slovinsko

SWE – Švédsko

UPGMA – Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, jednoduchá aglomerativní metoda hierarchického shlukování

USA – Spojené státy americké

USDA – the U.S. Department of Agriculture

USDA-ARS – the U.S. Department of Agriculture – Agricultural Research Service

VIR – N.I.Vavilov Institute of plant genetic resources

YUG – Jugoslávie

ZAF – Jihoafrická republika