

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

**Návrh schématu výsadby semenných sadů na bázi
panmiktického modelu**

Diplomová práce

Autor: Bc. Kateřina Chaloupková

Vedoucí práce: prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc., Ph.D.

2016

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Kateřina Chaloupková

Lesní inženýrství

Název práce

Návrh schématu výsadby semenných sadů na bázi panmiktického modelu

Název anglicky

Proposal of a new seed orchard layout assuming panmictic model

Cíle práce

Cílem práce je nalezení a následná algoritmizace metody, jejímž prostřednictvím by bylo možné přiblížit se, v rámci prostorového uspořádání semenných sadů ideálnímu, panmiktickému systému rozmnožování mezi nepříbuznými klony. Panmiktický stav, je pro účely této práce definován jako situace, kdy spolu všechny přítomné klony přímo sousedí se stejnou četností. Dále je cílem popis metody využívající globální přiřazovací algoritmus, tzv. „MI design“, pro schémata zahrnující klonové řady, kde oproti současným algoritmům očekáváme efektivnější separaci příbuzných klonů, nebo naopak jejich efektivní slučování, při požadavku na pozitivní asortativní křížení. Takto transformovaný „MI design“ bude propojen s panmiktickým modelem. Výsledné, hybridní schéma by v sobě mělo zahrnovat výhody obou přístupů.

Metodika

Hledání nové, univerzální metody řešící zadaný problém. Následná algoritmizace a testování. Porovnání výsledků s teoretickou referenční hladinou (minimální rozptyl). Aplikace výsledného modelu pro optimalizaci schématu konkrétního semenného sadu (*Pinus taeda* L.). Příprava vlastní diplomové práce, výstupem originální metodiky je též vědecký článek v impaktovaném vědeckém periodiku.

Doporučený rozsah práce

cca 60-80 stran textu, tabulek a grafů

Klíčová slova

semenné sady, šlechtění lesních dřevin, kvadratická přiřazovací úloha, panmiktická populace

Doporučené zdroje informací

- El-Kassaby Y.A., Fayed M., Klápště J., Lstibůrek M. (2014). Randomized, replicated, staggered clonal-row (R2SCR) seed orchard design. *Tree Genetics and Genomes* 10: 555-563.
- Lstibůrek M., El-Kassaby Y.A. (2010). Minimum Inbreeding Seed Orchard Design. *Forest Science* 56(6): 603–608.
- Lstibůrek M., Stejskal J., Misevicius A., Korecký J., El-Kassaby Y.A. (2015). Expansion of the Minimum-Inbreeding seed orchard design to operational scale. *Tree Genetics and Genomes* 11: 12.
-

Předběžný termín obhajoby

2015/16 LS – FLD

Vedoucí práce

prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

Konzultant

Ing. Jan Stejskal, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 4. 3. 2016

prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 4. 3. 2016

prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 15. 04. 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Návrh schématu výsadby semenných sadů na bázi panmiktického modelu vypracovala samostatně, pod vedením prof. Milana Lstibůrka a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne 15. 4. 2016

Chaloupková

Poděkování

Děkuji především vedoucímu práce panu prof. Milanu Lstibůrkovi za jeho odborné vedení, vstřícný přístup a možnost spolupráce a panu doc. Petru Lachoutovi z MFF Univerzity Karlovy v Praze za konzultaci navrženého algoritmu. Dále děkuji Dr. Janu Stejskalovi za poskytnuté informace a cenné rady. Děkuji i mé nejbližší rodině za podporu, kterou mi poskytovala v době celého studia, a to mému bratru Josefovi za jeho postřehy k vybrané problematice. Mé díky patří i České zemědělské univerzitě za to, že mi umožnila vzdělání v oboru, který jsem si zvolila.

Abstrakt

Práce popisuje nový, panmiktický model schématu semenných sadů lesních dřevin, který lze využít buď samostatně, či v kombinaci s již existujícími designy bez toho, aby jakkoli ztrácel na svojí efektivitě. Zde se jedná konkrétně o kombinaci s tzv. „Minimum Inbreeding“ designem. Problematika zakládání semenných sadů a význam dosažení panmixie a minimalizace příbuzenského křížení v populaci semenného sadu jsou popsány v teoretické části práce. Výsledný algoritmus definuje panmiktickou situaci v semenném sadu jako stav, kdy spolu všechny klony v rámci sadu přímo sousedí se stejnou četností. K docílení tohoto stavu byl využit vzorec pro výpočet rozptylu, který je minimalizovanou kriteriální funkcí. Algoritmus byl naprogramován v jazyku R a následně testován pro různé typy zadání, zahrnující vyrovnané i nevyrovnané počty ramet dílčích klonů a různé velikosti a tvary (obdélníkové a neobdélníkové plochy) sadu. Pro hodnocení výsledných řešení byla pro každé z nich stanovena vlastní referenční hladina - tzv. teoretický minimální rozptyl. Celý model je schopen řešit všechny zmíněné situace a je značně efektivní především v případě vyrovnaných počtů klonů, kdy je často již při první iteraci nalezeno velice kvalitní řešení zadané úlohy. Dále práce hodnotí efektivitu MI schématu v případě použití klonových řad. Konečným výsledkem je schéma semenného sadu zahrnující klonové řady předdefinované pomocí „MI designu“, které byly „obtečeny“ panmiktickým algoritmem, přičemž bylo optimalizováno i okolí těchto řad. Toto schéma bude použito pro založení semenného sadu druhu *Abies fraseri* v Severní Karolíně v rámci NCSU Christmas Tree Genetics Program. V závěru práce jsou shrnuty možné další úpravy celého algoritmu, jako například zahrnutí lokálních separačních zón, nebo asortativního (preferenčního) křížení.

Klíčová slova

semenné sady, šlechtění lesních dřevin, panmiktická populace, kvadratická přiřazovací úloha

Abstract

The new panmictic model of seed orchard scheme for forests trees is described in this thesis. It can be used either alone or in combination with existing designs without losing efficiency. In this case it is combined with „Minimum Inbreeding“ design. The establishment of seed orchards and importance of achieving panmixy and minimizing inbreeding in the population of seed orchard are described in the theoretical part. The resultant algorithm defines panmictic situation as a situation where close neighborhoods of all possible combinations of clones occur within the seed orchard grid with the same frequency. To achieve this we developed a formula for variance that is minimized as a criterion function. The algorithm has been programmed in R and it was tested for different tasks including balanced or unbalanced numbers of clones and different sizes or shapes (rectangular or non-rectangular shape) of orchard. The model is able to solve all of these situations, and it is very effective especially in the case of balanced numbers of clones. Optimal solution of the given task was often found at the first iteration. To evaluate the relative quality of resulting schemes theoretic proxy to level of maximum panmixy was defined for every specific task- the Theoretical minimum variance. The effectiveness of MI scheme combined with clonal rows was also evaluated. The result is a hybrid scheme with predefined MI clonal rows surrounded by panmictic algorithm, while close neighborhood of clonal rows was also optimized. This scheme will be used for the establishment of *Abies fraseri* seed orchard in North Carolina under NCSU Christmas Tree Genetics Program. Another possible modifications of the algorithm, such as the inclusion of local separation zones or assortative mating are summarized in conclusions.

Keywords

seed orchards, tree improvement, panmictic population, quadratic assignment problem

Obsah

Seznam tabulek, obrázků, schémat a grafů.....	9
Cíle práce.....	11
1. Semenné sady a jejich význam	12
1.1. Sady v ČR a ve světě	13
1.2. Legislativa ČR	14
1.3. Typy semenných sadů.....	16
2. Zakládání semenných sadů.....	18
2.1. Zeměpisná poloha semenného sadu.....	19
2.2. Kritéria designu semenných sadů	21
2.3. Vyšší generace semenných sadů.....	22
2.3.1. Šlechtitelský cyklus	23
2.3.2. Přejchod na vyšší generace sadů.....	25
2.3.3. Testy potomstev	25
2.4. Genetický zisk a genetická diverzita	28
3. Prostorové designy semenných sadů.....	31
3.1. Inbríding a panmixie.....	32
3.2. Systémy rozmnožování dřevin.....	34
3.3. Existující designy.....	36
4. Metodika.....	39
4.1. Panmiktický algoritmus	39
4.2. Hybridní schéma s využitím MI designu	47
4.3. Alternativní přístupy k řešení daného zadání	50
5. Výsledky.....	54
5.1. Panmiktický algoritmus	54
5.2. Hybridní schéma s využitím MI designu	59
6. Diskuse.....	63
7. Závěr	67
Seznam literatury a použitých zdrojů.....	68
Seznam příloh.....	74
Přílohy.....	75

Seznam tabulek, obrázků, schémat a grafů

Tabulky

1. Vzdálenosti šíření pylu různých druhů dřevin z bodového zdroje (Paule 1992).
2. Hodnocení existujících, starších designů podle různých aspektů (Giertych 1975 a Vanclay 1988).
3. Testovaná zadání minimálně panmiktického algoritmu, lišící se ve tvaru sadu, počtu klonů, ramet a ověřených iterací.
4. Váhy separace pro vztahy v rámci příbuzných klonů, v rámci nepříbuzných klonů a mezi příbuznými klony, pro která bylo generováno MI schéma zahrnující klonové řady.
5. Výsledky testování panmiktického algoritmu.* značí zadání, pro něž nebylo generováno pole náhodnou metodou výběru pozice.

Obrázky

1. Klonový semenný sad jilmu habrolistého a jilmu vazu, založený v roce 2003, na LS Strážnice (Mařáková 2013).
2. Definice přímého sousedství pro zvažovanou pozici.
3. Způsob definování okrajů neobdélníkového pole do matice „orchard“.
4. Matice „bestpairs“ pro zadání č. 2 zahrnující 25 klonů po 9 rametách.

Schémat

1. Nárůst genetického zisku s každou následující generací (Zobel a Talbert 1984).
2. Genetický zisk pro tři typy populací v každém ze třech rozdílných šlechtitelských cyklů (White a kol. 2007).
3. Vstupní data pro vytvoření matice „orchard“ při řešení výsledného hybridního schématu.
4. Výsledné rozmístění pro zadání č. 2.
5. Výsledné rozmístění pro zadání č. 8.

6. Výsledná matice „bestpairs“ pro neobdélníkový tvar pole a dopočítaný rozptyl přímých sousedství rozmístěných klonů.
7. Výsledný design pole pro neobdélníkové zadání.
8. Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 25 a mezi příbuznými klony 12,5.
9. Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 25 a mezi příbuznými klony 50.
10. Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 50 a mezi příbuznými klony 75.
11. Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 50 a mezi příbuznými klony 85.
12. Výřez z matice „bestpairs“, zahrnující počty přímých sousedství mezi 20 nepříbuznými klony a dvěma příbuznými klony.
13. Výsledná podoba semenného sadu pro zadání kombinující klonové řady rozmístěné s využitím MI designu a panmiktický algoritmus.

Grafy

1. Vztah mezi relativní genetickou diverzitou a efektivním počtem klonů (Kang a Lindgren 1998).
2. Vztah mezi pozorovanou intenzitou kvetení a odhadnutým stupněm cizosprašení (White a kol. 2007).
3. Vzdálenost mateřských stromů od kontrolního samčího jedince a podíl potomků vzniklých sprášením těchto dvou stromů, přičemž přenos pylu byl zprostředkován: a) větrem ve 120 let starém porostu borovice lesní a b) hmyzem v porostu *Cordia alliodora* (White a kol. 2008).
4. Porovnání efektivity algoritmu při systematickém a náhodném vyplňování plochy pro zadání č. 8 zahrnující nevyrovnané počty klonů.
5. Porovnání efektivity algoritmu při systematickém a náhodném vyplňování plochy pro zadání č. 4 zahrnující vyrovnané počty klonů.
6. Čas potřebný pro vygenerování jednoho řešení pro různě velké plochy sadu.

Cíle práce

- Nalezení a algoritmizace metody, jejímž prostřednictvím by bylo umožněno přiblížit se, v rámci prostorového uspořádání (designu) klonových semenných sadů lesních dřevin, panmiktickému systému rozmnožování. Tento nový design podporující náhodné křížení by měl v konečném důsledku zajistit vysokou genetickou diverzitu produkovaného osiva, za současného dosažení požadovaného genetického zisku.
- Popis nového způsobu využití již existujícího Minimum Inbreeding designu (MI design) zahrnující klonové řady. Tento přístup by měl především umožnit efektivnější separaci či slučování ramet příbuzných klonů na ploše sadu.
- Propojení nově vytvořeného panmiktického modelu s MI designem, přičemž lze očekávat, že toto hybridní schéma bude zahrnovat výhody obou přístupů.
- Aplikace výsledného modelu pro optimalizaci schématu konkrétního semenného sadu (*Pinus taeda L.*).

1. Semenné sady a jejich význam

V odborné literatuře se lze setkat s celou řadou definic semenných sadů, které jsou však ve své podstatě obdobné. Například Paule (1992) uvádí, že semenné sady jsou účelové výsadby, které vznikly jako potomstvo pro šlechtění a produkci geneticky vysoce hodnotného semene. White a kol. (2007) charakterizují semenné sady jako výběr selektovaných klonů, nebo rodin, založený na jedné lokalitě a obhospodařovaný za účelem produkce geneticky vylepšeného osiva pro provozní lesnictví. Zobel a Talbert (1984) ve své definici navíc zdůrazňují ekonomickou efektivitu a časovou úsporu při získání úrody kvalitního semene. Kromě výše popsanych definic se semenné sady dají charakterizovat také jako spojnice mezi šlechtěním lesních dřevin a provozním lesnictvím (Lstibůrek a El-Kassaby 2010), a tudíž bývají nejčastěji zakládány pro druhy hospodářsky významných dřevin (Kaňák a kol. 2008).

Z poslední uvedené definice vyplývá, že ve vztahu k provoznímu lesnictví jsou v podstatě završením jednoho, nebo několika cyklů šlechtitelského programu, který zahrnuje zdrojové populace, výběrové populace a šlechtitelské populace a může, či nemusí obsahovat populace produkční, tedy například právě semenný sad (White a kol. 2007). Z tohoto důvodu je třeba zmínit i nejčastější cíle šlechtitelských programů, které se v produkčním lesnictví mohou realizovat díky genetickému zisku dosaženému právě prostřednictvím využití kvalitního osiva ze semenných sadů (Paule 1992). Mezi tyto cíle patří, v závislosti na konkrétním druhu dřeviny, dle Pauleho (1992), zvýšení produkce dřevní hmoty, co se týče kvality nebo kvantity a zvýšení odolnosti proti biotickým a abiotickým činitelům. Anderson (1999) definuje 4 typy cílů, a to nutnost zaměřit se na dosažení produkce osiva vhodné fyziologie, zajištění adaptability reprodukčního materiálu, navýšení genetické hodnoty hospodářsky významných znaků, a také zachování genetické diverzity v přírodních i hospodářských lesích.

Kromě již zmíněné produkce kvalitního osiva spočívá význam semenných sadů také v ochraně a reprodukci genofondu. Tento aspekt se stává v posledních letech stále významnějším, především ve vztahu k probíhajícím změnám klimatu (Kaňák a kol. 2008). Zejména pro pokročilé generace, které jsou v současnosti zakládány stále častěji, je však nutné hledat kompromis mezi genetickým ziskem a genetickou diverzitou (Kang 2001).

Semenné sady samozřejmě nejsou jediným možným zdrojem osiva pro obnovu lesních porostů. Je možné ho sbírat i z individuálních, fenotypově vhodných jedinců, z kvalitních stanovišť, z produkčních oblastí, nebo z osvědčených zdrojů (Zobel a Talbert 1984). Avšak například studie z oblasti severního a jižního Švédska, která prostřednictvím několika testovacích ploch porovnávala kvalitu výsadeb založených ze sazenic vzešlých ze semene z výběrových porostů, a ze semenných sadů, jasně poukazuje na fakt, že semeno pocházející ze sadu je kvalitnější a produkuje tak v tomto případě v průměru o 9% vyšší sazenice, než semeno pouze z výběrového porostu (Wennström a kol. 2007). K podobným výsledkům při porovnávání kvality osiva ze semenného sadu první generace s přirozenými porosty dospěli i Kobliha a Funda (2004). Semena ze sadu byla v tomto případě o 10% kvalitnější. V případě semenného sadu druhé generace až o 25%. Zavadil (1982) předpokládá, že porosty založené z osiva původem ze semenného sadu budou v budoucnu vykazovat výnos nejméně o 10% až 15% vyšší, než porosty založené z osiva z uznaných porostů.

1.1.Sady v ČR a ve světě

První semenný sad byl založen ve Švédsku v roce 1947. Jednalo se o borovici lesní. Zde byl také již v roce 1936 zřízen první Institut pro šlechtění dřevin. Do 70. let minulého století existovalo ve Švédsku celkem 547 ha sadů borovice lesní (Češka 2014). Například v Turecku dnes zaujímají semenné sady již plochu 1200 ha a s celkovým počtem výsadeb 174 (Murat a kol. 2007). Ve Finsku zahrnují semenné sady borovice lesní a smrku ztepilého celkovou plochu 900 ha (Haapanen 2007). V Chorvatsku, oproti tomu, zabírají klonové, tedy nejčastěji se vyskytující sady, pouze 62 ha. V Polsku je jejich celková výměra 735 ha (Kowalczyk a Lindgren 2012). V celém světě jsou, co se týče úrovně šlechtitelských programů a plochy, sadů značné rozdíly. Komplexní informace o genetických jednotkách, kterými jsou například provenience, potomstva, klony či odrůdy, a také o genetických experimentech, mezi něž řadíme kromě semenných sadů také klonové archivy, nabízí Evropská databáze Treebreedex. Data v této databázi jsou sbírána již po dobu 50 let a jsou pravidelně aktualizována. Databáze obsahuje také charakteristiky konkrétních sadů (Treebreedex.eu). Dále má každá země většinou svůj registr semenných sadů. Pro

Velkou Británií je to například National Register of Approved Basic Material for Great Britain (Forestry.gov.uk.).

V ČR byla v roce 1956 založena první pokusná výsadba roubovanců modřínu opadavého. Poté následovala éra zakládání semenných sadů borovice lesní, následně, v poslední čtvrtině 20. století éra sadů smrku ztepilého. V nedávné minulosti vznikalo nejvíce nových sadů především pro listnaté dřeviny. Objevují se i snahy o zakládání semenných sadů dříve opomíjených dřevin, jako jsou například jilm drsný, třešeň ptačí, javor klen, lípa malolistá, jilm vaz a další. Všechny v současnosti zřizované sady mají společné charakteristické vlastnosti, kterými je jejich relativně malá výměra do 1,5 ha a umístění "in situ" (Rambousek 2003). Největší rozlohu zaujímají v ČR sady borovice lesní (120 ha), dále modřínu opadavého (85 ha) a následně smrku ztepilého (68 ha). Ke konci roku 2006 bylo na území ČR evidováno 146 semenných sadů (Musil a kol. 2007), ale k začátku roku 2016 jich již bylo, podle Evidence reprodukčního materiálu lesních dřevin, pouze 92 což je zapříčiněno tím, že semenné sady bývají jako zdroj reprodukčního materiálu uznávány na omezené období. Průběžně aktualizovaný seznam sadů je k dispozici v této veřejné, online přístupné databázi, ve které je zároveň uveden druh dřeviny, přírodní lesní oblast, výškové pásmo, umístění podle kraje, vlastník a období, na které je konkrétní sad uznán (Eagri.cz). Semenné sady lze také dohledat v Národním seznamu uznaných zdrojů. Ten je však aktualizován pouze jednou ročně (Ukul.cz). Většina sadů v ČR jsou sady klonové, 1. generace (Kaňák 2011). Pouze pro borovici pokroucenou je založen jeden jádrový semenný sad v Krušných horách (Kaňák a kol. 2008). V posledních pěti letech probíhají intenzivní práce na zakládání semenných sadů smrku, borovice, jedle a třešně u podniku Vojenské lesy a statky ČR, s.p. Většina z nich už je v současné době založena a do budoucna se počítá s využitím tohoto reprodukčního materiálu prakticky na všech divizích tohoto podniku (ústní sdělení, J. Stejskal, 19.3.2016).

1.2.Legislativa ČR

Z právního hlediska upravuje problematiku semenných sadů zákon č. 149/2003 o uvádění reprodukčního materiálu do oběhu. Dále pak vyhláška č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin. Kvalifikovaným zdrojům reprodukčního materiálu, tedy i semenným sadům, se věnuje i zákon č.

289/1995 Sb., o lesích a jeho prováděcí vyhláška č. 139/2004 Sb., která se zmiňuje o podmínkách použití reprodukčního materiálu.

Pro sběr osiva lesních dřevin lze v České republice použít pouze uznané zdroje reprodukčního materiálu. Ty dělíme na identifikované, selektované, kvalifikované a testované. Semenné sady prvních generací jsou zdroji kvalifikovaných a sady pokročilých generací již zdroji testovanými (Kotrla a Pařízek 2009).

Sady jsou, jako zdroje reprodukčního materiálu, uznávány teprve s nástupem plodnosti, která obvykle nastává až po 10 či 20 letech. Jejich vlastník je povinen po celou dobu jejich provozu vést stanovenou dokumentaci (Kaňák 2008). Proces založení a uznání sadu zahrnuje následující kroky:

- Vypracování dokumentace semenného sadu podle záměru a cíle.
- Schválení a registrace dokumentace pověřenou osobou.
- Založení semenného sadu podle schválené a zaregistrované dokumentace.
- Podání žádosti k pověřené osobě o odborný posudek.
- Uznání semenného sadu jako zdroje kvalifikovaného reprodukčního materiálu.

Tento postup určuje zákon č.149/2003 o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin a vyhláška č. 29/2004 Sb. Semenný sad podle něj musí před uznáním splňovat požadavky na postup při jeho zakládání, genetickou kvalitu, morfologickou kvalitu, polohu, rozlohu, strukturu, věk, zdravotní stav a stanoviště (Kotrla a Pařízek 2009). Nutný je také zachovaný počet potřebných klonů, z nichž se na reprodukci prokazatelně podílí více než polovina (Kaňák a kol. 2008). Dokumentace semenného sadu musí obsahovat velmi podrobné informace, a to jeho lokalizaci, druh dřeviny, počet klonů s údaji o jejich původu a provenienci, plán výsadby jednotlivých roubovanců, vzdálenost okolních porostů dřeviny téhož druhu a stanovištní podmínky. Tato vyhláška č. 29/2004 svým způsobem definuje i to, na základě jakých charakteristik by měli být vybírání výchozí jedinci pro odběr roubů. Mělo by se podle ní jednat o mimořádně kvalitní stromy dobře přizpůsobené ekologickým podmínkám, které vynikají ve srovnání s jedinci téhož druhu na daném stanovišti v objemové produkci, tvárnosti kmene, větvení, zdravotním stavu a především jsou uznány jako zdroje kvalifikovaného reprodukčního materiálu. Sběr roubů samozřejmě také podléhá právním předpisům a je nutné ho předem ohlásit a následně vystavit potvrzení o jejich

původu. Veškeré změny ve schématu sadu nastalé, ať již v důsledku úhynu a následného doplnění některých roubovanců, či spíše ojedinělé ho zásahu po uznání sadu, musí být povoleny, evidovány a registrovány pověřenou osobou (Kotrla a Pařízek 2009). O konečném uznání sadu, po nástupu jeho plodnosti, rozhoduje kraj. Poslední krok celého procesu vede zároveň k tomu, že je sad zaevidován v ústřední evidenci uznaných zdrojů reprodukčního materiálu (Pařízek 2014).

Podle zákona 149/2003 Sb. je možné, aby si žádost o udělení licence k uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin určeného k obnově lesa a k zalesňování podala jak fyzická osoba splňující podmínky pro její udělení, tak právnická osoba, která ustanoví odpovědného právního zástupce. Těmito podmínkami jsou odborné vzdělání a praxe. Dále tento zákon také pojednává o způsobu ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin prostřednictvím zařazení genetických zdrojů do Národního programu. Ošetřuje i požadavky na uvádění reprodukčního materiálu do oběhu. Definuje i pojem oddíl reprodukčního materiálu, požadavky na postupu sběru reprodukčního materiálu, potvrzení o jeho původu a průvodní list

1.3. Typy semenných sadů

Semenné sady se nejčastěji dělí podle způsobu založení, a to na klonové a jádrové (Zobel a Talbert 1984; Paule 1992 White a kol. 2007; Eriksson a kol. 2007). Lze použít také rozšiřující klasifikaci, která zohledňuje to, zda je klonový sad založen z vegetativních kopií jednoho druhu či provenience, nebo se jedná o biklonální či monoklonální semenný sad (Eriksson a kol. 2007).

Jádrové semenné sady

Tento typ semenných sadů je zakládán ze semenáčků vzniklých volným sprášením, což je z důvodu nižších nákladů častější varianta, nebo kontrolovaným opylením mezi vybranými jedinci. Obvykle se jedná zároveň o testovací výsadbu potomstev a cílem je použití nejlepších stromů jako zdroje semene (Eriksson a kol. 2007). Jádrové semenné sady je možné také využít pro dosažení hned několika cílů na jedné lokalitě zároveň a to tím, že jsou nejprve založeny jako genetické testy a následně převedeny na produkční sady (White a kol. 2007).

Tento typ sadu je vhodné použít u druhů, jejichž jedinci, vzešlí ze semenáčků, kvetou již v nízkém věku, nebo je-li u nich složitá vegetativní propagace. Dále v případech, kdy je materiál pro vegetativní množení těžce dostupný. To se týká především zakládání prvních generací sadů exotických dřevin (White a kol. 2007).

Snaha o kombinaci testů potomstev a produkci semen však často vede ke složitým kompromisům. Semenný sad je buď kvůli objektivitě testů založen na lokalitě, co do přírodních podmínek podobné té, pro kterou je určen jako zdroj semene, nebo je založen naopak pro podporu plodnosti na lokalitě odlišné například vyššími průměrnými teplotami. První případ může vést ke snížení plodnosti a druhý k nepřesným závěrům z hodnocení testů potomstev. Tato specifika a také pozdní nástup kvetení jsou zásadními nevýhodami jádrových semenných sadů (Eriksson a kol. 2007).

Klonové semenné sady

Tyto semenné sady jsou zakládány vegetativně jednou z mnoha dostupných metod - roubování, řízkování, či požití tkáňových pletiv. Jedinci v sadu jsou tedy identickými kopiemi výběrových stromů (Paule 1992). Tyto sady jsou v provozu využívány častěji než sady jádrové (Zobel a Talbert 1984) a obecně jsou nejběžněji používaným zdrojem geneticky vylepšeného osiva pro provozní lesnictví. Například ve Spojených státech vyprodukují ročně množství osiva dostačující pro zalesnění 90% celkové plochy vytěžených jehličnanů (White a kol. 2007).

Klonové semenné sady lze rozdělit podle Eriksson a kol. (2007) dále na mezidruhovové, meziprovenienční a vnitroprovenienční. První typ je určen pro produkci mezidruhovových hybridů, druhý pro získání provenienčních hybridů a třetí pro produkci semen jednoho druhu původem z jedné provenience. Ve Skandinávii existuje i několik specifických biklonálních sadů, které jsou založeny pouze testovanými klony pro vědecké účely. V ČR se s tímto typem sadů můžeme setkat také pouze v rámci výzkumné činnosti. Jedná se například o biklonální sady hybridů druhů *Abies cilicica* a *Abies cephalonica* na stanici Truba (Kobliha a kol. 2012). Monoklonální semenné sady ještě nejsou uvedeny v praxi (Eriksson a kol. 2007).

Klonové sady jsou vhodné jak pro krytosemenné, tak pro nahosemenné dřeviny, ale jsou realizovatelné pouze v případech, kdy je jednoduché získat vegetativní materiál z výběrových stromů pro další množení. Jsou upřednostňovány v případech, kdy daný

druh plodí až ve vyšším věku a kdy je jediným účelem založení sadu právě získání geneticky vhodného osiva (White a kol. 2007). Zobel a Talbert (1984) uvádějí, že tento typ sadů je vhodný pro dřeviny, které začínají kvést v pozdějším věku než je 10 nebo 20 let. Na aspekt rychlého nástupu kvetení při použití vegetativního materiálu z důvodu přenosu vyššího stupně ontogenetického vývoje, upozorňuje například Paule (1992).

Klonové semenné sady jsou, jak již bylo zmíněno, zakládány z vegetativních kopií vybraných jedinců. Tyto jedince nazýváme ortety. Stromy shodného genotypu, tedy vegetativní kopie ortetů, označujeme jako ramety. Jedince se shodným genotypem označujeme též jako klony (White a kol. 2007).



Obr. č. 1: Klonový semenný sad jilmu habrolistého a jilmu vazu, založený v roce 2003 na LS Strážnice (Mařáková 2013).

2. Zakládání semenných sadů

Založení semenného sadu by měl předcházet průzkum ohledně budoucí potřeby reprodukčního materiálu v dané oblasti. Motivací pro založení sadu bývá nejčastěji nedostatek geneticky kvalitního sadebního materiálu. Tím je sledován budoucí

ekonomický přínos z hospodářských porostů, či snaha o záchranu a reprodukci genofondu ohrožených a vzácných dřevin. Tyto dva cíle lze samozřejmě kombinovat. Může se ale jednat i o snahu zjednodušit sběr reprodukčního materiálu, nebo o umožnění křížení kvalitních jedinců, kteří jsou od sebe v přírodních podmínkách příliš vzdáleni (Kaňák a kol. 2008).

Před založením semenného sadu je nutné zvážit jak jeho zeměpisnou polohu, která by měla odpovídat ekologickým nárokům vybrané dřeviny (Kaňák a kol. 2008), tak i další kritéria, jakými jsou počet vybraných genotypů, a v případě klonových sadů i počet jejich vegetativních kopií včetně možných příbuzenských vztahů mezi nimi. Od toho se odvíjí i nutnost optimalizace jejich prostorového uspořádání, tzv. prostorový design sadu (Lstibůrek a El-Kassaby 2010).

2.1. Zeměpisná poloha semenného sadu

Jak pro klonové, tak pro jádrové semenné sady je nutný pečlivý výběr plochy pro jejich založení (White a kol. 2007). Dispozice plochy a spon výsadby by měly umožňovat použití mechanizace. Je tedy nutná i dostupnost po sjízdě komunikaci, rovná plocha a úrodná půda (Kaňák a kol. 2008; Paule 1992). Lokálních klimatických podmínky by měly odpovídat vybrané dřevině. Paule (1992) uvádí, že je nutné věnovat pozornost především půdním živinám, vodnímu režimu a terénu (LVS). Konkrétní obecné požadavky, jako je například středně úrodná půda, uvádí více autorů (Kaňák a kol. 2008; Zobel a Talbert 1984). Eriksson a kol. (2008) popisují ideální lokalitu pro založení sadu jako místo s dobrými světelnými podmínkami, kde se neakumuluje chladný vzduch nebo mlha, a které je chráněno proti převažujícím severním nebo západním větrům.

Co se týče velikosti plochy pro založení sadu, je v současnosti na území ČR nejobvyklejší výměra 1 až 2 ha (Kaňák a kol. 2008). Oproti tomu Paule (1992) uvádí, že se nejedná o limitující faktor a z důvodu racionalizace hospodaření není účelné zakládat sady menší než 1,5 ha. White a kol. (2007) zdůrazňují, že velikost sadu závisí vždy na jeho účelu a může se tedy pohybovat od 1 do 100 ha.

Kontaminace pylem z okolních porostů

Při zakládání semenného sadu je důležité vybírat lokalitu, kde nehrozí riziko kontaminace pylem z okolních porostů. Taková kontaminace vede ke snížení očekávaného genetického zisku, protože selektovaný materiál v sadu je opylován jedinci neznámé, většinou nižší, genetické kvality (White a kol. 2007). Při 100% kontaminaci pylem je tedy genetický zisk pouze poloviční, oproti situaci, kdy ke kontaminaci nedojde (Eriksson a kol. 2007). Tento problém je nejkritičtější u sadů vyšších generací, protože zde existuje vyšší potenciál ztráty genetického zisku (Zobel a Talbert 1984). Paule (1992) doporučuje, v závislosti na velikosti zdroje potenciální kontaminace, šířku isolačního pásu od 1 do 10 km. Je však zřejmé, že ani takováto vzdálenost nemusí být dostačující, protože řada výzkumů dokázala migraci pylu prostřednictvím větru na vzdálenosti od stovek metrů po desítky kilometrů (White a kol. 2007).

Podle Kaňáka (2008) je možné riziko kontaminace nekvalitním pylem alespoň snížit, a to například vhodnými pěstebními zásahy v okolních, druhově shodných porostech. White a kol. (2008) také nabízejí obdobnou alternativu k isolačním zónám, kdy by se v okolí sadu pěstovaly pouze geneticky hodnotnější porosty. Vznikly by tak zóny kvalitního obohaceného pylu. Druhou variantou může být zakládání větších semenných sadů, čímž by se zvýšila jejich produkce pylu a klesl význam kontaminace. Dalším inovativním přístupem ke snížení pylové kontaminace je změna fenologie kvetení sadu oproti okolním porostům. Toho lze docílit například kropením v průběhu zimy, což vede k pozdějšímu nástupu kvetení. Tento postup byl již v praxi úspěšně aplikován. Bohužel je ale velmi nákladný. Paule (1992) zmiňuje i alternativu, kdy je ochrany před kontaminací docíleno založením sadu pod foliovým krytem. Možností je také situovat sad do porostu jiné dřeviny, který tak tvoří jakousi bariéru před migrací pylu z okolních porostů (Kaňák 2008). Kontaminaci dokáže zcela zabánit pouze umístění sadu do skleníku či stanu. S touto metodou se setkáme především ve Švédsku (Torimaru a kol. 2013). Vzdálenost, do které se rozšíří 91% pylu, je pro konkrétní dřeviny uvedena v tabulce č. 1.

Druh	Vzdálenost, ve které se zjistilo 91% pylu (m)
<i>Cedrus atlantica</i>	79
<i>Cedrus libani</i>	48
<i>Fragraxis pennsylvanica</i>	18
<i>Picea abies</i>	42 (zároveň více než 100 m)
<i>pinus edulis</i>	18
<i>Pinus elliotii</i>	75
<i>Pinus sylvestris</i>	67
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	20 (zároveň více než 500 m)
<i>Ulmus americana</i>	730

Tab.č. 1: Vzdálenosti šíření pylu různých druhů dřevin z bodového zdroje (Paule 1992).

2.2. Kritéria designu semenných sadů

Hlavními aspekty při zakládání semenných sadů jsou podle Pauleho (1992) i White a kol. (2007) počet vybraných klonů a jejich případná vzájemná příbuznost a následně jejich fyzické rozmístění na ploše sadu.

Klony

Kritéria pro výběr rodičovských stromů¹ pro zakládání semenného sadu jsou různá a závisí na účelu jeho založení (Kaňák a kol. 2008).

Při založení semenného sadu 1. generace bývá obvykle volen vyšší počet klonů, protože rodičovské stromy jsou v této fázi vybírány na základě fenotypového projevu a později následuje probírka, která často dosahuje až 50% intenzity. Jádrové sady jsou zakládány větším počtem rodičovských stromů než sady klonové, u nichž se obvykle jedná o 30 až 50 jedinců. Tím pádem mají jádrové sady širší genetickou základnu a jsou vhodnější pro následnou selekci, ale zároveň vykazují nižší selekční diferenciál z důvodu méně intenzivního výběru rodičovských stromů (Zobel a Talbert (1984). Podle Kaňáka a kol. (2008) je za minimální počet klonů v sadu 1. generace považováno o něco vyšší číslo, a to 50 až 60 klonů, každý po 6 až 7 opakováních. Celosvětově bývají semenné sady zřizovány obvykle z 20 až 60 klonů, přičemž každý může být zastoupen až 100 rametami a jak již bylo zmíněno, následuje často redukce na 15 až 20 geneticky nejvhodnějších klonů, přičemž středně kvalitní jedinci jsou určeni pouze pro opylování (White a kol. 2007). Paule (1992) ovšem uvádí jako vhodný počet klonů

¹ Termín rodičovské stromy je zde použit podle původního zdroje Kaňák (2008).

pro sad první generace číslo 100, které je podle něj minimální z toho důvodu, že pouze při vyšším počtu klonů je možný lepší převod na sad vyšší generace.

K počtu klonů efektivně se podílejícím na produkci semen však dospějeme ve skutečnosti až po zhodnocení fenologie kvetení a jejich plodnosti. Míru synchronizace fenologie kvetení klonů, jakožto jeden z nejvýznamnějších vlivů na vzorec křížení jedinců v semenném sadu, uvádí například i El-Kassaby a kol. (1988). Případné rozdíly v ní vedou k nevyváženosti rodičovských příspěvků, a tedy i ke zmíněnému snížení reálné efektivní velikosti populace sadu a také k nemožnosti dosažení stavu panmixie (Xie a kol. 1994). Z tohoto pohledu nevhodný výběr klonů již není možné napravit prostorovým designem.

Je třeba zmínit, že v sadech vyšších generací se s rostoucí četností objevují jedinci, kteří jsou vzájemně příbuzní. Můžou zde být zahrnuty rodičovské stromy hned z několika generací sadů či testů potomstev a stupně příbuznosti se tak mohou lišit. Vyskytují se tedy nejen genotypově shodní jedinci (ramety), ale také klony sdílející společného předka nebo klony ve vztahu rodiče a potomka.(Lstibůrek a El Kassaby 2010).

Prostorový design

Designů semenných sadů existuje celá řada. Bez ohledu na to, který při zakládání semenného zvolíme, musí splňovat podmínku minimalizace křížení příbuzných jedinců. Zároveň by měl zajistit přibližně stejnou pravděpodobnost vzájemného opylení všech jedinců v rámci sadu (Zobel a Talbert 1984). Před výběrem optimálního prostorového uspořádání nového sadu by tedy měly být zváženy vstupní proměnné, kterými jsou počet klonů, počet jejich kopií (ramet) a vzájemné příbuzenské vztahy mezi klony (Lstibůrek a El-Kassaby 2010). Prostorovým designům je v této práci věnována samostatná kapitola.

2.3. Vyšší generace semenných sadů

Jedním z nástrojů k dosažení kýžených šlechtitelských cílů je selekce. Selekcí nejlepších jedinců z kandidátské populace se realizuje genetický zisk, ale zároveň se snižuje genetická diverzita. Podle počtu selekčních cyklů uskutečněných v šlechtitelské

populaci jsou rozlišovány n -té generace semenných sadů. Prostřednictvím experimentálních testů potomstev se v sadu ověřuje genetická kvalita stromů a selekcí nejvhodnějších jedinců je následně umožněn přechod na sady vyšších generací. V praxi je v současnosti možné se setkat nejvýše se sady 6. generace (Kaňák a kol. 2008).

Šlechtění lesních dřevin je časově náročná disciplína. V minulosti se proto pozornost šlechtitelů soustředila spíše na shromažďování teoretických poznatků, jako jsou informace o proměnlivosti a dědičné podmíněnosti znaků, a méně pak na praktické šlechtění. Ze stejného důvodu také nelze při šlechtění lesních dřevin aplikovat stejné principy jako při šlechtění jednoletých kulturních rostlin a ovocných dřevin (Paule 1992).

2.3.1. Šlechtitelský cyklus

Při přechodu na vyšší generace semenných sadů se v rámci šlechtitelského cyklu pracuje se třemi druhy populací. Jedná se o zdrojovou, či základní populaci, šlechtitelskou a produkční, z nichž každá má jinou funkci a navazují na sebe v jednotlivých krocích cyklu (Zobel a Talbert 1984). Je třeba zmínit, že pokud se s materiálem ze semenného sadu pracuje v rámci šlechtitelských programů, je žádoucí provést ověření genetické identity vybraného rostlinného materiálu. To lze učinit použitím jednoduché terénní metody, morfologických markerů, nebo metodou molekulárních markerů (Kaňák 2011). V následujícím textu je uvedena charakteristika jednotlivých populací šlechtitelského cyklu:

Základní populací mohou být přírodní populace v jejich přirozené genetické struktuře (Paule 1992). V případě pokročilých generací šlechtitelských cyklů se ale jedná často o plnosesterská potomstva vybraných rodičovských stromů, která jsou seskupena do podoby genetických testovacích výsadeb. Tato populace obsahuje mnoho stovek, či tisíců genotypů (Zobel a Talbert 1984).

Šlechtitelská populace, kterou lze označit za samotné jádro šlechtitelských aktivit (Eriksson a kol. 2007) se skládá z jedinců, kteří jsou vybráni na základě znaků, které je žádoucí předat příštím generacím (Zobel a Talbert 1984). V těchto populacích probíhá samotné šlechtění, testování potomstev a také hybridizace (Paule 1992). Je zde nutné činit kompromis mezi hodnotou selekčního diferenciálu, který navyšuje genetický zisk a zachováním dostatečné variability uvnitř populace tak, aby bylo možné navázat dalšími šlechtitelskými cykly. Obvyklá velikost této populace je 200 genotypů (Zobel a

Talbert 1984). White a kol. (2007) upozorňují také na nutnost zhodnocení struktury šlechtitelské populace, která může být různá a na fakt, že samotná velikost populace nevyovídá o její genetické diverzně, ale je nutné kalkulovat s její efektivní velikostí.

Poslední typ označujeme jako **produkční populace**, které jsou zaměřeny na produkci již vyšlechtěného reprodukčního materiálu. Jedná se tedy o semenné sady či matečnice. Tyto populace jsou po genetické stránce nejméně variabilní (Paule 1992).

Takovýto opakující se cyklus šlechtění, výběru a testování zaměřený na hromadění jedinců určitých znaků, se nazývá **rekurentní selekce**. Existují 3 typy rekurentní selekce:

Jednoduchá rekurentní selekce spočívá v tom, že ze základní populace jsou na základě fenotypového projevu vybráni nejvhodnější jedinci, z nichž je založena produkční populace, kde dochází k volnému sprášení. Z této populace je založena další produkční populace a cyklus se opakuje (Eriksson a kol. 2007). Paule (1992) zmiňuje, že v jednoduchých šlechtitelských programech často docházelo právě k odvození produkčních populací přímo ze zdrojových, bez předchozího testování, což samozřejmě vedlo k nízké efektivitě takovýchto aktivit.

Dalším typem je rekurentní selekce zaměřená na obecnou kombinační schopnost. Na této selekci jsou v současnosti založeny téměř všechny šlechtitelské aktivity, i když existují i jiné možnosti postupu. Šlechtitelské populace jsou kontrolovaně kříženy a jsou zakládány testy potomstev. Těch existuje celá řada a jsou specifikovány v následujícím textu. Následuje selekce v rámci potomstev, která je založena na jejich obecné kombinační schopnosti pro vybraný znak či jejich skupinu. Tato selekce výrazně navyšuje genetický zisk též u znaků s nízkou heritabilitou. Její výhodou je i to, že z genetických testů je možné získat další parametry jako je právě heritabilita (dědivost), korelace znaků, či interakce genotypu a prostředí. Jako základní populace pro založení semenného sadu vyšší generace nemusejí být použity pouze rodičovské klony, ale také samotné potomstvo z testovací výsadby (White a kol. 2007). Tím vznikají i složité příbuzenské vazby v sadech pokročilých generací (Lstibůrek a El-Kassaby 2010).

Reciproční rekurentní selekce se používá pro mezidruhovou hybridizaci a zahrnuje jak mezidruhové, tak vnitrodruhové testy potomstev. Na základě testů potomstev jsou vybráni jedinci každého druhu, mezi nimiž jsou provedeny testy

mezidruhových potomstev. Jsou vybráni jedinci, kteří jsou schopni po spáření produkovat kvalitní hybridy a z nich je založen semenný sad (Eriksson a kol. 2007).

2.3.2. Přejchod na vyšší generace sadů

Jak vyplývá z předchozího shrnutí, přechod na vyšší generaci semenného sadu je možný jen prostřednictvím dokončeného šlechtitelského cyklu a jeho cílem je nárůst genetického zisku. Semenný sad vyšší generace může být založen jak z testované populace, tak i ze samotných testů potomstev, přičemž nejuvhodnější bývá kombinace obou těchto metod (White a kol. 2007).

Sady 1,5 generace jsou specifickým případem. Klony v těchto sadech jsou vybírány na základě testů polostesterských potomstev, u nichž je známý pouze jeden rodič. Tento typ semenného sadu je ale možné získat i genetickou probírkou v sadu 1. generace. V České republice je tento typ sadů poměrně častý, a to z toho důvodu, že testy potomstev jsou časově i finančně náročné (Kaňák a kol. 2008). Zobel a Talbert (1984) takovýto sad však popisují jako výsadbu nejlepších klonů vybraných z několika sadů shodného geografického původu a označují jej za nový a vylepšený sad 1. generace, který produkuje výrazně vyšší genetický zisk, než původní sady. White a kol. (2007) zmiňují i existenci sadů 2,5 generace. Je třeba také zmínit, že je v současnosti možné, díky využití molekulárních markerů pro rekonstrukci rodokmene polosesterských potomstev, následný převod těchto sadů na sady 2. generace. Tato metoda se nazývá Breeding without Breeding (El-Kassaby a Lstibůrek 2009).

2.3.3. Testy potomstev

Testovaná potomstva jsou nazývána plnosesterská nebo polosesterská v závislosti na použitém systému křížení, kdy se může jednat o kontrolované nebo volné opylení. Jedním z hlavních cílů testů je genetické hodnoty rodičovských stromů, což spočívá především v identifikaci jedinců s nejvyšší všeobecnou kombinační schopností (Eriksson a kol. 2008). Dle Pauleho (1992) zahrnují cíle genetických testů také odhad komponent variance a dědivosti, produkci zdrojových populací pro následující generace a demonstraci a odhad šlechtitelského zisku. V závislosti na cíli šlechtitelského programu se musí následně definovat návrh křížení.

Návrhy křížení

Návrhy křížení lze rozdělit na nekompletní, při kterých je pro každé potomstvo známý jen jeden z rodičů a vznikají tedy polosesterská potomstva a kompletní návrhy křížení, kdy jsou známi oba rodiče a jedná se o plnosesterská potomstva (Paule 1992).

Mezi nekompletní návrhy křížení patří volné opylení, což je nejjednodušší a nejlacinější metoda testování potomstev. Jejím jediným předpokladem je, že jsou semena z každého mateřského stromu sbírána jednotlivě. Těmito testy je možné získat hodnoty aditivní genetické variance a dědivosti pro testovanou populaci. Odhadnout hodnoty neaditivní genetické variance není možné. Tyto testy mají v šlechtitelských programech relativně nízký význam a dochází v nich ke zkreslení vlivem inbrídingu (Paule 1992). „Polycross design“, tj. testování směsí pylu známého původu, je další z možností nekompletního křížení, kde jsou mateřští jedinci opylováni směsí pylu od definovaného počtu otcovských jedinců. Co se týče možnosti odhadů genetických parametrů, je tato metoda srovnatelná s volným opylením (Paule 1992). Obě tyto metody jsou vyhovující pro odhad šlechtitelských hodnot, a jelikož je zde každý rodič reprezentován pouze jedním potomstvem, jedná se o nejméně náročné testy, co do požadavků na rozlohu (Eriksson a kol. 2008).

Mezi tři hlavní kompletní návrhy křížení patří dle Eriksson a kol. (2008) dialelní metoda, faktoriální metoda a hierarchická metoda. Paule (1992) uvádí navíc také metodu jednotlivých křížení, která je však nevyhovující v případě testů za účelem selekce.

V případě, že chceme získat co nejkompletnější informaci o genetické kvalitě rodičovských stromů, je ideální použití kompletní dialelní metody. Zahrnuje všechny možné kombinace mezi rodiči, vyjma samosprášení, a je z něj možné odvodit reciproční efekt křížení. Dále zjistíme všeobecnou kombinační schopnost všech rodičů, specifickou kombinační schopnost a všechny složky variance a dědivosti. Jeho nevýhodou je však prostorová náročnost a obrovská pracnost. Proto byly vyvinuty různé modifikace pro testování větších skupin potomstev. Jedná se o poloviční dialelní křížení, které nezahrnuje reciproční křížení a parciální dialelní křížení (Eriksson a kol. 2008). Parciální dialelní křížení lze provést několika způsoby, například tak, že jsou křížící se jedinci umístěni v blocích podél diagonály, nebo bez recipročních kombinací a selfingu (Paule 1992).

Faktoriální metoda spočívá v tom, že se mateřský jedinec kříží se všemi jedinci druhého pohlaví. Nejlepších výsledků je dosaženo při rovném zastoupení obou pohlaví rodičovských jedinců a i v tomto případě existují alternativní metody, díky nimž lze snížit počet křížení (Eriksson a kol. 2008). Například nespojitá faktoriální metoda (Paule 1992). Specifickým případem, ve kterém je použito malé množství samčích jedinců a velké množství samičích je metoda „Common Tester“ (Eriksson a kol. 2008). Výhoda této metody spočívá v tom, že lze získat specifickou kombinační schopnost všech rodičovských kombinací (Paule 1992) a také odhad obecných kombinačních schopností je velmi přesný. Nevýhodou je ovšem malý počet nepříbuzných skupin obsažených v populaci testů potomstev (Eriksson a kol. 2008).

Při hierarchickém křížení se skupina mateřských jedinců opyluje jedním otcovským jedincem. Jedinci se mezi skupinami neopakují. Všeobecná kombinační schopnost je stanovitelná pouze pro samčí jedince a je možné stanovit aditivní a neaditivní genetickou varianci (Paule 1992).

Návrhy uspořádání

Po získání potomstev následuje založení testovacích výsadeb, díky kterým lze studovat kauzální složky rozptylu sledovaných znaků. Tyto testy lze založit jako zcela znáhodněné pokusy či znáhodněné blokové pokusy s opakováním. Druhá varianta je v případě šlechtění lesních dřevin častější. Další možností je využití latinských čtverců či nekompletních blokových schémat, která nejsou oproti klasickým natolik prostorově náročná. Základním předpokladem pro založení úspěšné testovací výsadby je také výběr plochy, která by měla být především homogenní (Paule 1992).

Časové hledisko

Vzhledem k dlouhému životnímu cyklu lesních dřevin není možné hodnotit testovací výsadby až po dosažení mýtního věku. Pro vyloučení významnějších chyb je dostačující zhruba 15 až 20 let věku. Časné testy potomstev umožňují výrazně zkrátit tuto dobu. Možností jak určit dobu selekce je odhad věkové korelace znaku. Na základě toho může být v případě vysoké korelace délky tracheid u borovice lesní provedena selekce již před 11 rokem. Hlavní nevýhodou časných testů je složitost identifikace znaku, nebo jejich skupiny, která je v těsné korelaci s hodnotným sledovaným znakem. Může existovat celá řada příčin nízké věkové korelace, která byla do konce 20. století

pozorována u většiny znaků. Jednou z rychlých možností jak uskutečnit časné testy je opětovné retrospektivní křížení jedinců, jejichž potomci jsou již vzrostlí. V tomto případě lze využít právě reprodukční materiál z již delší dobu využívaných semenných sadů nebo klonových archivů (Eriksson 2008). Časné testy se také běžně používají pro charakterizování geografické proměnlivosti materiálu a výzkumu transferu semen (White a kol. 2007).

Zkrátit celý šlechtitelský cyklus až o 25 let a vyhnout se konvenčnímu způsobu šlechtění, při kterém je nutné zakládat plnosesterská potomstva lze s využitím konceptu „Breeding without Breeding“ (El-Kassaby a Lstibůrek 2009). Zahrnuje zpětné určení příbuzenských vztahů, tzv. rekonstrukci rodokmene, v polosesterských potomstvech či sadech první generace. To je provedeno pomocí molekulárně-genetických analýz s využitím molekulárních markerů, konkrétně mikrosatelitů DNA. V konečném důsledku metoda umožňuje založit sady druhé generace převodem polosesterských potomstev na plnosesterská a následným výběrem nejlepších plnosesterských potomstev.

2.4. Genetický zisk a genetická diverzita

Význam rovnováhy těchto dvou faktorů zmiňuje celá řada autorů, jako například Kang (2001), White a kol. (2008) a Hodge a White (1993).

Genetického zisku dosahujeme prostřednictvím různých selekčních metod. Jeho podstatou je změna fenotypového projevu potomstev oproti rodičovské populaci. Například Paule (1992) ho definuje následovně:

$$G = S \cdot h^2 \quad (1)$$

Kde G značí odezvu na selekci, čili genetický zisk, S je selekční rozdíl, neboli diferenciál a h^2 značí dědivost v užším slova smyslu. Selekční diferenciál je rozdíl mezi průměrnou hodnotou vybraného znaku v selektované, šlechtitelské populaci a průměrnou hodnotou tohoto znaku v rodičovské, základní populaci. Dědivost, neboli heritabilita, v širším slova smyslu je poměrem genetické proměnlivosti vlastnosti k celkové fenotypové. Zde použitá heritabilita v užším slova smyslu je poměrem pouze

aditivní složky genetické proměnlivosti sledované vlastnosti a celkové fenotypové proměnlivosti. Právě ta umožňuje předpovídat efektivitu selekce (Mendelu.cz).

Výše genetického zisku je závislá především na počtu realizovaných šlechtitelských cyklů. Li a kol. (2000) uvádějí pro celou řadu hospodářsky významných znaků genetický zisk na úrovni 12% po prvním šlechtitelském cyklu a po druhém dokonce 25%. Následující schéma č. 1 znázorňuje potenciální nárůst zisku s každou další generací, v produkční populaci, při uplatnění rekurentní selekce zaměřené na obecnou kombinační schopnost (Zobel a Talbert 1984). Zisk docílený selekcí při tvorbě produkční populace se však již do další generace nepřenáší.

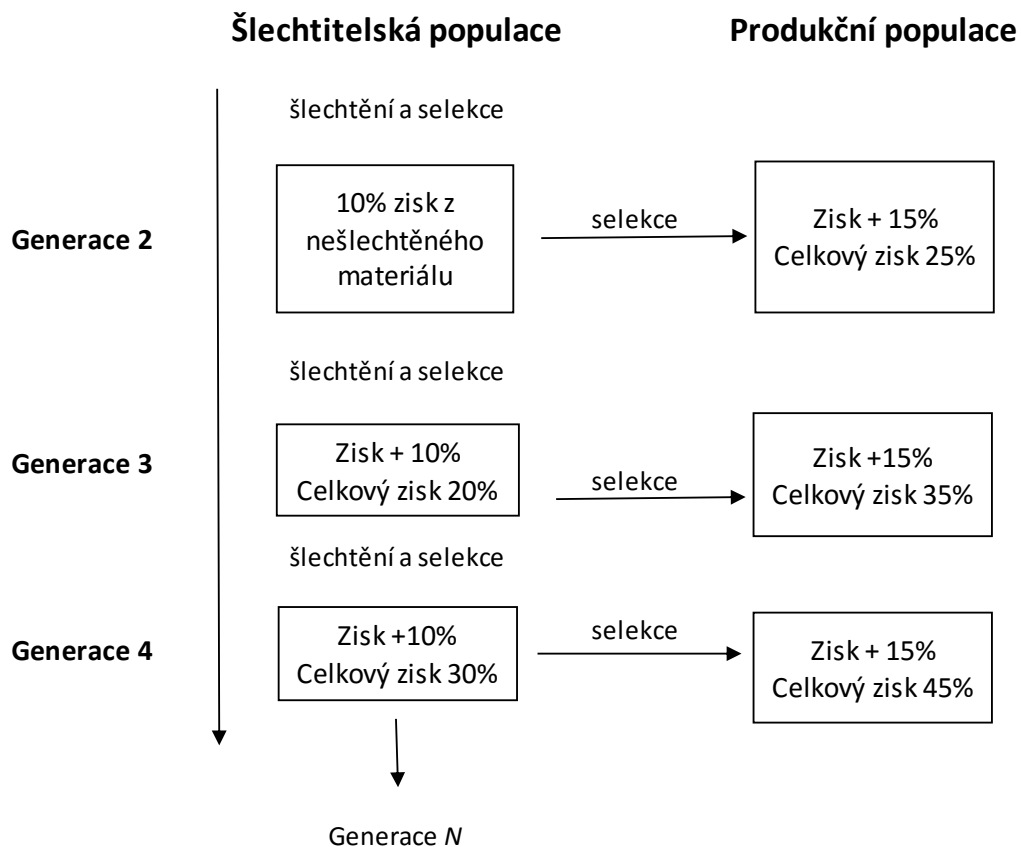


Schéma č. 1: Nárůst genetického zisku s každou následující generací (Zobel a Talbert 1984).

White a kol. (2007) uvádějí, co se týče realizovatelného zisku v %, v jednotlivých populacích a generacích šlechtitelského cyklu následující schéma č. 2, kde vodorovná osa udává, ze které generace základní populace vychází daný šlechtitelský cyklus, čili jeden trojúhelník. Svislá osa procentuálně znázorňuje rozmezí potenciálně dosažitelného genetického zisku ve znázorněných populacích. Základ trojúhelníka

reprezentuje základní populaci (ZP), střed trojúhelníka šlechtitelskou populaci (ŠP) vybranou ze základní a vrchol populaci produkční (PP). Velikost každé populace vyjadřuje její diverzitu, a zároveň skutečný počet jedinců a je vyjádřena velikostí jí přiřazené výšece trojúhelníka. Je patrné, že hodnoty jsou přibližně stejné, jako v předchozím schématu č. 1.

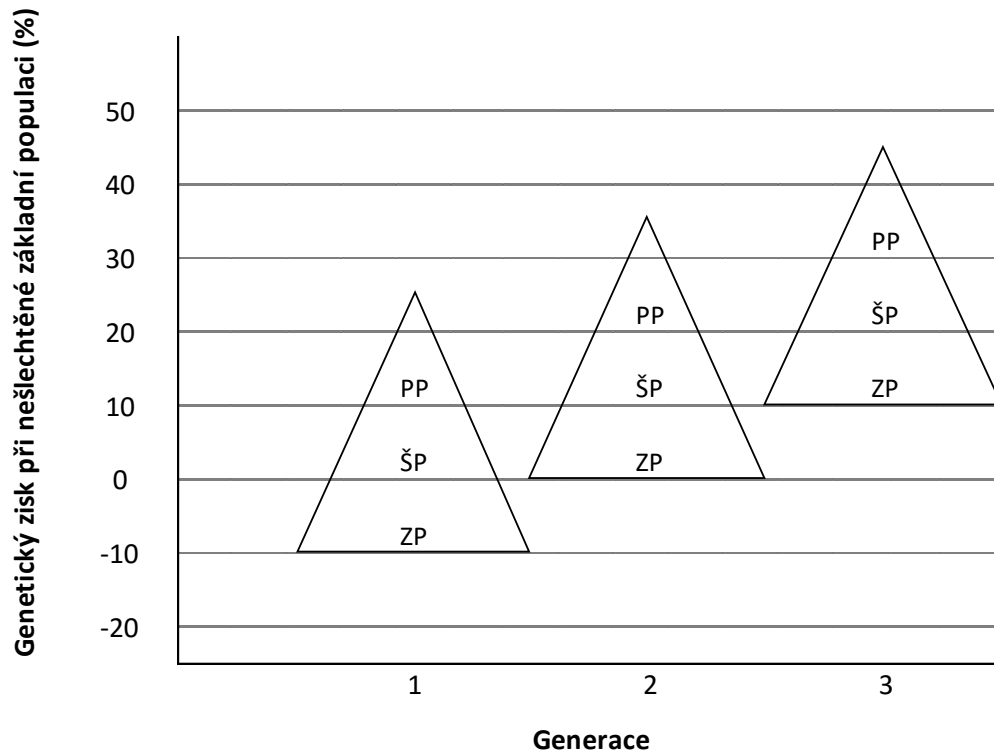
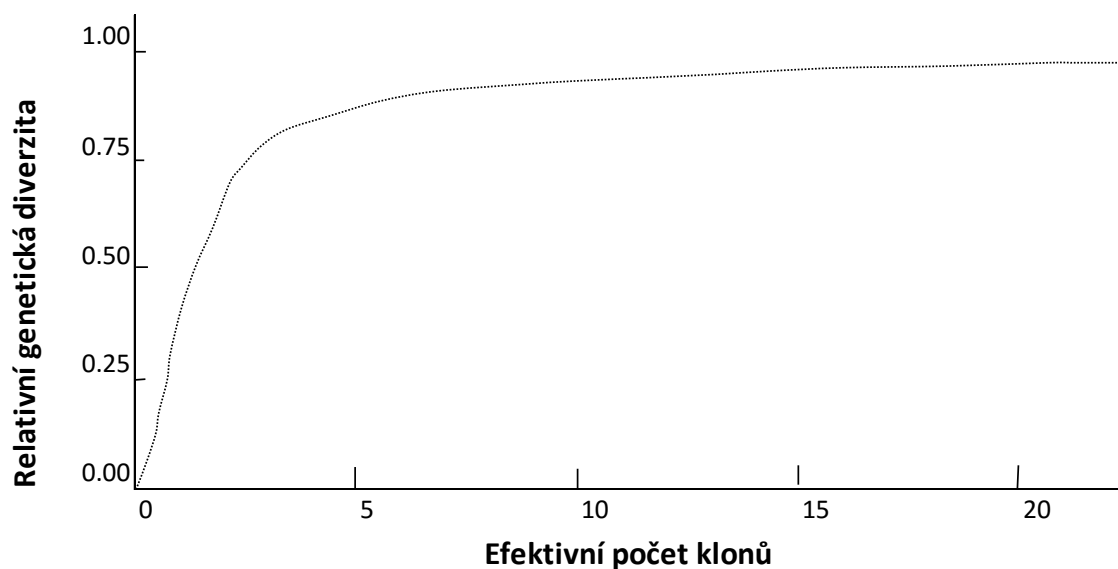


Schéma č. 2: Genetický zisk pro tři typy populací v každém ze třech rozdílných šlechtitelských cyklů (White a kol. 2007).

Velikost genetického zisku závisí v prvé řadě na intenzitě selekce. Jeho nárůst je vždy doprovázen ztrátou genetické diverzity. V současnosti jsou kladeny vysoké nároky na její zachování, a ustupuje se od maximalizace selekční intenzity (Volf 2011). Kang (2001) tento vývoj zdůvodňuje tím, že v první fázi domestikace lesních dřevin byly zakládány především semenné sady první generace, jejichž typickým znakem je vysoký počet rodičovských stromů. Zároveň dodává, že pochopení reprodukčního procesu a zkoumání vlivů šlechtitelských a manažerských praktik je základem pro maximalizaci genetického zisku a zachování udržitelné genetické diverzity. Ta je ovlivňována mírou příbuznosti jedinců, plodností a zastoupením jednotlivých genotypů, rozdílným zastoupením pohlaví a v případě pokročilých šlechtitelských cyklů i malou velikostí základní populace. V praxi má nejvyšší vliv na snižování diverzity semenného

materiálu právě proměnlivost v produkci jednotlivých klonů v sadu. Tento běžný jev vede ke zvyšování genetické příbuznosti v semenném materiálu. Jediným faktorem, který genetickou diverzitu zvyšuje, je paradoxně pylová kontaminace.

Existuje i vztah mezi genetickou diverzitou a typem semenného sadu. Ta je v případě jádrového sadu vysoká, což je způsobeno nízkým selekčním diferenciálem. V případě klonového sadu je oproti tomu nižší, protože selekční diferenciál je zde vysoký (Kang 2001). Je znám také inverzní vztah efektivní velikosti populace (efektivního počtu klonů), což je vyjádření genetické diverzity populace prostřednictvím počtu jedinců ideální populace (rovnováha dle Hardy-Weinberga), a ztráty genetické diverzity (Kang and Lindgren 1998). Ten znázorňuje následující graf č. 1.



Graf č. 1: Vztah mezi relativní genetickou diverzitou a efektivním počtem klonů (Kang a Lindgren 1998).

Lze se setkat i s charakteristikou genetické diverzity vyjádřené relativním efektivním počtem klonů, což je podíl efektivního počtu klonů a celkového počtu klonů (Bilgen a kol. 2013).

3. Prostorové designy semenných sadů

Prostorových designů semenných sadů existuje celá řada. Rozmístění klonů na ploše je hned po jejich výběru druhým nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím kvalitu budoucího semenného materiálu. Navíc je tento faktor relativně snadno ovlivnitelný a

zcela závislý na volbě šlechtitele. V praxi dochází k vysokým ztrátám potenciálního genetického zisku z důvodu použití nevhodného designu sadů (Zobel a Talbert 1984). Význam správného výběru designu roste ještě více v případech, kdy se řeší zakládání semenných sadů vyšších generací, kde často některé klony sdílí společné předky, čímž se celé schéma značně komplikuje, protože tak musíme brát v úvahu různé stupně příbuznosti (Zobel a Talbert 1984; El-Kassaby a kol. 2014).

Pro většinu designů jsou charakteristické společné prvky týkající se sponu a rozmístění klonů na ploše sadu. Ten bývá volen s ohledem na používané technologie, dobu kvetení a očekávanou míru genetické probírky od 3 x 3 m až do 10 x 10 m (White a kol. 2008).

3.1. Inbríding a panmixie

Jako panmiktický označujeme stav, kdy má každý jedinec stejnou pravděpodobnost, že zplodí potomka s jakýmkoli jiným jedincem opačného pohlaví. Jde tedy o splnění podmínky volné kombinovatelnosti genů. Tento stav je nutný pro dodržení populačního modelu Hardy-Weinbergovy rovnováhy a v konečném důsledku vede ke zvyšování heterozygotnosti populace (Mendelu.cz). Pro jeho dosažení je nutné zvážit faktory, jakými jsou produkce pylu, plodnost, vzdálenost klonů a synchronizace fenologie jejich kvetení (Xie a kol. 1994). Prostorový design ovlivňuje pouze vzdálenosti mezi klony.

Inbríding vzniká křížením příbuzných jedinců a nejčastěji k němu dochází v malých a izolovaných populacích, kterými semenné sady bezpochyby jsou (Frankham a kol. 2002). Existují různé úrovně inbrídingu, podle stupně příbuznosti křížících se jedinců. Jeho nejvyšším stupněm je křížení ramet stejného klonu, tedy samosprašení. Dále může docházet ke křížení sourozenců, tedy jedinců, kteří sdílí společného předka a ke křížení mezi potomky a rodiči v případě použití metody zpětné selekce. K vyjádření míry inbrídingu se používá inbrední koeficient značený F , což je poměr snížení heterozygotnosti ve sledované inbrední subpopulaci a heterozygotnosti v náhodně se pářící populaci o stejných alelických frekvencích (White a kol. 2008).

Podle řady autorů by mělo rozmístění klonů na ploše semenného sadu splňovat především dvě základní podmínky, a to minimalizaci inbrídingu a maximalizaci

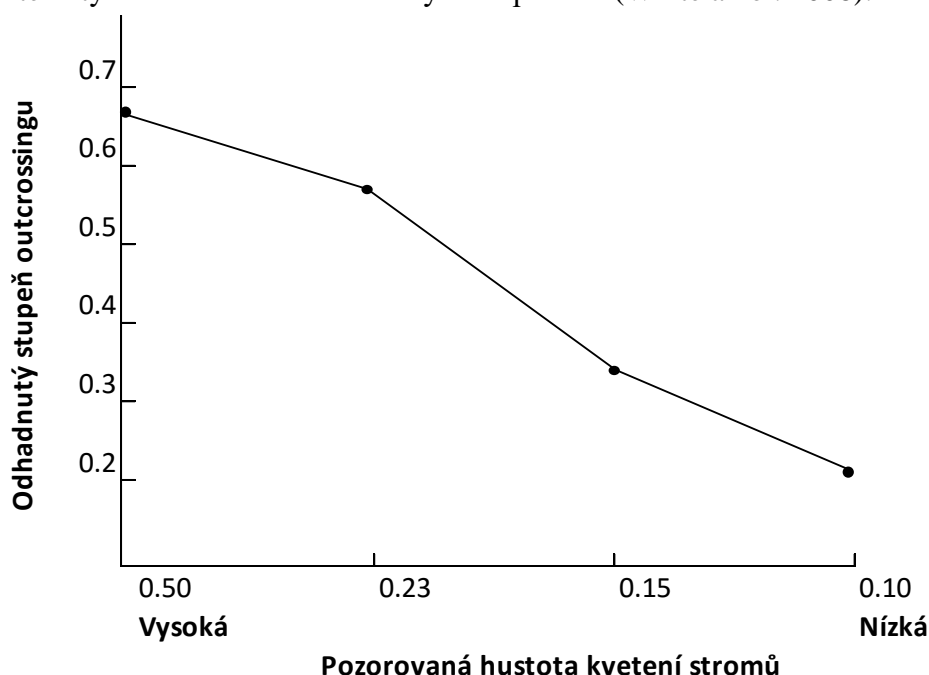
panmixie (Paule 1992; Zobel a Talbert 1984; White a kol. 2008). Stejně tak Kang (2001) vyzdvihuje nutnost splnění těchto dvou podmínek jako předpokladu pro existenci ideálního stavu, kdy je dosaženo očekávaného genetického zisku a zároveň je zachována předpokládaná genetická diverzita. Jako další podmínky uvádí nutnost vyrovnaných gametických příspěvků všech jedinců a omezení kontaminace pylem z okolí. Hodge a kol. (1993) zmiňují, především u pokročilých generací sadů opylovaných větrem, nejen nutnost minimalizace inbrídingu a dosažení panmixie, ale také zachování genetické diverzity při maximalizaci genetického zisku.

Podle Zobela a Talberta (1984) musí být kvalitní design také flexibilní a měl by umožňovat zvyšování genetické kvality probírkou, stejně jako minimalizovat potencionální inbríding. Zároveň je důležité vyhnout se několikanásobnému opakování stejného vzorce sousedských vztahů. Může tak totiž dojít k tomu, že kvalitní a méně kvalitní klony budou umístěny v opakujících se shlucích, což znesnadňuje provedení správné genetické probírky. Při častějším opakování vzorce sousedských vztahů samozřejmě nastává také situace, kdy se některé dvojice klonů kříží s vyšší četností, než jiné dvojice a není tak možné dosáhnout panmiktického stavu.

Negativní dopady inbrídingu jsou obecně známé. White a kol. (2008) uvádějí jako jeho dva hlavní důsledky snižování frekvence homozygotů v potomstvu, ve srovnání s náhodným křížením, a pokles životaschopnosti a snížení rychlosti růstu takto vzniklých potomstev, čili inbrední depresi. Zobel a Talbert (1984) definují časté následky samosprášení, jakožto jedné z nejtěžších forem inbrídingu, následující způsoby projevu inbrední deprese:

- Nedochozí k produkci semene.
- Semena nejsou schopna klíčit.
- Semena klíčí, ale semenáčky vykazují určité abnormality a přežívají pouze po krátkou dobu.
- Semenáčky přežívají, ale jsou malé, slabé a často žlutě zbarvené.
- Semenáčky rostou pomaleji, než je obvyklé, ale nejsou snadno rozpoznatelné. Tento výsledek není příliš běžný, ale v konečném důsledku může mít fatální následky při použití v lesnickém provozu.
- Pouze výjimečně vykazují tito jedinci po celou dobu života stejné vlastnosti jako ostatní vzniklí v důsledku cizosprášení.

Inbríding, jako opak cizosprášení, vede i ke snížení intenzity kvetení v takto vzniklých potomstvech, což je znázorněno na následujícím grafu č. 2, který zobrazuje vztah intenzity kvetení a odhadnuté míry cizosprášení (White a kol. 2008):



Graf č. 2: Vztah mezi pozorovanou intenzitou kvetení a odhadnutým stupněm cizosprášení (White a kol. 2007).

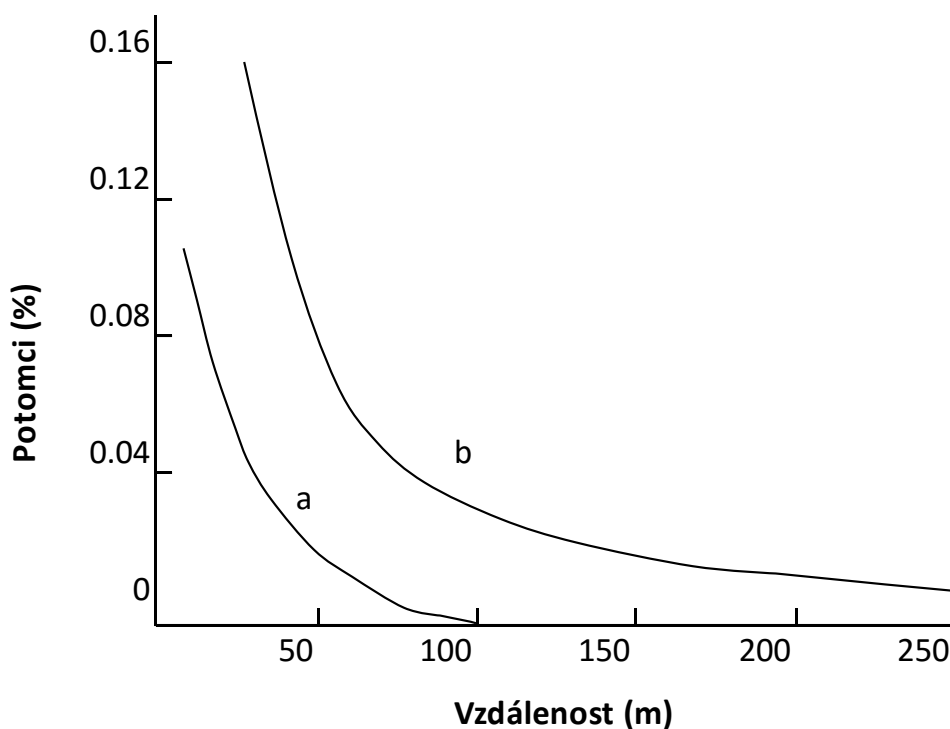
3.2 Systémy rozmnožování dřevin

Nejvýznamnější hospodářské dřeviny mírného pásma, rody *Abies*, *Pseudotsuga* a *Pinus*, jsou jednodomé, čili mají pohlavně rozlišené květy, které se vyskytují společně na jedné rostlině. Šíření pylu těchto rodů, na rozdíl od rostlin z tropických pásem, je zprostředkováno především větrem. U zmíněných rodů je přítomna také fyzická separace šištic v rámci jednoho stromu, přičemž samičí šišlice se vyskytují na koncích větví v horní části koruny a samčí v oblasti vnitřních větví ve střední části koruny. To je jeden z mechanismů vedoucí k vysokému stupni cizosprášení. Dále se můžeme setkat i s nízkou mírou samosprášení, která se pohybuje mezi 10 až 20 procenty, ta ale může být zvýšena nepřítomností zdrojů pylu až na 50% (White a kol. 2008).

Existují specifické vzorce křížení a faktory, které je ovlivňují. Jedním z nich je vzdálenost jedinců. Lze tvrdit, že efektivní disperze pylu rapidně klesá s narůstající vzdáleností, což poukazuje na fakt, že fyzicky bližší samčí jedinci mají vyšší šance na opylení konkrétních samičích šištic, než tomu je v případě vzdálenějších individuů

(White a kol. 2008). Sledování vlivu vzdálenosti na disperzi pylu je mimo jiné důležité i při regulaci migrace pylu z okolních porostů do semenného sadu, ale také při optimalizaci designu sadu. Předpokládá se, že 90% pylu jehličnatých porostů se při bezvětrí rozpráší pouze do vzdálenosti 30 až 100 m, přičemž rozdílná morfologie klonů v semenném sadu, oproti běžným porostům, tuto vzdálenost ještě značně snižuje (Paule 1992).

Faktor vzdálenosti mezi jedinci je společně s množstvím produkovaného pylu jedním z nejvýznamnějších pro úspěšnost opylení. K ověření těchto teorií se používá především metod genetických markerů (Burczyk a kol. 1996). Dalším významným faktorem je i synchronizace ve fenologii kvetení. V případě, že je zajištěna jak vysoká produkce pylu, tak i synchronizace nástupu kvetení všech jedinců v populaci, má pro úspěšné sprášení rozhodující vliv právě jejich vzdálenost. To je znázorněno v následujícím grafu č. 3, který znázorňuje rozšíření pylu prostřednictvím zastoupením potomstev, ve vztahu k vzdálenosti (White a kol. 2008).



Graf č. 3: Vzdálenost mateřských stromů od kontrolního samčího jedince a podíl potomků vzniklých sprášením těchto dvou stromů, přičemž přenos pylu byl zprostředkován: a) větrem ve 120 let starém porostu borovice lesní a b) hmyzem v porostu *Cordia alliodora* (White a kol. 2008).

Řada studií se zabývala i sledováním toho, kolik samčích jedinců se podílí na opylení jednoho samičího. Například Burczyk a kol. (1996) studovali systém páření ve vzrostlém porostu druhu *Pinus attenuata*, který je opylován větrem. V tomto případě byly samičí šištice jednoho jedince v průměru opylovány 59 dalšími jedinci. Nason a kol. (1996) studovali tuto problematiku u sedmi druhů rodu *Ficus* a došli k rozmezí 11 až 54 samčích příspěvků podílejících se na opylení jednoho jedince. V případě tropických druhů, jejichž denzita na stanovišti je v přírodních podmínkách často velice vysoká, se na reprodukci ze 72 až 99 procent podílejí pouze dva až tři nejbližší jedinci. Na druhou stranu je v některých ojedinělých případech pyl roznesen až do vzdálenosti 300 metrů (Stacy a kol. 1996).

Pro hodnocení systému rozmnožování jsou samozřejmě podstatné i reprodukční charakteristiky jako například to, zda se jedná o druh plodící každoročně. Pokud tomu tak není, mohou se výsledky v jednotlivých letech značně lišit. Nejvýznamnější hospodářskou dřevinou je v České republice a celé střední Evropě smrk ztepilý. Tento druh kvete obvykle od dubna do června. Plodit v zápoji začíná po dosažení 70. roku, na volném prostranství již ve 30 letech. Plodné roky se u něj opakují po 4 až 5 letech, ale liší se v závislosti na poloze. Oproti tomu borovice lesní může dospět již ve 30 letech a na volném prostranství i o 10 let dříve. Semenné roky se u ní opakují po 3 až 4 letech, kvete v dubnu až červnu a období opylení trvá pouze 2 až 3 dny. Podobný, několikaletý reprodukční cyklus je typický pro většinu hospodářských dřevin mírného pásma. (Musil 2003).

3.3.Existující designy

Během iniciační fáze šlechtění lesních dřevin v padesátých letech dvacátého století byla používána především prostorová rozvržení, jakými jsou například čisté řady, šachovnice, zcela náhodná schémata, náhodné kompletní bloky, fixované bloky, rotované bloky, obrácené bloky, nevyrovnané nekompletní bloky, balancovaná mříž, permutované sousedství a další systematické designy (Giertych 1975).

White a kol. (2008) definují tři skupiny designů často využívaných speciálně pro klonové sady jednodomých dřevin, a to: modifikované a znáhodněné kompletní bloky (RCB), permutační sousedské designy a systematické designy (SD). V prvním případě

je jedna rameta každého klonu umístěna vždy jednou v každém z bloků, na které je plocha sadu rozdělena. V rámci každého bloku jsou klony náhodně rozmístěny, přičemž je dodržována podmínka minimální vzdálenosti mezi rametami jednotlivých klonů. V druhém případě se jedná o algoritmus vyvinutý autorem La Bastide (1967). Tento se řadí, spolu s jeho modifikací nazývanou Computer Organized Orchard Layout (COOL), od autorů Bell a Fletcher (1978), k v současnosti nejvíce v praxi využívaným designům semenných sadů (El-Kassaby a kol. 2014). Ten upravuje původní design permutovaných sousedství a je využitelný pro nepravidelné tvary sadů a různé velikosti klonů. Výlučné okruhy zde znemožňují výskyt blízkých sousedství ramet jednoho klonu a zároveň je jím kontrolován počet opakování se blízkých sousedství mezi všemi klony. Za systematické designy jsou považovány například opakující se bloky, řady, nebo ostatní vzorce, ve kterých se v jednotlivých blocích sadu nemění pořadí klonů. Jejich výhodou je jednoduchá instalace a následné obhospodařování, ale jsou kritizovány pro opakující se sousedství (White a kol. 2008). Tento typ designů je nicméně relativně vhodný pro pokročilé generace, a to zejména v případech, kdy klony vykazují stejnou fenologii kvetení, mezi klony se vyskytují příbuzenské vztahy a některé klony jsou zastoupeny s dvakrát vyšší četností než ostatní. Zajišťují maximální vzdálenost mezi příbuznými klony, stejně jako mezi jejich rametami (Hodge a kol. 1993).

Dalším, novějším algoritmem, je například program autorů Chakravarty a Bagchi (1993), který generuje schémata se systematickým rozmístěním ramet jednotlivých klonů v podobě trojúhelníkových pravoúhlých a hexagonálních parcel přičemž splňuje předem stanovené požadavky. Rozmístění SOD (Seed orchard design by computer) od autora Vanclay (1991) zajišťuje, stejně jako je tomu například u COOL designu, separaci ramet jednoho klonu pomocí výlučných zón. Na rozdíl od něj je však schopno zahrnout i negativní či pozitivní asortativní křížení, nebo další aspekty jakými jsou například fenologie kvetení. Pro generování většiny výše zmíněných algoritmů jsou používány počítačové aplikace a tento trend v současnosti pokračuje.

Spolu s přechodem na semenné sady vyšších generací postupně vyvstával problém vzniku různých druhů příbuzenských vztahů mezi jednotlivými klony. Zde je možné využít například již zmíněný SOD design (Vanclay 1991). Tento problém však řeší zřejmě neefektivněji Minimum-Inbreeding (MI) algoritmus, který minimalizuje pravděpodobnost příbuzenského křížení prostřednictvím optimalizace vzdáleností jednotlivých ramet a je charakteristický možností nastavení specifických vstupních

parametrů, jakými může být také míra příbuznosti mezi jednotlivými klony, či jejich nerovnoměrné zastoupení. MI design v některých případech dosahuje, co se týče minimalizace inbrídingu, až třikrát lepších výsledků oproti náhodnému rozmístění a je také efektivnější než COOL design (Lstibůrek a El-Kassaby 2010).

Dalším možným uspořádáním jsou například znáhodněné, replikované, rozložené klonové řady (R2SCR). Využití klonových řad lze obecně pokládat za řešení zjednodušující celý management zakládání i obhospodařování sadu. Důkazy o nízké míře samosprašení jsou vesměs známy a například White a kol. (2008) uvádějí jako hlavní příčiny vysokou genetickou zátěž a inbrední depresi. Paule (1992) zmiňuje i fakt, že samičí a samčí šišťice dozrávají s časovým odstupem a výskyt autosterility. Obecně je však využití klonových řad často spojováno s navýšením četnosti křížení sousedních klonů. R²SCR však při každé replikaci klonové řady umísťuje do jejího sousedství rozdílné klony. Využívá i výlučné zóny pro rozmístění ramet jednoho klonu a je využitelný i pro prostorově složitá schémata různých velikostí s výskytem volných pozic (El-Kassaby a kol. 2014).

Schématu lze obecně hodnotit pomocí hned několika parametrů, což je uvedeno v následující tabulce č. 2.

Aspekt	Náhodné designy		Nekompletní blokové designy				Permutovaná sousedství	
	Jednoduché	Kompletní bloky	Nevyrovnané	Balancované	Cyklické	Balancovaná mříž	COOL	SOD
Zamezuje inbrídingu mezi příbuznými klony	-	-	-	-	-	-	-	++
Zamezuje selfingu	+	+	+	+	+	+	++	++
Podporuje outcrossing	+	+	+	+	++	+	++	++
Nízké náklady designu	+	+	+	+	+	+	++	++
Jednoduchost použití	+	+	-	-	-	-	++	++
Jakýkoli tvar a velikost sadu	+	-	-	-	-	-	++	++
Jakákoli velikost klonů	+	+	+	-	-	-	++	++
Umožňuje rozšíření sadu	+	+	-	-	+	+	+	++
Znovorozmístění klonů	-	-	-	-	+	-	+	+
Umožňuje systematickou probírku	-	-	-	-	-	-	++	+
Porovnává různá provedení	-	+	-	+	+	+	+	+
Několik dílčích opakování schématu	-	+	-	-	-	+	-	-
Používá informace o kompatibilitě, fenologii kvetení a kombinační schopnosti	-	-	-	-	-	-	-	+
Ostatní faktory (např. dvoudomost)	-	-	-	-	-	-	-	+

Tab. č. 2: Hodnocení existujících, starších designů podle různých aspektů (Giertych 1975 a Vanclay 1991).

4. Metodika

4.1. Panmiktický algoritmus

Jako maximálně panmiktický stav byla definována situace, kdy spolu všechny typy klonů přímo sousedí se stejnou četností. Za přímá sousedství každé pozice v poli semenného sadu jsou považovány čtyři nejbližší sousední pozice, tedy pozice horizontální a vertikální (obr. č. 2). Diagonální sousedství v této fázi vývoje algoritmu nebyla pro zjednodušení a názornost zahrnuta, ale struktura algoritmu ve své podstatě umožňuje optimalizovat různě velké okolí každé pozice. Matematicky je možné tuto situaci definovat jako stav, kdy se snažíme minimalizovat rozptyl počtů přímých sousedství, což lze vyjádřit jako

$$\min \rightarrow \frac{1}{\binom{t}{2}} \sum_{ij \in C} \left(N_{ij} - \frac{N_g}{\binom{t}{2}} \right)^2 + \sum_{vi}^t N_{ii} * p \quad (2)$$

, kde t značí počet klonů, ij je označení dvojice klonů, C je množina všech neuspořádaných dvojic ij o $\binom{t}{2}$ prvcích pro kterou tedy platí, že

$$\{i, j\} = \{j, i\}; i \neq j \quad (3)$$

N_{ij} je počet přímých sousedství na mříži páru klonů ij , p je hodnota penalizace výskytu přímého sousedství ramet jednoho klonu, N_{ii} je počet přímých sousedství ramet jednoho klonu, N_g je počet přímých sousedství dané mříže. Ten lze vypočítat pro čtvercové a obdélníkové mříže jako

$$N_g = k * (l - 1) + l * (k - 1) \quad (4)$$

kde l je počet pozic v horizontálním směru a k je počet pozic ve vertikálním směru. N_{ii} je počet přímých sousedství na mříži ramet klonu i .

	přímé sousedství				přímé sousedství	zvažovaná pozice
přímé sousedství	zvažovaná pozice	přímé sousedství				přímé sousedství
	přímé sousedství					
					přímé sousedství	
				přímé sousedství	zvažovaná pozice	přímé sousedství
					přímé sousedství	

Obr. č. 2: Definice přímého sousedství pro zvažovanou pozici.

Kriteriální funkce je tedy definována jako součet. První sčítanec je klasickým výpočtem prostého rozptylu hodnot počtu přímých sousedství na mříži všech neuspořádaných dvojic $\binom{t}{2}$. Druhý sčítanec slouží k tomu, aby nebylo jako nejlepší vybráno řešení zahrnující sousedství ramet jednoho klonu. To je zajištěno pomocí použití penalizace p následujícím způsobem. Při generování optimálního designu je sestavena matice „bestpairs“ t řádu vyjadřující počty přímých sousedství mezi klony. Následně je vypočtena suma všech hodnot na diagonále, tedy četnosti přímých sousedství v rámci jednoho klonu, a ta je vynásobena penalizační hodnotou p . Tato penalizace zajišťuje, že je vybráno to řešení, které kombinuje nejnižší možný rozptyl, při maximálním omezení výskytu sousedství v rámci klonů a zároveň je umožněno řešit extrémní úlohy, kde toto sousedství není možné zcela vyloučit. Při testování algoritmu byla jako optimální pro většinu zadání shledána hodnota $p=100$. Celý algoritmus byl naprogramován v jazyku R (přílohy č. 1 až 6) a jeho **vstupními daty jsou**:

1. Vektor „trees“, v němž jsou zadány ramety všech klonů určených k rozmístění do semenného sadu, přičemž ramety jednoho klonu jsou označeny číslicí a počet opakování této číslice vyjadřuje četnost zastoupení daného klonu.
2. Tvar mříže je zadávaný pomocí souřadnic x a y . Jedná se o plochu semenného sadu vyjadřující počet všech pozic a přímých sousedství. Tato hodnota slouží pro výpočet referenční hladiny daného řešení, kterou je hodnota teoretického minimálního rozptylu $\delta_{teor.min}^2$.
3. Vektor „clonalsize“, do nějž jsou zapsány počty ramet jednotlivých klonů určených k rozmístění, tedy klonů obsažených již ve vektoru „trees“. „Clonalsize“ slouží pro výpočet hodnoty teoretického minimálního rozptylu $\delta_{teor.min}^2$.

4. Matice „orchard“ o $x \times y$ prvcích přesně definující všechny pozice v poli, ve které jsou prázdné pozice, určené pro doplnění složkami z vektoru „trees“, označeny 0 a pozice neurčené k obsazení pomocí panmiktického algoritmu čísly.
5. Hodnota N_T , která je při použití samostatného panmiktického algoritmu pro symetrický tvar sadu bez volných pozic rovna nejvyšší hodnotě v „trees“, tedy t . V případě výskytu volných pozic uvnitř sadu, nebo neobdélníkového tvaru se její hodnota adekvátně navyšuje, podle způsobu definování těchto pozic v matici „orchard“, což je popsáno v podkapitole „Volné pozice a asymetrický tvar“.
6. Hodnota penalizace výskytu přímého sousedství stejného klonu p , čili váha separace ramet jednoho klonu. Obvykle $p=100$.
7. Volba mezi systematickým vyplňováním pozic a náhodným vyplňováním.
8. Počet nezávislých iterací celého algoritmu, tedy počet vygenerovaných řešení.
9. Číselná řada pro generování náhodných čísel.
10. Volba mezi ukládáním pouze nejlepších řešení a všech vygenerovaných řešení do textových souborů „bestorchard“ a „bestpairs“.

Spon v semenném sadu

Obecně je počítáno se stavem, kdy má mříž n pozic a spon mezi pozicemi je čtvercový. Pro obdélníkový spon v semenném sadu je možné algoritmus adekvátně upravit, a to tak, že sousedstvím v horizontálním či vertikálním směru bude přiřazována menší, nebo větší váha. Například poloviční váha přiřazená horizontálnímu sousedství, bude v konečném důsledku znamenat to, že výskyt dvou těchto přímých sousedství například dvojice klonů 1 a 2 bude roven výskytu jednoho vertikálního sousedství dvojice klonů 3 a 4. Váha přímých sousedství je tedy v podstatě také jedním z definovatelných vstupních parametrů.

Způsob doplňování do matice „orchard“ z vektoru trees

Výběr způsobu dosazování, první a dalších složek z vektoru „trees“, do matice „orchard“, je volen v závislosti na typu zadání. Buď se jedná, v případě relativně vyrovnaných počtů ramet, o postupné dosazování řádek po řádku, nebo o náhodný výběr pozice, který je vhodný v případě nevyrovnaných počtů ramet na klon. Náhodné dosazování, v případě extrémního zastoupení některého z klonů, je efektivní z toho důvodu, že nedochází k hromadění častěji zastoupeného klonu na konci pole, jak je tomu v případě postupného doplňování. Analogicky k tomu zaujímají při náhodném

vyplňování nejméně zastoupené klony pozice ve střední části matice „orchard“, které mají všechny maximální možný počet přímých sousedství, tedy 4, což vede k nejvyšší možné minimalizaci kritériální funkce, tedy rozptylu počtů přímých sousedství v matici „bestpairs“.

Volné pozice a neobdélníkový tvar semenného sadu

Při požadavku na ponechání některých prázdných pozic uvnitř semenného sadu, je na tuto pozici, v matici „orchard“ doplněna hodnota $t+1$. To zajistí, že bude tato pozice rovnoměrně obtečena všemi klony, protože algoritmus s ní bude pracovat, jako kdyby šlo o další z klonů. Vzniknou tak v podstatě vzdálenější přímá sousedství mezi některými klony, která však nebudou zahrnuta do výpočtu rozptylu.

Pro neobdélníkový tvar semenného sadu jsou tedy do matice „bestpairs“ zahrnuta i sousedství mezi prvky z vektoru „trees“ a pozicemi neurčenými pro obsazení klony, které pouze definují okraje sadu (na obr. č. 3 hodnoty 5 až 11). Hodnota výsledné kritériální funkce tedy není reálným rozptylem počtů přímých sousedství mezi rozmístěvanými klony. To ale neovlivňuje efektivitu celkové optimalizace, což je zajištěno tak, že pozice definující vnější okraje sadu, jsou do matice „orchard“ zadány ve formě neopakujících se hodnot $t+1$, $t+2$, $t+3 \dots N_T$. To spolu s vlastnostmi kritériální funkce zabezpečí, že se na okrajových pozicích budou soustředit nejpočetněji zastoupené klony a algoritmus tedy bude fungovat stejně, jako v případě obdélníkové plochy semenného sadu. Způsob definování okrajů neobdélníkového pole pro rozmístění 4 klonů, s využitím této metody, je zobrazen na obrázku č. 3.

Tento přístup k definování okrajů neobdélníkového sadu byl konfrontován s druhou variantou, ve které byla na všechny volné pozice ohraničující asymetrická pole doplňována vždy pouze jedna hodnota $t+1=N_T$ a byl shledán jako efektivnější.

```
orchard <- matrix(c(0,5,6,7,8,  
                  0,0,0,0,9,  
                  0,0,0,0,10,  
                  0,0,0,0,11,  
                  0,0,0,0,0), nrow=5, ncol=5, byrow = TRUE)
```

Obr. č.3: Způsob definování okrajů neobdélníkového pole do matice „orchard“ .

Celý algoritmus lze popsat v následujících krocích:

0. Výpočet teoretického minimálního rozptylu $\delta_{teor.min.}^2$ podle složek vektoru „*clonalsize*“ a souřadnic x a y .
1. Na základě maximální hodnoty N_T je vygenerována nulová matice párů přímých sousedství „*bestpairs*“, všech možných neuspořádaných dvojic klonů (a případně volných pozic) ij .
2. Následuje výběr pozice, z matice „*orchard*“, pro zahájení vyplňování. To může probíhat dvěma způsoby, náhodně nebo systematicky.
3. Pokud je na této pozici nenulová hodnota, jsou vyhodnocena její přímá sousedství, a ta jsou zaznamenána do „*bestpairs*“ a algoritmus pokračuje krokem 2. Pokud je tato pozice nulová, pokračuje bodem 4.
4. Výběr jednoho nenulového prvku z vektoru „*trees*“. Tento prvek je dosazen na pozici vybranou v kroku 2.
5. Přímá sousedství s dalšími klony, vzniklá dosazením vybraného prvku na danou pozici, jsou zaznamenána do matice „*bestpairs*“, která byla vygenerována v kroku 1.
6. V matici „*bestpairs*“ je vypočten rozptyl všech hodnot nad diagonálou. Suma hodnot na diagonále je vynásobena p a přičtena k tomuto rozptylu.
7. V případě, že už byly pro tuto pozici vypočítány hodnoty rozptylu pro všechny prvky z „*trees*“ přejdeme k bodu 7. V opačném případě přejdeme zpět k bodu 4.
8. Prvek z vektoru „*trees*“ dosahující nejnižší hodnoty kritériální funkce, je na pozici vybranou v kroku 2 umístěn trvale a na jeho místo je do vektoru „*trees*“ dosazena nulová hodnota. Pokud existuje více prvků z vektoru „*trees*“, zajišťující za daných podmínek stejnou a zároveň nejnižší možnou hodnotu kritériální funkce, proběhne mezi nimi náhodný výběr. Tak je tomu například vždy v případě obsazování první pozice. Tento krok zajišťuje, že jsou v počáteční fázi vyplňování schématu častěji vybírány klony s vyšším zastoupením.
9. V případě, že se v matici „*orchard*“ vyskytuje ještě alespoň jedna pozice s nulovou hodnotou, přejdeme zpět k bodu 2. V případě, že jsou všechny pozice již obsazeny, a tudíž je prázdný i vektor „*trees*“, pokračujeme k dalšímu bodu.

10. Následuje zhodnocení, zda je hodnota kritériální funkce, tedy hodnota součtu rozptylu matice „*bestpairs*“ a prvků na diagonále vynásobených hodnotou penalizace celého tohoto řešení nižší, než kritériální funkce nejlepšího z předchozích řešení. Pokud tomu tak je, je řešení uloženo do textových souborů „*bestorchard*“ a „*bestpairs*“. Pokud ne, je řešení vymazáno. Pokud byla vybrána varianta ukládání všech řešení, bez ohledu na jejich hodnotu kritériální funkce, obsahují soubory „*bestorchard*“ a „*bestpairs*“ posloupnost všech řešení.
11. Pokud byla tato iterace v pořadí poslední, je celý proces ukončen. Pokud ne, pokračuje proces znovu od bodu 1.

Výstupy procesu jsou:

- Schéma sadu „*bestorchard*“, pro nejlepší vygenerované řešení (případně schémata všech vygenerovaných řešení) ve formě textového souboru, ve kterém jsou jednotlivé klony značeny příslušnými číslicemi analogicky k vektoru „*trees*“. Pro každé uložené schéma tento textový soubor obsahuje i hodnotu kritériální funkce a rozptylu hodnot nad diagonálou (z matice párů „*bestpairs*“).
- Matice párů „*bestpairs*“, udávající počty přímých sousedství jednotlivých klonů, pro každé uložené výsledné schéma ve formě textového souboru.
- Vypsání schématu semenného sadu, kritériální funkce, rozptylu, celkového času, času pro jednu iteraci a hodnoty teoretického ideálního rozptylu do konzole.

Je třeba poznamenat, že v případě neobdélníkového tvaru sadu a při výskytu prázdných pozic uvnitř sadu není hodnota vypočtené kritériální funkce při současné podobě algoritmu reálnou hodnotou, ale zahrnuje v sobě i sousedství složek zadaných do „*orchard*“, které jsou ve skutečnosti prázdnými pozicemi. Tuto hodnotu lze však lehce odvodit ze souboru „*bestpairs*“.

Minimálně panmiktický algoritmus byl testován na 30 zadáních. Tato zadání se lišila ve velikosti mřížky, poměru jejich stran, v závislosti na velikosti zadání v počtu ověřených iterací, v počtu klonů a v počtu ramet na klon. Pro každé zadání byl testován jak postup systematického, tak náhodného vyplňování mřížky. Byly testovány jak ideální zadání (1 až 6), kdy byly všechny klony zastoupeny vyrovnaným počtem ramet,

tak i extrémní a v reálu se nevyskytující situace (7 až 30), kdy byly některé klony zastoupeny pouze jednou rametou. Funkčnost algoritmu tak byla ověřena ve všech situacích. Pro všechna zadání byla použita posloupnost čísel pro generátor náhodných čísel ve tvaru 12345. Všechny ověřené typy zadání jsou obsaženy v tabulce č. 3.

Zadání	Tvar pole (x x y)	Počet klonů	Ramet na klon (<i>clonalsize</i>)	Ověřených terací
1	20 x 20	20	20, 20	20
2	15 x 15	25	9, 9	50
3	10 x 10	10	10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10	500
4	10 x 10	5	20, 20, 20, 20, 20	500
5	8 x 8	8	8, 8, 8, 8, 8, 8, 8, 8	200
6	8 x 8	16	4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4	200
7	8 x 8	5	16, 16, 16, 8, 8	1000
8	8 x 8	6	16, 12, 12, 10, 8, 6	1000
9	8 x 8	6	24, 8, 8, 8, 8, 8	1000
10	8 x 8	4	18, 18, 14, 14	1000
11	7 x 7	5	21, 7, 7, 7, 7	1000
12	7 x 7	5	14, 14, 7, 7, 7	1000
13	7 x 7	7	9, 9, 9, 6, 6, 6, 4	1000
14	7 x 7	5	14, 12, 10, 8, 5	1000
15	7 x 7	6	20, 20, 3, 3, 3, 3	1000
16	6 x 6	5	12, 6, 6, 6, 6	1000
17	6 x 6	4	12, 12, 6, 6	1000
18	6 x 6	4	12, 10, 8, 6	1000
19	6 x 6	5	12, 7, 6, 6, 5	1000
20	6 x 6	5	10, 10, 10, 3, 3	1000
21	6 x 6	9	10, 9, 8, 2, 2, 2, 1, 1, 1	1000
22	6 x 6	4	12, 12, 11, 1	1000
23	5 x 5	4	10, 5, 5, 5	1000
24	5 x 5	3	10, 10, 5	1000
25	5 x 5	4	10, 7, 5, 3	1000
26	5 x 5	5	8, 8, 7, 1, 1	1000
27	5 x 5	5	7, 6, 5, 4, 3	1000
28	4 x 4	4	5, 5, 3, 3	1000
29	9 x 6	7	10, 9, 9, 7, 7, 6, 6	500
30	16 x 8	9	16, 16, 15, 15, 15, 15, 13, 12, 11	500

Tab.č. 3: Testovaná zadání minimálně panmiktického algoritmu, lišící se ve tvaru sadu, počtu klonů, ramet a ověřených iterací.

Pro testování algoritmu a generování výsledných řešení byl použit počítač s procesorem Intel(R) Core(TM) i5-4460 CPU @ 3.20GHz a RAM 8,00 GB. Dále bylo použito RStudio verze 0.99.467 a MS Excel verze 2007.

Referenční hladina algoritmu

Výsledné rozptyly hodnot nad diagonálou „*bestpairs*“ byly porovnány s referenční hladinou, která byla vypočtena zvlášť pro každé zadání. Jedná se o výpočet teoretického minimálního rozptylu hodnot v matici „*bestpairs*“. Tento výpočet byl naprogramován taktéž v jazyku R jako součást minimálně

panmiktického algoritmu a probíhá paralelně s optimalizací celého sadu. Jeho vstupními hodnotami je dílčí část vstupních hodnot celého algoritmu a to konkrétně:

- Parametry mříže schématu semenného sadu x a y , sloužící pro výpočet počtu přímých sousedství na dané symetrické mříži bez vnitřních volných ploch.
- Vektor „*clonalsize*“, který udává počty ramet na klon.

Teoretický ideální počet přímých sousedství dvojice klonů ij je vypočítán následovně

$$N_{ij} = \frac{N_g * (r_i * r_j)}{\sum_{vij \in C} r_i * r_j}, \quad (5)$$

kde r_i je počet ramet i tého klonu a r_j počet ramet j tého klonu, N_g jsou přímá sousedství na mříži.

Teoretický minimální rozptyl je poté rozptyl všech hodnot N_{ij} pro všechny neuspořádané dvojice ij z množiny $Co\binom{t}{2}$ prvcích:

$$\delta_{teor.min.}^2 = \frac{1}{\binom{t}{2}} * \sum_{vij \in C} \left[N_{ij} - \frac{N_g}{\binom{t}{2}} \right]^2, \quad (6)$$

$$\{i, j\} = \{j, i\}; i \neq j \quad (7)$$

Tento výpočet bere v úvahu skutečnost, že při nevyrovnaných počtech ramet je nutné v reálném schématu umisťovat méně četné klony do pozic s větším počtem přímých sousedství, tedy do středu pole, kde má každá pozice právě 4 přímá sousedství a nejvíce zastoupené klony do rohových a krajních pozic, kde má každá pozice pouze 3 nebo 2 přímá sousedství.

Minimální rozptyl je pouze teoretický, protože jeho výsledky jsou vypočteny na základě hodnot N_{ij} , které však nejsou celočíselné.

S jeho hodnotou lze výsledky porovnávat v případě, kdy matice „*orchard*“ obsahuje pouze nulové složky. Jde tedy o situace, kdy je plocha semenného sadu obdélníková a nejsou v ní přítomny prázdné pozice. Zároveň je to stav, kdy se počet prvků vektoru „*trees*“ rovná počtu souřadnic matice „*orchard*“. Teoretický minimální rozptyl byl tedy použit k hodnocení efektivnosti základní verze

algoritmu. Výpočet hodnoty teoretického minimálního rozptylu pro neobdélníkové pole je založen na stejném principu, ale do základní verze algoritmu nebyl, z důvodu obtížnosti definování počtu přímých sousedství takového pole, zahrnut.

4.2. Hybridní schéma s využitím MI designu

Minimálně inbrední design (MI) se využívá při zakládání sadů vyšších generací, v nichž existují různé úrovně příbuznosti mezi jednotlivými klony. Hybridní schéma v sobě kombinuje klonové řady vytvořené z ramet příbuzných klonů pomocí MI designu a maximálně panmiktické schéma, které do zadání, již obsahující tyto klonové řady, umísťuje zbývající nepřibuzné klony z vektoru „*trees*“.

Vstupními parametry MI designu jsou matice C a D. Obě matice mají $n \times n$ prvků pro n počet pozic ve výsledném schématu. Matice C obsahuje vyjádření příbuzenských vztahů mezi všemi jedinci (tedy všemi rametami všech klonů), přičemž pro vyjádření minimální příbuznosti je používána hodnota 100) a nižší hodnoty vyjadřují určitý příbuzenský vztah, a matice D vzájemné vzdálenosti všech dvojic pozic v zadaném schématu. Tyto matice jsou generovány souborem rutinních postupů s využitím MS Excel a R studia pro nepravidelné tvary sadů, jak je to uvedeno v Lstibůrek a kol. (2015). Dalšími vstupními parametry MI designu jsou počet nezávislých iterací, tvar pole a jeho spona posloupnost čísel pro generátor náhodných čísel.

Optimalizační problém je v případě MI schématu definován následovně:

$$\min \rightarrow \sum_{i,j=1}^n \sum_{k,l=1}^n c_{i,j} d_{k,l} x_{i,j} x_{j,l} \quad (8)$$

kde ij jsou všechny páry klonů, kl jsou páry pozic, $c_{i,j}$ vyjadřuje míru příbuznosti klonů ij , $d_{k,l}$ vyjadřuje vzdálenost pozic kl , x jsou binární proměnné (Lstibůrek a kol. 2015). V případě klonových řad, se do kriteriální funkce nezahrnuje penalizace samosprášení v rámci těchto řad.

Referenční hladinou, pro porovnání kvality výsledného MI řešení, z pohledu optimalizace vzdáleností mezi příbuznými klony a v rámci jednotlivých klonů, je minimální vzdálenost, která je odvozena jako

$$d_{\min} = \sum_{l=1}^C \sum_{i=1}^K \sum_{j=i+1}^K \frac{1}{d_{il,jl}^2} \quad (9)$$

kde d je vzdálenost mezi i a j rametou l klonu, C je počet klonů a K je počet ramet na klon (Lstibůrek a kol. 2015).

Postup předdefinování klonových řad pro hybridní schéma je následovný:

5. Klonové řady mají lichý počet pozic q , aby mohly být podle svého středu umístěny do zjednodušeného schématu pro výpočet matice D a pro generování MI řešení. V zadaném schématu se proto horizontálně nebo vertikálně vyznačí každá q -tá řada nebo sloupec. Pouze tyto řady nebo sloupce tvoří zadání řešené MI designem.
6. Pomocí MI algoritmu se vyplní zjednodušené zadání skládající se pouze z těchto, k sobě přiřazených, q -tých sloupců či řádků. C matice musí být pro tento účel doplněna dalšími, vzájemně nepříbuznými klony. Míru optimalizace lze upravovat různými hodnotami C_{ij} . Ty se mohou pohybovat od 0 do 100, přičemž nižší hodnota vede k intenzivnější separaci dvojice jedinců. Pro podobu výsledného schématu jsou rozhodující poměry mezi C_{ij} v rámci příbuzných klonů rozmístěvaných do klonových řad, C_{ij} v rámci ostatních, vzájemně nepříbuzných klonů a C_{ij} mezi příbuznými klony.
7. Schéma vzniklé MI optimalizací je poté horizontálně či vertikálně roztaženo a přepsáno, nejjednodušeji pomocí tabulkového editoru, do q násobku své šířky, čili do původní reálné velikosti, a tedy i do podoby klonových řad.
8. Pro další postup a propojení s panmiktickým algoritmem jsou ve výsledném MI schématu ponechány pouze klonové řady tvořené vzájemně příbuznými klony. Pro samotné řešení je však nezbytné počítat při generování této MI kostry i s ostatními klony, a to z důvodu, který je popsán v kroku 2.

Hlavní rozdíly ve vstupních údajích, při řešení hybridního algoritmu se týkají matice „orchard“ a hodnoty N_T .

- Hodnota N_T se rovná počtu klonů rozmístěných do klonových řad.
- Matice „orchard“ o $x \times y$ prvcích, ve které jsou prázdné pozice určené pro doplnění označeny 0 a pozice neurčené k obsazení pomocí panmiktického algoritmu označeny číslem, v sobě již obsahuje předdefinované klonové řady. Stejně, jako je tomu

v případě požadavku na prázdné pozice (viz. Volné pozice a neobdélníkový tvar), musí být souřadnice „orchard“, s již umístěnou klonovou řadou, nenulové. V tomto případě je počet klonů rozmístěných v podobě klonových řad roven N_T a v „orchard“ je značen příslušnými čísly $t+1, t+2, t+3 \dots t+N_T$. Tato čísla jsou podle pozic příslušných klonových řad ze schématu vzniklého v kroku 4 popisu hybridního algoritmu přepsána do matice „orchard“.

Celý postup vyplňování pole sadu je totožný s popisem v kapitole Panmiktický algoritmus. V případě využití klonových řad ale odpadá možnost počítat s referenční hladinou ve stejné formě, jako byla použita pro samostatný algoritmus. Výstupy celého procesu jsou také shodné, tedy matice „bestpairs“, výsledný diagram „bestorchard“ a hodnota rozptylu a kritériální funkce.

Řešení konkrétního zadání pomocí hybridního schématu

Hybridní design byl použit pro vygenerování schématu určeného pro založení semenného sadu ve Spojených státech (*Abies fraseri*, NCSU Christmas Tree Genetics Program). Tento sad má celkem 666 pozic a má asymetrický tvar pole. Nenachází se něm žádné volné pozice. V sadu mělo být rozmístěno celkem 22 klonů, přičemž 2 z nich měly jednoho společného předka. Klon č. 1 byl zastoupen v počtu 35 ramet a klon 2 v počtu 30 ramet. Další klony byly zastoupeny ve vyrovnaných počtech pohybujících se od 20 do 21 ramet. Veškerá data poskytl prof. John Frampton.

Tyto dva klony byly rozmístěny pomocí MI designu do podoby klonových řad. Zúžené schéma pro použití MI designu mělo 145 pozic. Příbuzný klon č. 1 byl zastoupen v počtu 7 ramet a příbuzný klon č. 2 v počtu 6 ramet. Další, doplňující klony, byly zastoupeny v počtech pohybujících se od 6 do 7 ramet. Oproti originálnímu zadání byly však hodnoty použité pro vypracování této práce částečně pozměněny. Pro nalezení optima byla postupně vygenerována řešení, která zahrnovala různé hodnoty mezi příbuznými klony a v rámci klonů. Tato řešení uvádí následující tabulka č. 4. Pro každé z těchto schémat bylo vygenerováno 30 iterací. Ve výsledném schématu byla pozice klonových řad upravena tak, aby obsáhly všechny zadané klony. Na schématu č. 3 je zobrazen způsob definování okrajů tohoto pole. Jedná se tedy v podstatě o vstupní hodnoty matice „orchard“.

Číslo zadání	V rámci příbuzných klonů	V rámci nepříbuzných klonů	Mezi příbuznými klony
1	25	25	50
2	50	50	75
3	50	50	80
4	50	50	85
5	25	25	12,5
6	50	50	50
7	50	50	50
8	50	100	50
9	25	100	50

Tab. č. 4: Váhy separace pro vztahy v rámci příbuzných klonů, v rámci nepříbuzných klonů a mezi příbuznými klony, pro která bylo generováno MI schéma zahrnující klonové řady.

73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	42	43	0	0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	21	21	44	73	73	73	73	73	73						
73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	41	22	22	22	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45	73	73	73	73	73	73					
73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	39	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	46	73	73	73	73	73	73						
73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	73	35	36	37	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	47	73	73	73	73	73	73						
73	73	28	29	30	31	32	33	34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	47	73	73	73	73	73	73						
73	27	21	21	21	21	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	49	73	73	73	73	73	73						
26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	22	22	22	22	50	73	73	73	73					
25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	21	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	51	73	73	73				
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	52	73	73	73			
23	0	0	22	22	22	22	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	53	73	73	73		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	54	73	73	73		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	55	56	73	73		
72	71	70	69	68	67	66	65	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	21	21	21	21	0	0	0	0	57	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	22	22	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	58	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	64	21	21	21	21	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	59	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	60	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	61	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	61	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	62	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	63	73	73	
73	73	73	73	73	73	73	59	0	0	0	0	0	22	22	22	22	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	64	73	73
73	73	73	73	73	73	73	58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	65	73	73
73	73	73	73	73	73	73	57	21	21	21	21	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66	73	73

Schéma č. 3: Vstupní data pro vytvoření matice „orchard“. při řešení výsledného hybridního schématu.

4.3. Alternativní přístupy k řešení daného zadání

Při vývoji algoritmu jsem postupovala od značně zjednodušené první formy zadání a k výslednému algoritmu jsem dospěla až po zvážení několika různých přístupů. Zde uvádím nastínění dvou z nich:

Heuristika opakující vyvážené bloky

Zde se jednalo o případ semenného sadu o rozměrech $k \times l = 4 \times 4$ pozice. Úkolem bylo rozmístit čtyři klony (A,B,C,D) s vyrovnanými počty ramet, tedy 4 ramet na klon tak, aby byly počty všech typů přímých meziklonových sousedství jichž je v tomto případě 6: AB, AC, AD, BC, BD, CD, vyrovnané, tedy pro tento konkrétní

případ rovny 4. Sousedství ramet jednoho klonu (AA, BB, CC, DD) byla zcela vyloučena.

Při řešení jsem vycházela z rozmístění

$$\begin{array}{ccc}
 \color{green}{A} & AB & \color{green}{B} \\
 A & \color{yellow}{AB} & B \\
 \\
 C & \color{yellow}{CD} & D \\
 \color{green}{C} & CD & \color{green}{D}
 \end{array} \tag{1}$$

Zrcadlením žlutě vyznačeného čtverce podle středu, tedy dosazením A za D a B za C a následnou rotací zelených rohů o 90° vlevo, tedy dosazením A za C, C za D, D za B a B za A, jsem dosáhla následujícího optimálního řešení (2) s vyrovnanými počty sousedství mezi jednotlivými klony

$$\begin{array}{ccc}
 \color{red}{B} & AB & \color{red}{D} \\
 \color{red}{A} & DC & \color{red}{B} \\
 \\
 \color{red}{C} & BA & \color{red}{D} \\
 \color{red}{A} & CD & \color{red}{C}
 \end{array} \tag{2}$$

Dále jsem řešila problém rozšíření této heuristiky na větší oblast postupným přidáváním takto vzniklých bloků. Pouhým obkládáním těchto bloků však nevznikají vyrovnané počty sousedství. Proto jsem všechny bloky přikládáné na diagonále, tedy do pravého dolního rohu, transformovala zrcadlením podle osy vedené úhlopříčně zleva doprava a rotovala o 90°. Vznikl tak následující blok (3), který si zachoval vyrovnané počty přímých sousedství

$$\begin{array}{ccc}
 \color{brown}{A} & \color{brown}{CD} & \color{brown}{C} \\
 \color{brown}{C} & \color{brown}{BA} & \color{brown}{D} \\
 \color{brown}{A} & \color{brown}{DC} & \color{brown}{B} \\
 \color{brown}{B} & \color{brown}{AB} & \color{brown}{D}
 \end{array} \tag{3}$$

Výsledné schéma, po dosazení několika obtečení původního bloku (2) zde značeného 2 s využitím upraveného bloku (2) zde značeného 3, bylo následovné:

$$\begin{array}{ccc}
 \color{red}{2} & \color{red}{2} & \color{red}{2} \\
 \color{red}{2} & \color{red}{3} & \color{red}{2} \\
 \color{red}{2} & \color{red}{2} & \color{red}{3}
 \end{array} \tag{4}$$

Takto vznikla při prvním obtečení bloku 2 nová sousedství, a to konkrétně horizontální mezi bloky 2 (AB, AC, BD, CD), vertikální mezi bloky 2 (AB, AC, BD,

CD) a sousedství levé a horní strany bloku 3 s bloky 2 (AD, AD, BC, BC, AA, BB, CC, DD). Při dalším obtečení vznikají navíc sousedství pravé a spodní strany bloku 3 a bloků 2 (AD, AD, BC, BC, AA, BB, BB, DD).

Pro první obtékání se hodnoty výskytu sousedství v následujícím pořadí rovnají:

(AA, AB, AC, AD, BC, BD, CD, AA, BB, CC, DD)

(18, 18, 18, 18, 18, 18, 1, 0, 2, 1)

Při druhém obtékání již:

(40, 40, 40, 40, 40, 40, 3, 3, 3, 3)

Tato heuristika není schopna vyloučit výskyt sousedství v rámci klonů, avšak stává se efektivnější s rostoucím počtem obtékání, protože četnost těchto nežádoucích sousedství, ve vztahu počtu obtékání, roste lineárně, zatímco vyrovnané četnosti sousedství mezi klony rostou exponenciálně.

Heuristika optimální sady permutací

Pro obecnější a větší zadání, zahrnující více klonů, je možné zvažovat metodu používající permutace. Ta vychází z toho, že každá permutace t -tice klonů obsahující každý klon pouze jednou má při vyrovnaní do vodorovné řady k dispozici $t-1$ sousedství. Počet všech možných sousedství mezi klony je roven $\binom{t}{2}$. Pro dosažení jednoho opakování všech možných sousedství mezi klony je tedy třeba vygenerovat následující počet permutací, který označíme P , a lze vyjádřit následovně

$$P = \frac{\binom{t}{2}}{t-1} \quad (10)$$

Tyto permutace musí být samozřejmě optimální v tom smyslu, že právě ony zajišťují vyrovnaný počet přímých sousedství mezi klony. Zároveň tato metoda zanedbává sousedství vzniklé přechody z jedné permutace do druhé. Zde uvádím příklad takovéto řady dvou permutací pro $t = 4$, tedy sadu klonů obsahující A, B, C a D, ve které se vyskytuje každé sousedství, až na CD, které je zastoupeno dvakrát, právě jednou

A B CD C AD B

Podstata této heuristiky optimální sady permutací spočívá v tom, že po zopakování této sady na následující řadu a posunu o jednu pozici vpravo, vzniknou v této druhé řadě nejen stejná vertikální sousedství jako v první řadě, ale tato sousedství se objeví, právě díky posunu o jednu pozici, i jako diagonální mezi první a druhou řadou, jak ukazuje následující schéma, ve kterém se sousedství CD vyskytuje čtyřikrát a každé ostatní dvakrát

$$\begin{array}{cccccc} A & B & CD & C & AD & Bx \\ x & A & BC & D & CA & DB \end{array}$$

Toto je pouze nástin možného využití permutací při řešení designů semenných sadů. Nevýhody tohoto schématu spočívají v nutnosti dále optimalizovat takto vzniklá volná místa s využitím přebývajících klonů a v jeho vysokých nárocích na velikost pole. Dále zde také zřejmě nepřipadá v úvahu možnost kombinace s jinými designy.

5. Výsledky

5.1. Panmiktický algoritmus

Tabulka č. 5 udává výsledky testování samostatného panmiktického algoritmu. Uvádí číslo zadání, tvar plochy, počty ramet, teoretický minimální rozptyl, hodnotu kritériální funkce pro nejlepší řešení vygenerované pomocí systematického vyplňování „orchard“ a pořadové číslo tohoto řešení, stejně jako pro řešení generované pomocí náhodného výběru pozice pro dosažení dalšího klonu. Červeně je zvýrazněna hodnota teoretického minimálního rozptylu a nejnižší dosažená hodnota kritériální funkce.

Zadání	Tvar pole (x x y)	Ramet na klon (clonalsize)	Teor. min. rozptyl	Systematické		Náhodné	
				Krit. fce.	Pořadí iterace	Krit. fce.	Pořadí iterace
1	20 x 20	vyrovnaný počet	0,00	0,13	13	*	*
2	15 x 15	vyrovnaný počet	0,00	0,24	1	*	*
3	10 x 10	vyrovnaný počet	0,00	0,09	44	*	*
4	10 x 10	vyrovnaný počet	0,00	0,00	8	0,20	216
5	8 x 8	vyrovnaný počet	0,00	0,07	184	0,29	455
6	8 x 8	vyrovnaný počet	0,00	0,15	56	*	*
7	8 x 8	16, 16, 16, 8, 8	21,07	27,36	310	29,96	997
8	8 x 8	16, 12, 12, 10, 8, 6	8,43	13,85	434	9,45	113
9	8 x 8	24, 8, 8, 8, 8, 8	17,84	1901,89	450	818,20	241
10	8 x 8	18, 18, 14, 14	7,41	7,56	575	10,22	520
11	7 x 7	21, 7, 7, 7, 7	20,91	1603,96	700	532,49	875
12	7 x 7	14, 14, 7, 7, 7	13,49	24,64	269	21,24	90
13	7 x 7	9, 9, 9, 6, 6, 6, 4	2,01	1,90	189	2,19	839
14	7 x 7	14, 12, 10, 8, 5	12,38	16,44	97	15,04	248
15	7 x 7	20, 20, 3, 3, 3, 3	70,71	147,84	877	303,45	901
16	6 x 6	12, 6, 6, 6, 6	4,41	401,24	995	13,60	254
17	6 x 6	12, 12, 6, 6	17,16	29,67	22	30,67	885
18	6 x 6	12, 10, 8, 6	8,85	14,67	464	12,67	403
19	6 x 6	12, 7, 6, 6, 5	5,08	401,44	179	13,40	220
20	6 x 6	10, 10, 10, 3, 3	17,42	22,00	9	20,60	365
21	6 x 6	10, 9, 8, 2, 2, 2, 1, 1, 1	5,96	7,89	648	7,11	179
22	6 x 6	12, 12, 11, 1	72,13	81,00	111	76,00	92
23	5 x 5	10, 5, 5, 5	4,94	302,81	52	12,22	407
24	5 x 5	10, 10, 5	22,22	46,89	2	40,22	119
25	5 x 5	10, 7, 5, 3	11,20	24,22	255	21,56	709
26	5 x 5	8, 8, 7, 1, 1	18,50	21,40	90	19,60	246
27	5 x 5	7, 6, 5, 4, 3	2,08	1,80	80	2,00	155
28	4 x 4	5, 5, 3, 3	1,45	1,67	23	1,33	86
29	9 x 6	10, 9, 9, 7, 7, 6, 6	1,23	1,10	39	1,20	900
30	16 x 8	16, 16, 15, 15, 15, 15, 13, 12, 11	1,59	1,08	15	1,36	154
31	16 x 8	29, 14, 14, 14, 14, 14, 14, 14, 1	16,93	1509,75	43	2021,46	160

Tab. č. 5: Výsledky testování panmiktického algoritmu. *zadání, pro něž nebylo generováno pole metodou náhodného výběru pozice.

Je však třeba poznamenat že v případě vyrovnaných počtů ramet vychází hodnota minimálního teoretického rozptylu vždy 0. Není však jasné, zda lze této hodnoty pokaždé dosáhnout. Například v matici „*bestpairs*“ pro zadání č. 2 na obr. č. 4 se vyskytují jen hodnoty 1 a 2, hodnota číslo 3 je zastoupena pouze jednou a celá diagonála je nulová. Jedná se zřejmě o optimální řešení s téměř nejnižším možným rozptylem. Teoretický minimální rozptyl je důležitý, především pro hodnocení kvality zadání s nevyrovnanými počty ramet na klon. Schéma č. 4 znázorňuje i výsledné rozmístění klonů pro toto zadání, které odpovídá počty přímých sousedství matici na obr. č. 4. Jednotlivé klony jsou odlišeny barevně a označeny příslušným číslem podle vektoru „*trees*“.

1	*
2	1
3	0 1 1 1 2 1 1 2 1 2 1 2 1 2 2 1 2 1 1 1 1 1 1 2 1 1
4	1 0 2 2 2 1 2 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 2 1 2 1 2
5	1 2 0 1 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 1 2 1 1 1 2 2 1 2 2 1
6	1 2 1 0 1 1 1 1 2 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 2 2 2 1 1 2
7	2 2 2 1 0 2 2 1 1 2 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 1 2 1 1 2 1 2
8	1 1 1 1 2 0 2 2 1 1 2 2 2 1 1 2 1 1 1 1 1 1 1 2 1 2
9	1 2 1 1 2 2 0 2 1 1 1 2 1 2 2 2 1 2 1 1 2 1 1 1 1 1
10	2 1 1 1 1 2 2 0 2 2 1 1 2 1 1 2 2 1 1 1 2 1 1 1 1 1
11	1 1 1 2 1 1 1 2 0 1 1 2 2 2 2 1 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1
12	2 1 1 1 2 1 1 2 1 0 2 1 1 1 2 1 2 1 2 2 1 2 2 2 1
13	1 2 1 1 2 2 1 1 1 2 0 3 1 2 1 1 1 1 1 2 1 2 1 2 1 2
14	2 1 1 1 1 2 2 1 2 1 3 0 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2
15	1 1 1 1 1 2 1 2 2 1 1 1 0 2 2 1 1 2 1 2 1 2 1 2 1 1
16	2 1 2 1 1 1 2 1 2 1 2 2 2 0 1 1 1 2 1 1 2 2 1 1 2 1
17	2 1 1 2 1 1 2 1 2 2 1 1 2 1 0 2 1 1 1 2 2 2 1 1 1 1
18	1 2 2 2 1 2 2 2 1 1 1 2 1 1 2 0 1 1 1 1 1 1 1 2 2
19	2 1 1 2 2 1 1 2 1 2 1 1 1 1 1 1 0 2 2 2 1 1 1 2 1
20	1 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 2 2 2 1 1 2 0 1 1 1 2 2 2 2
21	1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 1 1 1 1 1 1 2 1 0 2 2 2 1 2 1
22	1 1 2 2 1 1 1 1 1 2 2 2 2 1 2 1 2 1 2 0 1 1 2 2 1
23	1 2 2 2 1 1 2 2 1 1 1 1 1 2 2 1 1 1 2 1 0 1 2 2 2
24	1 1 1 2 2 1 1 1 2 2 2 2 1 2 2 1 1 2 2 1 1 0 2 1 1
25	2 2 2 1 1 2 1 1 1 2 1 1 2 1 1 1 1 2 1 2 2 2 0 1 1
26	1 1 2 1 1 1 1 1 1 2 2 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 1 1 0 2
27	1 2 1 2 2 2 1 1 1 1 1 2 1 1 1 2 1 2 1 1 2 1 1 2 0
28	

Obr. č. 4 : Matice „*bestpairs*“ pro zadání č. 2 zahrnující 25 klonů po 9 rametách.

19	18	25	2	1	21	5	16	20	18	9	17	13	9	1
14	22	13	23	5	22	2	8	9	12	10	11	1	25	7
6	7	24	10	6	9	11	24	19	5	4	8	19	10	13
17	3	15	1	23	15	22	6	12	24	17	14	20	5	15
2	16	18	8	22	10	17	1	3	21	8	23	4	7	8
7	21	14	10	16	7	19	22	24	25	20	21	2	12	13
15	6	25	3	4	9	21	4	1	12	11	18	24	4	11
14	3	5	9	14	2	13	18	17	20	3	23	16	13	19
13	20	2	15	16	6	5	7	23	24	18	2	19	6	4
3	22	25	4	9	23	11	14	12	17	5	10	21	11	25
19	15	17	21	24	20	15	1	16	7	11	20	15	16	8
23	25	16	12	14	7	12	20	6	18	10	23	21	2	3
1	18	4	22	5	8	6	13	8	12	22	18	14	11	24
8	17	20	19	25	21	7	15	10	1	14	13	9	12	25
9	19	10	24	16	3	2	4	17	5	3	23	22	11	6

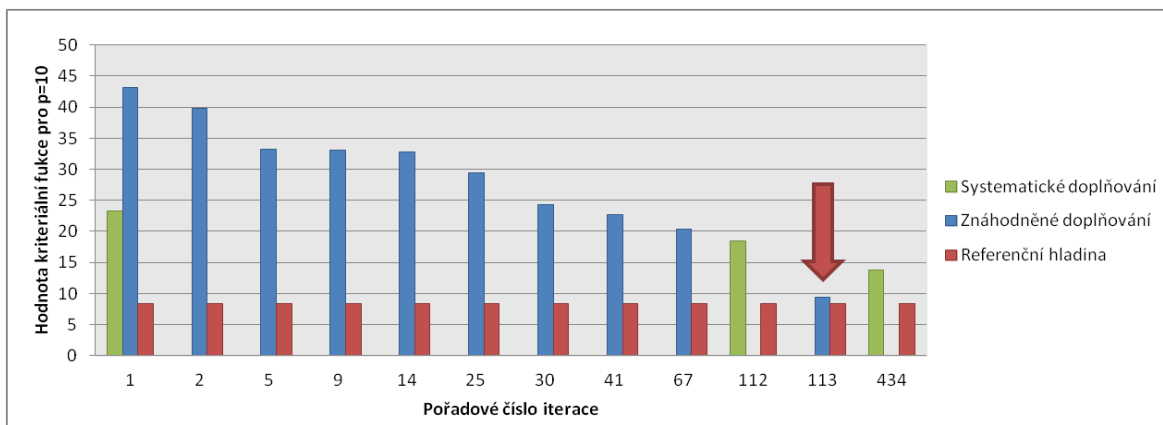
Schéma č. 4: Výsledné rozmístění pro zadání č. 2.

Jako řešení zadání s nevyrovaným zastoupením klonů zde uvádím schéma č. 5, pro zadání č. 8. Nejvíce zastoupený, žlutě označený, klon č. 1 je umístován do okrajových pozic a červený klon, s nejnižší četností pouze do středu pole. Tento stav je žádoucí, pokud se například snažíme o vyrovnaní rodičovských příspěvků všech klonů. Výsledná hodnota rozptylu pro toto zadání je rovna 9,45. Ve schématu se vyskytuje veliký počet diagonálních sousedství 1. klonu. Ta však v této fázi vývoje algoritmu nebyla optimalizována.

1	5	3	2	3	5	2	1
4	3	4	1	6	3	1	4
5	2	5	4	2	5	4	1
1	3	1	3	6	3	2	3
2	1	5	2	4	2	4	1
1	6	1	6	3	1	5	2
2	1	6	4	1	2	6	4
1	3	5	2	3	4	3	1

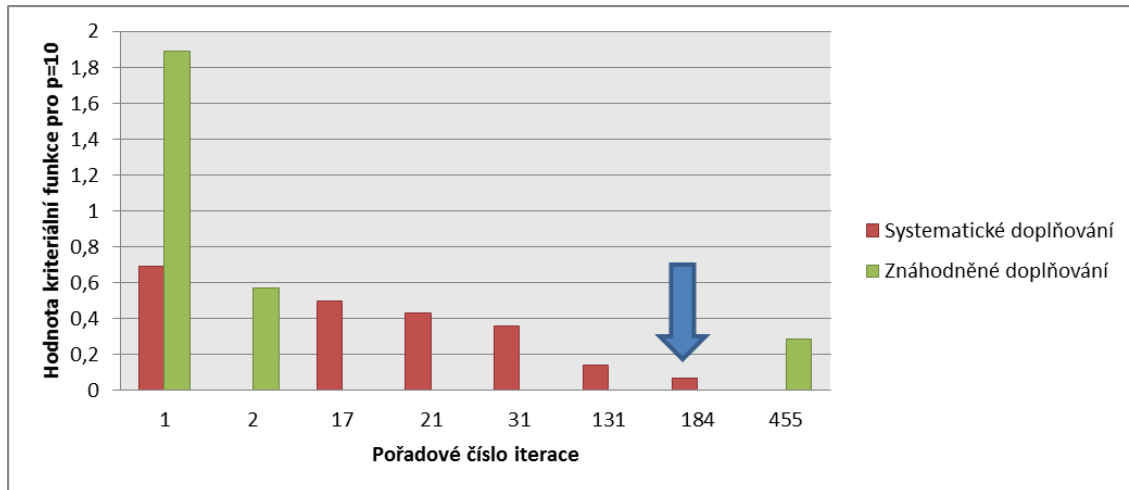
Schéma č. 5: Výsledné rozmístění pro zadání č. 8.

Následující graf č. 4 zobrazuje rozdíl v efektivitě algoritmu, při volbě systematického výběru pozice pro doplňování klonů do plochy sadu, a při náhodném výběru pozic, pro zadání č. 8. Systematické doplňování dosahuje, i v případě nevyrovaného zastoupení jednotlivých klonů, dobrých výsledků již po první proběhnuté iteraci. Náhodné doplňování dosahuje obdobné hodnoty kriteriální funkce až později, avšak hodnota rozptylu 9,45 dosažená při 113. iteraci je nakonec nejnižší ze všech řešení. Červeně je vyznačena hodnota referenční hladiny, které bylo v tomto případě téměř dosaženo. Pro názornost byla oproti původnímu zadání, pro účel zobrazení v grafické podobě, hodnota penalizace (p) snížena ze 100 na 10. Výsledné schéma, této 113 iterace, je zobrazeno výše, jako schéma č. 5.



Graf č. 4: Porovnání efektivity algoritmu při systematickém a náhodném vyplňování plochy pro zadání č. 8 zahrnující nevyrovnané počty klonů.

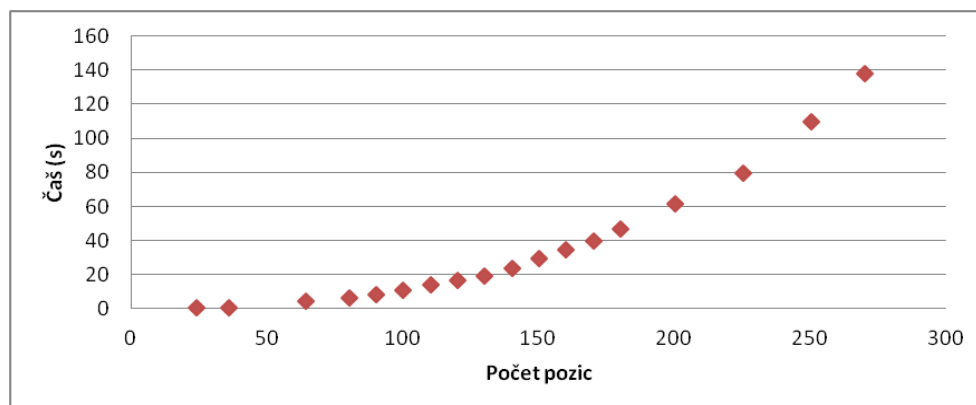
Graf č. 5 zobrazuje, stejně jako graf č. 4, vývoj přibližování se k referenční hladině daného zadání pro obě možné metody doplňování pole semenného sadu. Zde se jedná o zadání č. 5, pro které je referenční hladina rovna 0. V tomto případě jde o čtvercové schéma s vyrovnanými počty ramet, konkrétně 16 klonů, každý zastoupen 4 rametami. Nejnižší hodnoty kritériální funkce bylo dosaženo při systematickém vyplňování při 184. iteraci, kdy se rovnala 0,07.



Graf č. 5: Porovnání efektivity algoritmu při systematickém a náhodném vyplňování plochy pro zadání č. 4 zahrnující vyrovnané počty klonů.

Graf č.6 uvádí na ose y čas potřebný pro proběhnutí jedné iterace v sekundách, v závislosti na velikosti řešeného pole, které je vyjádřeno počtem pozic sadu na ose x. Například pro pole o 100 pozicích, jsou pro proběhnutí 1000 iterací potřebné 3 hodiny času. Pro pole o 250 pozicích již 30 hodin času. Zde samozřejmě závisí na výkonu

počítače. Při vyrovnaných počtech ramet není, dle dosavadních zkušeností, nutné pro dosažení optima generovat takové množství řešení.



Graf č. 6: Čas potřebný pro vygenerování jednoho řešení pro různě velké plochy sadu.

Pro úplnost dále uvádím i výsledky vyplňování neobdélníkového pole, pro nevyrovnaný počet ramet. Algoritmus pracuje efektivně i v této situaci a dosazuje nejvíce zastoupené klony do okrajových pozic. Klony byly v tomto případě zastoupeny v počtu 6, 5, 4, 2, 1, pole bylo vyplňováno pomocí náhodného výběru pozic a proběhlo celkem 100 iterací. Schéma č. 6. zobrazuje matici „*bestpairs*“ nejlepšího řešení. Černě je značeno 6 rozmísťovaných klonů, šedě volné pozice definující okraje pole. Zvýrazněny jsou hodnoty vzniklých přímých sousedství, ze kterých byl dodatečně dopočítán výsledný $\delta^2 = 3,24$. Vstupní matice „*orchard*“ pro toto zadání je na obrázku č. 3. Schéma č. 7 zobrazuje výsledný design pole pro toto zadání, ve kterém jsou zvýrazněny rozmístěné klony a prázdné pozice jsou značeny šedě.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0	5	4	3	1	2	0	1	0	1	0	2
2	5	0	6	2	2	0	0	0	0	0	1	0
3	4	6	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
4	3	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
5	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
7	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
8	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
10	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
11	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
12	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Schéma č. 6: Výsledná matice „*bestpairs*“ pro neobdélníkový tvar pole a dopočítaný rozptyl přímých sousedství rozmístěných klonů.

1	6	7	8	9
3	1	4	1	10
2	5	3	2	11
3	2	4	1	12
2	1	2	3	1

Schéma č. 7: Výsledný design pole pro neobdélníkové zadání.

5.2. Hybridní schéma s využitím MI designu

Hybridní schéma, zahrnující klonové řady využívající MI design a zároveň panmiktický algoritmus, bylo generováno pro konkrétní případ semenného sadu, který by měl být tímto způsobem založen ve Spojených státech amerických. Tento sad má celkem 666 pozic a má asymetrický tvar pole. Nenachází se v něm žádné volné pozice. Mělo být rozmístěno celkem 22 klonů, přičemž 2 z nich měly společného předka. Tyto dva klony byly rozmístěny pomocí MI designu do podoby klonových řad. Zúžené schéma pro použití MI designu mělo 145 pozic. Příbuzný klon č. 1 byl zastoupen v počtu 7 ramet a příbuzný klon č. 2 v počtu 6 ramet. Další doplňující klony byly zastoupeny v relativně vyrovnaných počtech pohybujících se od 5 do 7 ramet.

Následující schémata rozmístění klonových řad ukazují, jaký vliv mají váhy separace přiřazené vztahům v rámci příbuzných klonů, v rámci nepříbuzných klonů a mezi příbuznými klony, obsažené v matici C, na výslednou podobu řešení. Nižší hodnota přiřazená danému vztahu vede k intenzivnější separaci v rámci celého pole. Klon č. 1 je značen červeně a klon č. 2 oranžově. Žlutě jsou značeny středy klonových řad, které jsou zároveň volnými pozicemi. Zeleně jsou označeny další volné pozice.

Ve schématu č. 8 byla separaci ramet v rámci příbuzných klonů přiřazena váha 25, v rámci nepříbuzných klonů 25 a mezi příbuznými klony č. 1 a č. 2 12,5. To vedlo k nejintenzivnější možné separaci těchto dvou klonů.

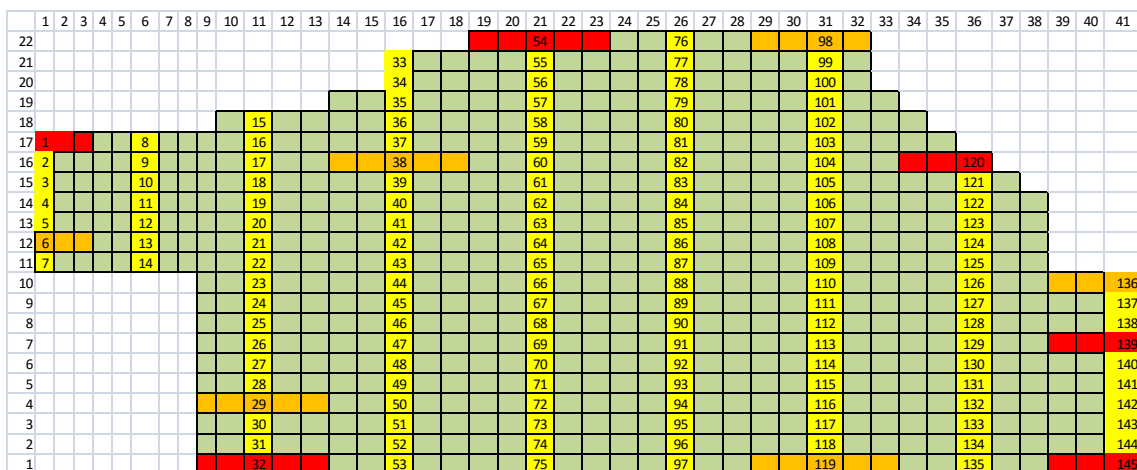


Schéma č. 10: Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 50 a mezi příbuznými klony 75.

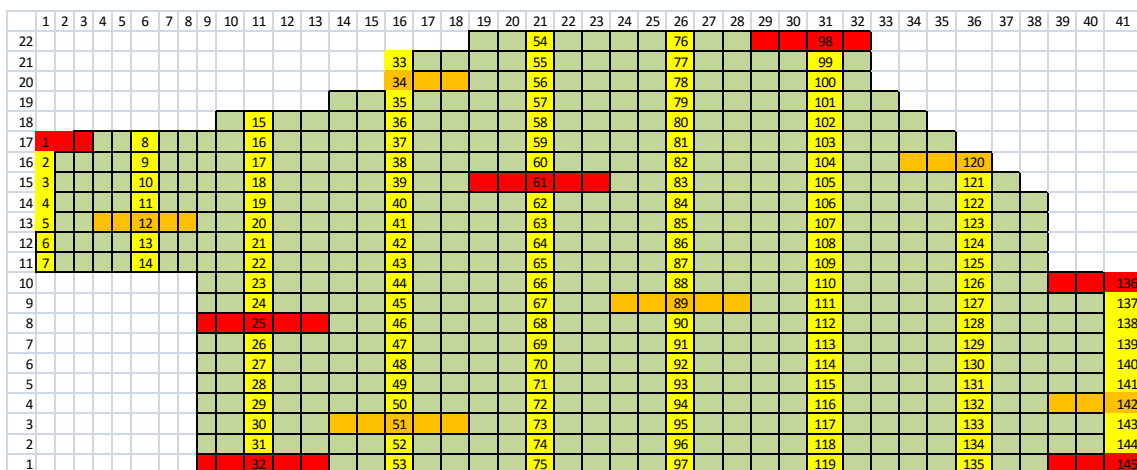


Schéma č. 11: Rozmístění klonových řad při váze separace v rámci všech klonů 50 a mezi příbuznými klony 85.

Na schématech č. 9, 10 a 11 je patrné, jak se k sobě postupně, s klesající vahou separace, příbuzné klony přibližují z okrajových pozic. Pro vygenerování výsledného, hybridního řešení bylo nakonec vybráno rozmístění uvedené posledním schématu č.11.

V případě těchto schémat, z nichž jsou pro výslednou podobu semenného sadu využity pouze některé klony, není relevantní uvádět jejich hodnotu d_{min} . Ta totiž zahrnuje i vzdálenosti ostatních klonů, kteří byli definováni pouze pro vytvoření matice C.

Při vyplňování prázdných pozic panmiktickým algoritmem do schématu č. 11 proběhlo celkem 20 nezávislých iterací a hned v první bylo dosaženo nejlepšího řešení. Klony byly rozmísťovány systematicky po řádcích. Zjednodušená podoba výsledné matice „bestpairs“ zahrnující pouze počty přímých sousedství mezi dvaceti

rozmístřovanými nepříbuznými klony a dvěma příbuznými klony, je zobrazena na schématu č. 12. Výsledný reálný rozptyl hodnot počtů přímých sousedství je pro 20 nepříbuzných klonů roven 0,25, při zahrnutí přímých sousedství s klonovými řadami (klony č. 21 a 22) poté 1,35. Výsledná podoba sadu je zobrazena na schématu č. 13, v němž byly klonové řady, oproti původnímu schématu č. 11, posunuty směrem do středu, pro zachování původního počtu ramet na klon.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1	0	5	6	6	6	6	6	5	6	5	6	5	6	6	6	5	6	6	6	6	2	3	
2	0	0	6	6	6	5	6	5	5	6	5	6	5	5	6	6	6	6	6	6	6	3	4
3	5	6	0	5	6	6	7	5	6	6	6	5	6	6	5	6	6	6	6	5	3	4	
4	6	6	5	0	5	7	6	5	5	5	6	5	6	6	5	6	6	6	6	6	3	3	
5	6	6	6	5	0	5	6	6	5	6	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	3	3	
6	6	5	6	7	5	0	5	6	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	5	6	6	3	4
7	6	6	7	6	6	5	0	6	6	6	6	7	5	6	5	6	5	6	6	6	3	3	
8	6	5	5	5	6	6	6	0	6	6	6	6	7	6	6	5	6	6	6	6	4	3	
9	5	5	6	5	5	6	6	6	0	6	6	5	5	5	6	6	6	7	6	6	3	3	
10	6	6	6	5	6	6	6	6	0	5	5	5	6	6	6	5	6	6	6	3	3		
11	5	5	6	6	6	6	6	6	5	0	6	5	5	6	6	6	6	6	6	2	4		
12	6	6	5	5	6	6	7	6	5	5	6	0	5	6	6	6	5	6	6	3	4		
13	5	5	6	6	6	5	5	7	5	5	5	5	0	6	6	6	5	6	5	7	3	3	
14	6	5	6	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	0	5	6	6	6	6	2	3		
15	6	6	5	5	6	5	5	6	6	6	6	6	5	0	6	6	5	5	6	2	3		
16	6	6	6	6	5	6	5	5	6	6	6	6	6	6	0	6	6	6	7	3	3		
17	5	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	5	5	6	6	6	0	6	6	3	3		
18	6	6	6	6	6	5	5	6	7	6	6	6	6	5	6	6	6	0	5	6	3	3	
19	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	5	6	6	5	0	6	3	3	
20	6	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	6	6	7	6	6	6	0	2	4	
21	6	3	3	3	3	3	3	4	3	3	2	3	3	2	2	3	3	3	3	2	0	8	
22	2	4	4	3	3	4	3	3	3	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	4	8	0	

Schéma č. 12: Výřez z matice „bestpairs“ zahrnující počty přímých sousedství mezi 20 nepříbuznými klony a dvěma příbuznými klony.

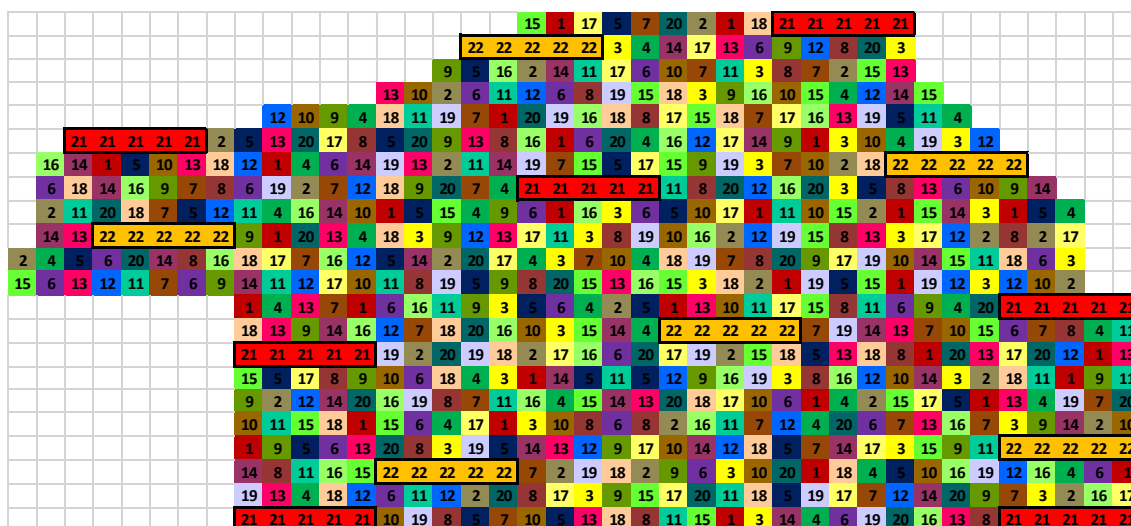


Schéma č. 13: Výsledná podoba semenného sadu pro zadání kombinující klonové řady rozmístěné s využitím MI designu a panmiktický algoritmus.

6. Diskuse

Efektivitu semenného sadu ovlivňuje řada faktorů. Některé z nich jsou člověkem ovlivnitelné lehce, jiné s většími, či menšími obtížemi. Většina autorů, jako Zobel a Talbert (1984), Paule (1992), Eriksson a kol. (2008), White a kol. (2008) i Kaňák a kol. (2008), se shodne na podmínkách vhodných pro založení sadu ovlivňovaných jeho geografickou polohou. Co se týče ochrany sadu před kontaminací pylem z okolních porostů, uvádějí White a kol. (2008) i Paule (1992) nutnost založení isolačního pásu o šířce 1 až 10 km. Počet a zastoupení jednotlivých klonů a jejich fyzické rozmístění jsou dle Pauleho (1992) hlavními aspekty při zakládání sadů. Zastoupení klonů je téměř úplně závislé na volbě zakladatele sadu a konečná volba schématu jejich výsadby je naprosto podřízena jeho preferencím. Vysoká ztráta genetického zisku může být, podle Zobela a Talberta (1984), způsobena právě použitím nevhodného designu. Takovou chybu je již v době plodnosti sadu téměř nemožné napravit. Motivem pro konkrétní volbu designu může být i zjednodušení zakládání a následného obhospodařování sadu. Zde se nabízí například metoda klonových řad (El-Kassaby a kol. 2014), nebo některý z dalších systematických designů (White a kol. 2008). To by ale samozřejmě neměl být hlavní argument pro jeho finální výběr.

Většina existujících designů semenných sadů se soustředí především na minimalizaci vzájemného křížení mezi rametami jednotlivých klonů, čili na snížení rizika vzniku inbrídingu. To je často uskutečněno například použitím výlučných zón, jako je tomu v případě RCB designu (White a kol. 2008), COOL designu od autorů Bell a Fletcher (1978) a také R2SCR designu využívajícího klonových řad (El-Kassaby a kol. 2014). V současnosti je v tomto směru nejefektivnější metodou tzv. MI design (Lstibůrek a El-Kassaby 2010). Význam tohoto opatření je nesporný, avšak při snaze o jeho dodržení se můžeme setkat s tím, že je částečně opomíjen další předpoklad pro vznik ideálních podmínek na ploše semenného sadu, a to zajištění panmiktického systému křížení mezi přítomnými klony. Přitom požadavek na panmiktické rozmístění klonů, spolu s minimalizací inbrídingu, zmiňuje většina autorů.

Otázkou samozřejmě je, jak se v praxi panmixii co nejvíce přiblížit. V tomto případě je pro úspěšnost panmiktického křížení mezi jedinci, stejně jako v případě zamezení inbrídingu, rozhodující jejich fyzická vzdálenost a fenologie kvetení. To dosvědčují například studie sledující vztah mezi vzdáleností otcovských stromů od

kontrolního samčího jedince a podíl potomků vzniklých sprášením těchto dvou stromů, což je znázorněno v grafu č. 3 (White a kol. 2008). Je nutné zdůraznit, že tyto studie probíhaly v dospělých, přírodních porostech lesních dřevin. Je zřejmé, že v podmínkách semenného sadu bude tato vzdálenost nižší. Panmixii se některé designy, například R2SCR přibližují tím, že do celkové optimalizace rozmístění klonů zahrnují podmínku, kdy v případě každého opakování klonové řady jsou do jejího sousedství rozmístěny jiné klony (El-Kassaby a kol. 2014). Oproti tomu jsou z hlediska panmixie často kritizovány systematické designy pro výskyt opakujícího se vzorce sousedství dvou klonů (White a kol. 2008).

S přihlédnutím k výše zmíněným faktům bylo rozhodnuto, že se v této práci zaměřím na hledání čistě panmiktického modelu, který by byl založen na vyrovnání počtů přímých sousedství mezi rametami jednotlivých klonů. Bylo otestováno hned několik možných přístupů, z nichž dva jsou v práci pouze nastíněny a jeden, tzv. panmiktický algoritmus, je podrobně zpracován v metodické části. Ten se zdál být ve své podstatě nejjednodušším, a zároveň nejuniverzálnějším řešením daného problému. Tento předpoklad se po jeho naprogramování a následném testování potvrdil. Univerzálnost algoritmu spočívá v tom, že je s jeho využitím možné optimalizovat rozmístění klonů pro různé tvary semenných sadů a pro různé poměry v zastoupení jednotlivých klonů. Při hledání optima jednoduše obteče případné prázdné pozice na ploše sadu, nebo již předem rozmístěné jedince. Takto vzniklé sousedství zároveň dokáže zahrnout do výsledku kritériální funkce, čímž je dosaženo i optimalizace okolí těchto předdefinovaných pozic. Výhodou panmiktického algoritmu je také jednoduchá forma zadávání vstupních údajů. Celý proces je realizován pouze s využitím volně dostupného softwaru R.

Algoritmus se v jeho současné formě jeví jako velice efektivní v situacích, kdy jsou k dispozici vyrovnané počty ramet každého klonu. To je vidět na grafu č. 5, který zobrazuje postupné přibližování hodnoty kritériální funkce k hodnotě teoretického minimálního rozptylu během řešení zadání č. 4. Za takových podmínek je často již první výsledek z pohledu minimalizace kritériální funkce velice kvalitní. Složitější situace nastává při výrazně nevyrovnaném zastoupení klonů. V takovém případě je zvolen náhodný výběr pozic pro doplňování klonů na plochu sadu. Tento přístup je oproti systematickému doplňování zdlouhavější vzhledem k počtu nutných iterací pro nalezení optima (tabulka č. 4). Zajistí však doplnění nejméně zastoupených klonů na pozice ve

středu sadu a nejčteněji zastoupených klonů na jeho okraje a do rohů, jak je vidět na schématu č. 4. Tím je dosaženo nízké hodnoty kritériální funkce (graf č. 4). V případech, kdy se nejedná o extrémně nevyrovnané zastoupení klonů, se na základě testovaných zadání jeví jako vhodná metoda postupné vyplňování pole. Definovat hranice těchto dvou stavů (extrémního a neextrémního) by bylo zřejmě velice náročné, a jako vhodnější se zdá otestovat při nejednoznačném zadání oba způsoby vyplňování pole. Výhodou modelu je i možnost jeho použití pro neobdélníkové plochy sadů, či zahrnutí prázdných pozic, bez toho, aby ztrácel na efektivitě. V současné podobě lze algoritmus využít i pro hodnocení již existujících výsadeb semenných sadů, a to právě z pohledu vyrovnanosti počtů přímých sousedství, například v situacích, kdy jsou hledány příčiny nízké plodnosti sadů. V práci se však přímému porovnání algoritmu s existujícími schématy nevěnují, a to především z toho důvodu, že se zaměřují převážně na minimalizaci inbrídingu bez větší snahy o dosažení panmixie.

Dalším z výsledků práce je nastínění nové metody aplikace MI designu semenných sadů s využitím klonových řad. Práce zobrazuje rozdíly ve výsledných schématech pro různé míry separace v rámci klonů a mezi klony na příkladu dvou příbuzných klonů. To je názorně zobrazeno na schématech č. 7 až č. 10. Schéma č. 10 bylo následně vybráno pro vytvoření výsledného hybridního designu semenného sadu. Tento hybridní design využívá toho, že MI design velice efektivně rozmisťuje příbuzné klony a panmiktický algoritmus je schopen obtéci tyto již předdefinované pozice. Dva příbuzné klony byly tedy v rámci zadání rozmístěny pomocí MI designu a zbylých 20 klonů pomocí panmiktického algoritmu. Výsledná podoba semenného sadu je zobrazena na schématu č. 12.

Do panmiktického modelu by bylo dále vhodné zahrnout úpravu, která by pro neobdélníkové tvary pole vedla k tomu, že by se pro optimalizaci používaly pouze hodnoty reálných přímých sousedství a výsledná kritériální funkce by tak byla rovna pouze rozptylu počtu přímých sousedství mezi klony. Jako nevýhoda současné formy modelu se může na první pohled jevit také výskyt přímých diagonálních sousedství, což je zřejmé např. na schématu č. 5. Je však třeba zdůraznit, že tento typ sousedství nebyl v této fázi vývoje algoritmu vůbec zvažován. Zároveň je možné se tomuto jevu po úpravě algoritmu vyhnout například jeho rozšířením do podoby zahrnující optimalizaci širšího okolí každé pozice. Lze použít i výlučné zóny, které by zcela zamezily výskytu přímých, nebo i diagonálních, sousedství ramet jednoho klonu. V případě volby

některého z těchto postupů by bylo vhodné zároveň s rozšiřujícím se kontrolovaným okolím pozic hodnotit i to, zda již nedochází k významnému navýšení kritériální funkce. Je třeba zmínit, že křížení dvou jedinců není na jejich vzdálenosti závislé přímo lineárně (Lstibůrek a El-Kassaby 2010). I tuto skutečnost je možné při některé z výše uvedených úprav modelu akceptovat. Dále se také nabízí možnost pracovat na snížení časové náročnosti celého procesu, která se s rostoucím počtem pozic exponenciálně zvyšuje, jak je vidět v grafu č. 6. Po určité úpravě by algoritmus dovoloval zahrnout i asortativní křížení vybraných klonů, a to konkrétně vytvořením matice kopírující matici „*bestpairs*“, ve které by byla zahrnuta váha separace každé dvojice klonů. Touto maticí by byla pro každou pozici, po vybrání prvku z „*trees*“ a zapsání počtů sousedství do „*bestpairs*“, matice „*bestpairs*“ vynásobena. Vznikl by tak další mezikrok mezi kroky 4 a 5. Takováto úprava by mohla zajistit i možnost zahrnutí příbuzenských vztahů, a to v podobě definování negativního asortativního křížení. Vzhledem k možnosti propojení například s MI designem je to však momentálně nadbytečné.

Praktické využití panmiktického modelu by mělo spočívat především v zakládání semenných sadů 1. generace, kde se obvykle nepředpokládáme příbuzenské vztahy mezi klony. Lze použít i v případech, kdy se nepodaří namnožit dostatečný počet ramet některého z klonů, a zároveň je zde požadavek na vyrovnané rodičovské příspěvky, protože nejméně zastoupené klony umisťuje do středu sadu, čímž zvyšuje jejich šance podílet se na reprodukci. Vzhledem k možnosti kombinace algoritmu s dalšími designy ho lze využít i při doplňování některých dílčích pozic v neobdélníkových sadech. Dále je zde i reálná možnost, že se model uplatní i v zcela jiných oblastech, než je lesnictví.

7. Závěr

- V této diplomové práci je popsán panmiktický model definující nový design semenných sadů, který naplňuje požadavek na vyrovnání výskytu počtů přímých sousedství, tzv. Panmiktický algoritmus. Pomocí tohoto modelu je možné řešit zadání obsahující jak nevyrovnané, tak vyrovnané počty ramet a různé tvary plochy semenného sadu. Pro zvolený algoritmus byla také definována referenční hladina (teoretický minimální rozptyl).
- Panmiktický model se podařilo propojit s již v praxi využívaným MI designem, který byl upraven do podoby klonových řad a tímto hybridním designem bylo definováno výsledné schéma pro založení semenného sadu *Pinus taeda L.*
- Dále je zde nastíněno několik dalších způsobů vylepšení současné podoby algoritmu, jako rozšíření optimalizovaného okolí a zahrnutí asortativní křížení, a také možnosti praktického využití modelu.

Seznam literatury a použitých zdrojů

1. ANDERSON, Erik W., Gain and diversity in multi-generation breeding programs. Umeå: Swedish University of Agricultural Sciences, 1999, ISBN 91-576-5629-0.
2. BELL, G.D. AND A.M., FLETCHER. Computer organized orchard layouts (COOL) based on the permuted neighbourhood design concept. *Silvae genet* 27, 1978, 223 - 225 s.
3. BILGEN, Behiye Banu, ALAN, Murat A Yusuf, KURT. Importance of effective clone number in seed orchards: a comparative study on seven conifer species in Turkey. *Šumarski list* 5-6, 2013, 297 - 305 s.
4. BURCZYK, J., ADAMS, W. T. AJ.Y., SHIMIZU. Mating patterns and dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon.) stand. *Heredity* 77, 1996, 251 - 260 s.
5. ČEŠKA, Pavel. Zakládání a rozvoj semenných sadů lesních dřevin u VLS ČR, S. P.. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, disertační práce, 2014, 154 s.
6. EL-KASSABY, A. Yousry A Milan, LSTIBŮREK. Breeding without breeding. *Genetical Research* 91, 2009, s 111-120.
7. EL-KASSABY, Y. A., RITLAND, K., FASHLER, A. M. K. A DEVITT, W. J. B.: Therole of reproductive phenology upon the mating system of a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genetica* 37 , 76–82 s., 1988.
8. EL-KASSABY, Yousry A., FAYED, Mohamed, KLÁPŠTĚ, Jaroslav A Milan, LSTIBŮREK. Randomized, replicated, staggered clonal-row (R2SCR) seed orchard design. *Tree genetics and genomes* 10, 2014, 555 - 563 s.
9. ERIKSSON, Gösta, EKBERG, Inger A David CLAPHAM. An introduction to forest genetics. Uppsala: Department of plant biology and forest genetics, 2007, 186 s. ISBN 91-576-7190-7.
10. FRANKHAM, Richard, BALLOU, Jonathan D. A David A., BRISCOE. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambidge: Cambridge University Press, 2002.
11. GYERTYCH, M. Seed orchards designs. London: Forestry commision bulletin 54, 1975, 25 - 37 s.

12. HAAPANEN, Matti. Synchronising tree breeding and seed orchard programs in Finland. Umea: Summary reports on papers and posters presented at the seed orchard conference, 2007, 18 s.
13. HODGE, Gary R. AND Timotky L., WHITE. Advanced generation wind-pollinated seed orchard design. *New forests*, 1993, roč. 7, 213 - 236 s.
14. CHAKRAVARTY, G. N. A S.K., BAGCHI. A computer program for permuted neighbourhood seed orchard design, *Silvae genetica* 42, 1993, 1 - 5 s.
15. KAŇÁK, Jan, FRÝDL, Josef, NOVOTNÝ, Petr A Jiří, ČÁP. Metodika zakládání semenných sadů. Strnady: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 2008, *Lesnický průvodce* 9, 26 s, ISBN 978-80-7417-007-2.
16. KAŇÁK, Jan. Návrh šlechtitelských postupů pro borovici lesní v západních a jižních Čechách. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, disertační práce, 2011, 148 s.
17. KANG, K. S. A D., LINDGREN. Fertility variation and its effect on the relatedness of seeds of *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii* and *Pinus koraiensis* clonal seed orchards. *Silvae genet.* 47(4), 1998, 196 - 201 s.
18. KANG, Kyu-Suk. Genetic gain and gene diversity of seed orchard crops. Umeå: Swedish university of agricultural sciences, 2001, ISBN 91-576-6071-9.
19. KLÁPIŠTĚ, Jaroslav. Návrh šlechtitelského programu pro posázavský smrk. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, Disertační práce, 2008.
20. KOBLIHA, Jaroslav A Tomáš, FUNDA. Šlechtitelské programy smrku ztepilého v ČR a EU. Svoboda nad Úpou: Smrk - dřevina budoucnosti: sborník příspěvků, 2004, 39 - 46 s.
21. KOBLIHA, Jaroslav, LSTIBŮREK, Milan, HYNEK, Vladimír, KLÁPIŠTĚ, Vladimír A Jan, STEJSKAL. Metodika testů potomstev lesních dřevin pro zakládání semenných sadů 2. generace. Ministerstvo zemědělství ČR, 2012a.
22. KOBLIHA, Jaroslav, STEJSKAL, Jan, FRAMPTON, John A Anne Margaret BRAHAM. Seed Orchards Utilized in Interspecific Fir Hybridization. Sborník příspěvků, Antalya, Turecko: Seed Orchards and Breeding Theory Conference, 2012.

23. KOTRLA, Pavel A Miloš, PAŘÍZEK. Zakládání semenných sadů z pohledu legislativy. Lesnická práce 8/09, 2009, roč. 88.
24. KOWALCZYK, Jan A Dag, LINDGREN. Seedling seed orchards in Poland. Antalya: Seed orchards and breeding theory conference. Sborník příspěvků. 124 s.
25. KRÁLOVÁ, Michala. Inbreeding a jeho vliv na fitness zvířat držených v zajetí. Praha: Univerzita Karlova v Praze, bakalářská práce, 2010, 34 s.
26. La BASTIDE, J.G.A. A computer program for the layouts of seed orchards. Euphytica 16, 1967, 321 - 323 s.
27. LI, B., McKEAND, R. A R., WEIR. Impact of forest genetics on sustainable forestry - results from two cycles of loblolly pine breeding in the US. Journal of sustainable forestry, 2000, č. 10, 79 - 85 s.
28. LSTIBŮREK, Milan A Yousry A., EL-KASSABY. Minimum-inbreeding seed orchard design. Forest science. 2010, roč. 56, č. 6, s 603-608. ISSN: 0015-749X.
29. LSTIBŮREK, Milan, STEJSKAL, Jan, MISEVICIUS, Alfonsal, KORECKÝ, Jiří A Yousry A., EL-KASSABY. Expansion of the minimum-inbreeding seed orchard design to operation scale. Tree genetics and genomes. 2015, 8 s.
30. MURAT, Alan, ÖZTÜRK, Hikmet A Sadi SIKLAR, Seed orchard planning and management in Turkey, Umea: Summary reports on papers and posters presented at the seed orchard conference, 2007, 18 s.
31. MUSIL, J. Lesnická dendrologie 1. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2003, ISBN 80-213-0992-x-2. ed.
32. MUSIL, J., NOVÁK, P. A J., ŠEFL. Semenné sady v České republice. 2007. In: Sarvaš, M. Sušková, M. (edit.): Aktuální problémy lesného školkárstva, semenárstva a umelej obnovy lesa, 2007. Liptovský Ján: Sborník referátov z mezinárodného seminára, 27 - 28 s, ISBN 978-80-8093-013-4.
33. NASON, J.D., HERRE, E. A. A J.L., HAMRICK. Paternity analysis of the breeding structure of strangler fig populations: evidence of substantial long-distance wasp dispersal. Journal of biogeography 23, 1996, 501 - 512 s.

34. PAŘÍZEK, Miloš. Zakládání semenných sadů. Krytokořenný sadební materiál: sborník příspěvků. Otradovice, 2014, 55 - 61 s.
35. PAULE, Ladislav. Genetika a šlachtenie lesných drevín. Bratislava: Príroda a. s., 1992, 305 s. ISBN 80-07-00409-2.
36. RAMBOUSEK, Jaroslav. Semenné sady lesních dřevin v České republice. Lesnická práce 01/03, 2003, roč. 82.
37. STACY, E.A., HAMRICK, J.L., NASON, J.D., HUBBEL, S.P., FOSTER, R. B. A R., CONDIT. Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species. American naturalist 148, 1996, 275 - 298 s.
38. TORIMARU T., WENNESTRÖM U., ANDERSSON B., ALMQVIST C. A WANGA X. R. Reduction of pollen contamination in Scots pine seed orchard crop by tent isolation. Scandinavian Journal of Forest Research. 2013. roč. 28, č. 8, 715 – 723 s.
39. VANCLAY J. K. Seed orchard designs by computer. Australia: Department of forestry, Silvae genetica 40: 89-91 s. 1991.
40. VOLF, Jan. Ekonomická efektivita šlechtění smrku ztepilého u VLS ČR, s. p.. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2011, 93 s.
41. WENNESTRÖM, U., BERGSTEN, U., A J. E., NILSSON. Seedling establishment and growth after direct seedling with Pinus sylvestris: effects of seed type, seed origin, and seedling year. 2007, Silvae Fenn. 41, 299 - 314 s.
42. WHITE, Timothy L., ADAMS, Thomas W. AND David B. NEALE. Forest genetics. USA and UK: CABI publishing, 2007, 682 s. ISBN 978-0-85199-083-5.
43. XIE, C. Y., WOODS, J. A STOEHR, M.: Effects of seed orchard inputs on estimating effective population size of seedlots – a computer simulation. Silvae Genetica 43 : 145–154 s., 1994.
44. ZAVADIL, Zdeněk. Semenné plantáže lesních dřevin. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1982, 141 s.
45. ZOBEL, Bruce, A John, TALBERT. Applied forest tree improvement. USA: North Carolina State univerzity, 1984, 505 s. ISBN - 10: 1-930665-81-4, ISBN - 13: 978-1-1930665-81-1.

Zákony a vyhlášky

1. Vyhláška č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2004 Sb., o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin.
2. Vyhláška č. 82/1996 Sb. o genetické klasifikaci, obnově lesa, zalesňování a o evidenci při nakládání se semeny a sazenicemi lesních dřevin.
3. Zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů.
4. Zákon č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně některých zákonů. In: Zákon o lesích a příslušné vyhlášky - Praktická příručka, 2003.

Ostatní zdroje

1. A working Model Network of Tree Improvement towards a Competitive, Multifunctional and Sustainable European Forestry (online). Dostupné z: <http://treebreedex.eu/> (cit. 5.2.2016).
2. Evidence reprodukčního materiálu, uznané jednotky. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/app/uhul/ERMA2/Uj> (cit. 20.3.2016).
3. Forestry commision England, National register of approved basic material for Great Britain (online). Dostupné z: <http://forestry.gov.uk/forestry/infdf-6judsq> (cit. 1.2.2016).
4. Heritabilita - dědivost (online). Dostupné z: http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/populace/pop_heritab.html#Vysoká (cit. 15.3.2016).
5. MAŘÁKOVÁ, Marie. Semenné sady jilmů na LS Strážnice. eČasopis Lesu zdar 2013, Dostupné z: <http://www.lesy.cz/o-nas/casopis-lesu-zdar/Stranky/semenne-sady-jilmu-na-ls-straznice.aspx?retUrl=%2Fo-nas%2Fcasopislesuzdar%2FStranky%2Farticlelist.aspx%3Ffrubric%3DZpr%25C3%25A1vy%26Page%3D3> (cit. 10.2.2016).
6. Národní seznam uznaných zdrojů ČR (online). Dostupné z: <http://www.uhul.cz/ke-stazeni/informace-o-lese/reprodukcnimaterial-lesnich-drevin> (cit. 1.2.2016).
7. STEJSKAL Jan, ústní sdělení, zaměstnanec České zemědělské univerzity v Praze, 19.3.2016.

8. Základní principy genetiky populací (online). Dostupné z:
http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/populace/pop_principy.html (cit.
7.2.2016).

Seznam příloh

1. Část kódu „Orchard“.
2. Část kódu „Input“.
3. Část kódu „Evaluation“.
4. Část kódu „Neighbours“.
5. Část kódu „Data“.
6. Část kódu „Output“.

Přílohy

```
orchard.R x Input.R x Evaluation.R x Neighbours.R x Data.R x Output.R x
Source on Save
1 rm(list=ls())
2 start.time <- Sys.time()
3
4 #library(compiler)
5 #enableJIT(3)
6 library(gdata)
7
8 source("Input.R")
9
10 write("Min theoretical variance...", file = "bestorchard.txt", varmin, append = FALSE, "\n")
11 write("...", file = "bestorchard.txt", append = TRUE, sep = " ")
12 write("...", file = "bestpairs.txt", append = FALSE, sep = " ")
13 write("...", file = "varmin.txt", append = FALSE, sep = " ")
14
15 for (iter in 1:NITER) {
16   cat("iter = ", iter, "\n")
17   penalty <- 0
18
19   source("Data.R")
20
21   if(choice == 0) { # systematická vyhledávání
22     for (i in 1:rows) {
23       for (j in 1:columns) {
24         if(orchard[i,j] == 0) {
25           source("Evaluation.R") # vyhledávání pozice nejlepšího kandidátem
26         }
27       }
28     }
29   }
30
31   else { # náhodná vyhledávání
32
33     # 1. nejprve vylučna volná místa ve schématu
34     x <- array(c(0:0),dim=empty)
35     y <- array(c(0:0),dim=empty)
36     count <- 0 # počet vyhledávaných míst
37     for (i in 1:rows) {
38       for (j in 1:columns) {
39         if(orchard[i,j] == 0) {
40           count <- count + 1
41           x[count] <- i # a zapsat x pozice do vektoru
42           y[count] <- j # a zapsat y pozice do vektoru
43         }
44       }
45     }
46
47     # 2. znáhodnit zjištěná volná místa
48     rx <- array(c(0:0),dim=empty)
49     ry <- array(c(0:0),dim=empty)
50     r <- sample(c(1:count), count) # náhodná lůžka
51     for(i in 1:count) { # znáhodnění lůžka a sloupců
52       rx[i] <- x[r[i]]
53       ry[i] <- y[r[i]]
54     }
55
56     # 3. náhodná vyhledávání
57     for(t in 1:count) { # znáhodnění lůžka a sloupců
58       i <- rx[t] # x-souřadnice náhodné pozice
59       j <- ry[t] # y-souřadnice náhodné pozice
60       source("Evaluation.R") # vyhledávání pozice nejlepšího kandidátem
61     }
62   }
63
64   if(printchoice < 1) {
65     source("Output.R")
66   }
67
68   if(min < totalmin) {
69     totalmin <- min
70     bestorchard <- orchard
71     print(bestorchard)
72     bestpairs <- pairs
73     cat(".....", "\n")
74     cat("criterion = ", min, "\n")
75     cat("variance:", var(upperTriangle(bestpairs, diag=FALSE))*((size-1)/size), "\n")
76     if(printchoice == 1) {
77       source("Output.R")
78     }
79   }
80   gc()
81 }
82
83 cat("xxx BEST SOLUTION xxx", "\n")
84 cat("Min theoretical variance...", varmin, "\n")
85 cat("Best variance:", var(upperTriangle(bestpairs, diag=FALSE))*((size-1)/size), "\n")
86 end.time <- Sys.time()
87 time.taken <- end.time - start.time
88 cat("Computing time:", time.taken, "\n")
89 cat("Computing time/iteration:", time.taken/NITER, "\n")
```

Příloha č. 1: Část kódu „Orchard“.

```
orchard.R * Input.R * Evaluation.R * Neighbours.R * Data.R * Output.R *
Source on Save
1 # vstup zadávaná uřivitelem
2 NITER <- 100 # počet nezavislých iterací
3 weight <- 100 # váha přilázená separaci ramet stejného klonu (0 = nulová váha)
4 set.seed(12345) # seed pro generátor náhodných čísel
5 choice <- 0 # systematická výplňová = 0, náhodná výplňová = 1
6 printchoice <- 0 # 1 tiskne výsledky nejlepších klonů, 0 tiskne všechny výsledky (do souborů)
7
8 # deklarace ostatních proměnných
9 totalmin <- 999999999999
10 |
```

Příloha č. 2: Část kódu „Input“.

```
orchard.R x Input.R x Evaluation.R x Neighbours.R x Data.R x Output.R x
Source on Save
1 NC <- (sum(trees > 0)) # number of trees not allocated
2
3 # sample randomly trees that are not allocated and store them in a vector
4 if(NC > 1) {
5   candidates <- sample(trees[trees > 0], NC)
6 } else {
7   candidates <- max(trees)
8 }
9
10 # now evaluate each candidate (one at a time)
11 min <- 9999999999
12 for (k in 1:NC) {
13   orchard[i,j] <- candidates[k]
14   source("Neighbours.R") # we evaluate the candidate with direct neighbours
15   if(criterion < min) { # we store data on the best solution so far
16     min <- criterion
17     best.tree <- candidates[k]
18   }
19 }
20
21 # and pick the best tree
22 l <- 1
23 best <- 0
24
25 while(best == 0){
26   if(trees[l] == best.tree) {
27     trees[l] <- 0
28     orchard[i,j] <- best.tree
29     best <- 1
30   }
31   l <- l + 1
32 }
```

Příloha č. 3: Část kódu „Evaluation“.

```

orchard.R x Input.R x Evaluation.R x Neighbours.R x Data.R x Output.R x
Source on Save
1 # loop through the whole matrix and sum all pair-wise matches
2 pairs <- array(0:0, dim = c(NT,NT))
3 penalty <- 0
4
5 for (r in 1:rows) {
6   for (c in 1:columns) {
7     left = 0; right = 0; up = 0; down = 0
8
9     center <- orchard[r,c]
10
11     if(c != 1) left <- orchard[r,c-1]
12     if(left == center) penalty = penalty + 1
13
14     if(c != columns) right <- orchard[r,c+1]
15     if(right == center) penalty = penalty + 1
16
17     if(r != 1) up <- orchard[r-1,c]
18     if(up == center) penalty = penalty + 1
19
20     if(r != rows) down <- orchard[r+1,c]
21     if(down == center) penalty = penalty + 1
22
23     if(left != 0) {
24       pairs[center,left] <- pairs[center,left] + 1
25     }
26
27     if(right != 0) {
28       pairs[center,right] <- pairs[center,right] + 1
29     }
30
31     if(up != 0) {
32       pairs[center,up] <- pairs[center,up] + 1
33     }
34
35     if(down != 0) {
36       pairs[center,down] <- pairs[center,down] + 1
37     }
38   }
39 }
40
41 # remove reciprocals from the diagonal
42 diagonal <- diag(pairs)
43
44 for (z in 1:NT){
45   if(diagonal[z] > 0) {
46     diagonal[z] <- diagonal[z]/2
47   }
48 }
49 diag(pairs) <- diagonal
50
51 penalty <- penalty/2
52 size <- (NT*NT-NT)/2 # size of the upper triangular matrix
53
54 #criterion <- var(pairs), pĽmenA`sobujeme korekcA, protoĽe poAFA`tA`me rozpyĽ pro celou populaci, nikoliv sample
55 criterion <- var(upperTriangle(pairs, diag=FALSE))*((size-1)/size) + penalty*weight
56
57 # criterion <- 1 # this value would provide random schemes, unmark this and hide everything else

```

Přiloha č. 4: Část kódu „Neighbours“.

```

1 #vektor trees obsahuje seznam vĚech klonĚz a ramet, kterĚ se majĚ rozmĚstit do vĚslednĚho schĚmatu
2
3 #trees <- array(c(1,1,1,1,2,2,2,2,3,3,3,3,4,4,4,4), dim = 16)
4
5 trees <- array(c(1,1,1,1,1,1,2,2,2,2,3,3,3,3,4,4), dim = 16) # konkrĚtnĚ ramety, ĚtĚ slovnĚ vzestupnĚ dĚle klonĚz,
6 # clonalsize <- c(3,2,2,2) # poĚtly ramet dĚlĚtĚch klonĚz, nutnĚ zadat
7
8 # clonalsize <- c(4,4,4,4)
9
10 # x- strana mĚmĚ
11 x <- 4 # nutnĚ zadat
12 # y- strana mĚmĚ
13 y <- 4 # nutnĚ zadat
14
15 psm <- x*(y-1)+y*(x-1) # poĚtet sousedstvĚ na mĚmĚ
16
17 # matice orchard obsahuje seznam vĚech pozic vĚslednĚho schĚmatu
18 #orchard <- array(0:0, dim = c(x,y))
19
20 #orchard <- data.matrix(data, rownames.force = NA)
21 orchard <- matrix(c(0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0,0), nrow=4, ncol=4, byrow = TRUE)
22
23 #poĚtet klonĚz vstupujĚcĚch do evaluace (vĚfetnĚ tĚch z MI schĚmatu), musĚ bĚt ĚtĚ slovnĚ od 1 do NT!
24 NT <- max(trees)+0 # v pĚmĚpadĚ pĚedchozĚho MI schĚmatu: nutnĚ pĚidat dalĚ ĚtĚ slova
25
26
27 rows <- nrow(orchard)
28 columns <- ncol(orchard)
29 empty <- length(which(orchard != 0)) # poĚtet prĚzdnĚch pozic v zadanĚm schĚmatu
30
31 # vĚpoĚtet minimĚlnĚho rozptylu
32 res.comb <- combn(clonalsize, 2)
33 soucin <- sum(res.comb[1,]*res.comb[2,])
34 v <- (res.comb[1,]*res.comb[2,])/soucin
35 v <- v*psm
36 varmin <- var(v)*[(length(v)-1)/length(v)]

```

Přiloha č. 5: Část kódu „Data“.

```
orchard.R * Input.R * Evaluation.R * Neighbours.R * Data.R * Output.R *
Source on Save
1 write(iter, file = "bestorchard.txt", append = TRUE, sep = " ")
2 write(var(upperTriangle(bestpairs, diag=FALSE))*((size-1)/size), file = "bestorchard.txt", append = TRUE, sep = " ")
3 write.table(bestorchard,file="bestorchard.txt", append = TRUE,col.names=F,row.names=F)
4 write(iter, file = "bestpairs.txt", append = TRUE, sep = " ")
5 write.table(bestpairs,file="bestpairs.txt", append = TRUE,col.names=F,row.names=F)
6
7 write(min, file = "varmin.txt", append = TRUE, sep = " ")
8
```

Příloha č. 6: Část kódu „Output“.