

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin



DIZERTAČNÍ PRÁCE

Návrh šlechtitelského programu pro posázavský smrk

Autor: Ing. Jaroslav Klápště

Obor: Dendrologie a šlechtění lesních dřevin

Školitel: prof. Ing. Jaroslav Kobliha, CSc.

Konzultant: doc. Ing. Milan Lstibůrek, MSc., Ph.D.

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra dendrologie a šlechtění lesních dřevin

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval prof. Ing. Jaroslavu Koblihovi, CSc. a doc. Ing. Milanu Lstibůrkovi, MSc., Ph.D za kvalitní metodické vedení a vytvoření skvělých pracovních podmínek pro vypracování této dizertační práce; doc. Ing. Dagmar Žďárské, CSc. a paní Miloslavě Hromadové za seznámení s pracemi v rámci šlechtění posázavského smrku provedenými do současné doby a za pomoc při vyhledání pokusných ploch v terénu; Ing. Lukáši Pirklovi, Ing. Martinu Tulachovi a Ing. Liboru Bílkovi za pomoc při změření testovacích výsadeb. Dále bych chtěl poděkovat mé rodině, přátelům a známým za jejich podporu.

Obsah

1	Úvod	5
2	Cíl práce.....	6
3	Rešerše	7
3.1	Smrk a jeho význam	7
3.1.1	Smrk ztepilý, jeho význam, rozšíření a ekologické nároky	7
3.1.2	Posázavský smrk.....	12
3.2	Šlechtitelské programy se smrkem	12
3.2.1	Šlechtitelské programy v ČR.....	12
3.2.2	Šlechtitelské programy v Evropě.....	18
3.3	Teoretické základy šlechtění lesních dřevin.....	30
3.3.1	Principy selekce, krátkodobý a dlouhodobý zisk.....	30
3.3.2	Genetická diverzita.....	39
3.3.3	Šlechtitelský program.....	40
4	Materiál.....	48
5	Metody.....	52
6	Výsledky	64
7	Diskuze	72
8	Závěr.....	81
9	Summary	83
10	Literatura.....	85
11	Přílohy	95

1 Úvod

Šlechtění lesních dřevin je systematická činnost, jejímž cílem je zvyšování produkce, kvality a odolnosti dřevin proti abiotickým a biotickým činitelům. V poslední době vzrůstá poptávka po obnovitelných surovinách, mezi které patří i dřevní hmota, a tím i šlechtění lesních dřevin nabývá na svém významu. Aby šlechtění bylo efektivní, je třeba soustředit šlechtitelské aktivity do šlechtitelských programů, které spočívají v opakujících se šlechtitelských cyklech a vlastní efektivita šlechtitelských programů je závislá na četnosti realizovaných šlechtitelských cyklů. Již po prvním cyklu šlechtění je možné u řady hospodářských znaků generovat genetický zisk kolem 12% a po druhém cyklu dokonce kolem 25% (Li et al., 2000).

Smrk ztepilý je naší hospodářsky nejdůležitější dřevinou, a z tohoto důvodu do jeho šlechtění již bylo investováno velké úsilí. Mnoho těchto programů však ustrnulo ve fázi testů potomstev příp. jiných typů ověřovacích výsadeb a nebyly již dále formovány. Proto se nám naskytuje nová výzva uchopit stávající šlechtitelské programy příp. založit kompletně nové, využít jejich potenciál pro založení kvalitních semenných sadů vyšších generací a rozvinout jejich dlouhodobé koncepce. Těmto snahám v současné době napomáhají i požadavky velkých vlastníků lesních majetků na kvalitní reprodukční materiál a uvědomění si, že semenné sady nejsou zakládány pouze pro koncentrovaný sběr osiva, ale také jako výstupy šlechtitelských programů, čímž dosahují přidané hodnoty v podobě vyšší genetické kvality. Ta se ve svém důsledku projeví nejen v lepší vzcházivosti semenáčků v lesních školkách, ale především v tvorbě kvalitních produkčních lesních porostů.

2 Cíl práce

Cílem práce je zhodnocení stávajících šlechtitelských výsadeb založených v rámci šlechtitelských aktivit s chlumním ekotypem smrku ztepilého z oblasti Dolního Posázaví na polesí ŠLP v Kostelci n.Č.l., výběr výsadeb vhodných pro statistické zhodnocení k odhadu genetických parametrů a následné navrhnutí optimálního využití stávajících zdrojů pro založení semenného sadu vyšší generace.

3 Rešerše

3.1 Smrk a jeho význam

3.1.1 Smrk ztepilý, jeho význam, rozšíření a ekologické nároky

3.1.1.1 Význam smrku ztepilého

Smrk ztepilý (*Picea abies* /L./ Karst.) je jednou z hospodářsky nejvýznamnějších dřevin lesů mírného a chladného pásma evropského kontinentu. V České republice si své postavení získal díky kvalitativním vlastnostem dřeva, které nachází široké uplatnění v mnoha činnostech lidské společnosti.

Smrk je dřevinou, která umožňuje při jeho optimálním zastoupení v lesních porostech a vhodném managementu slušnou rentabilitu hospodaření s lesními majetky, zajišťuje možnost dlouhodobého zvyšování produkce kvalitního dřeva a zároveň umožňuje využití mnoha přírodních procesů při uplatňování principů trvale udržitelného hospodaření v lesích (Řezáč, 2004).

Smrk ztepilý byl v českých lesích významně rozšířen teprve v posledních stoletích. Od druhé poloviny 18. století docházelo k masivnímu umělému šíření smrku i mimo areál přirozeného rozšíření. Důvody byly především ekonomické – vysoká produkce, relativně rychlý růst, technické přednosti a kvalita dřeva.

Rozsáhlé pěstování smrku mimo jeho přirozený areál však přineslo lesnímu hospodářství mnoho problémů. Na nevhodných stanovištích pozbyl smrk své přirozené odolnosti a stal se na nich méně odolný vůči abiotickým a biotickým činitelům. Podstatně k tomu přispělo používání sadebního materiálu bez ohledu na místo původu použitého osiva. V současné době u nás na většině lokalit dochází k postupné převážně umělé úpravě druhové skladby porostů ve prospěch listnáčů a zvyšování druhové pestrosti (Beznoska, 2004).

Z tohoto důvodu kleslo zastoupení smrku ztepilého v letech 2000 – 2006 z 54,1 % na 53 % (anonymous, 2006).

Podle propočtů na základě ekologické únosnosti a společenských potřeb se do budoucna doporučuje zastoupení kolem 36 % (Řezáč, 2004).

3.1.1.2 Rozšíření smrku ztepilého

Smrk ztepilý má rozlehlý euroasijský areál. Severní hranice přirozeného areálu smrku je dána minimální délkou vegetační doby, která činí 2 – 2,5 měsíce, při níž smrk může ještě vegetovat a množit se. Nejseverněji zasahuje smrk v nížinných polohách severního Švédska. Na severovýchodě areál končí na spojnici Finský záliv – Petrohrad. Od této hranice pokračuje na východ směrem k Uralu hybridní zóna, na kterou navazuje areál smrku sibiřského (*Picea obovata* Led.).

Východní hranice středoevropské a balkánské části přirozeného areálu smrku ve východních Karpatech a pohoří Rodopy je zřejmě dána nedostatkem vláhy. Za minimální množství ročních srážek pro smrk ve střední Evropě je považováno 600 mm, z toho 300 mm ve vegetační době.

Nejzápadnější autochtonní výskyt smrku je v jihovýchodní Francii v oblasti Západních Alp. Odtud pokračuje hranice areálu na sever pohořími Jura, Černý les, Durynský les, kde se otáčí na východ k vnitropolské disjunkci. Západní hranice pokračuje v severské části areálu západní Skandinávií.

Jižní hranice probíhá ostrůvkovitě přímořskými Alpami až téměř k Monaku. Téměř na stejnou zeměpisnou šířku sestupuje v izolovaných ostrůvcích v Severních Apeninách. Na Balkáně jde Dinárskými pohořími jihovýchodním směrem až do severní Albánie a severozápadní Makedonie. Nejjižnější autochtonní výskyt smrku ztepilého vůbec je v řecké části Rodop (Musil, 2003).

Předpokládá se, že v minulosti existoval jeden společný areál smrku ztepilého s návazností areálu smrku sibiřského (*Picea obovata* Led.). Je účelné dnes tento areál rozdělit na dvě oblasti – Středoevropsko-balkánskou a Severoevropskou. Tyto oblasti jsou odděleny tzv. vnitropolskou či středopolskou disjunkcí:

1) Středoevropsko-balkánská oblast – převážně horská, dnes ostrůvkovitá, sledující jednotlivá pohoří. Osídlení smrkem probíhalo v době poledové především z prostoru jihovýchodní Evropy - z jižních a jihovýchodních refugií. Vylisují se 4 podoblasti, které byly vzájemně během vývoje propojené:

a) Hercynsko-karpatká oblast (od Harzu, Durynského a Hornofaltského lesa – přes naše území – až k vnitropolské „bezesmrkové“ disjunkci – a po Východní a Jižní Karpaty)

b) Alpská podoblast (včetně severních předhoří – i Českého lesa)

c) Dinárská podoblast (syn. Illyrská p., vrcholové části Dinárských Alp až po sev. Albánii)

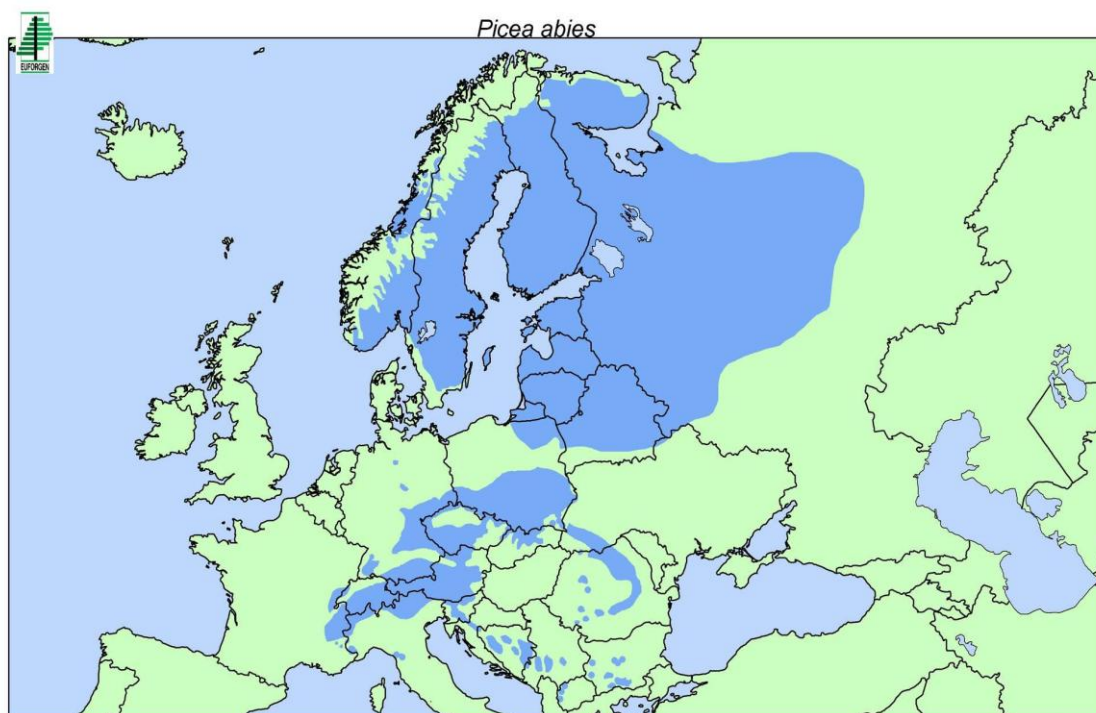
d) Rodopská podoblast (syn. Bulharská p., pohoří Rila planina, Pirin, Rodopy [až po sev. okraj Řecka včetně]; také však Vitoša a Stará planina)

2) Severoevropská (Skandinávsko-ruská) oblast je plošně mnohem větší než oblast Středoevropsko-balkánská, od níž se odlišuje především souvislejším výskytem smrku a nižší nadmořskou výškou. Převažují zde pahorkatiny a rozsáhlé nížinné roviny.

Jen velmi omezeně zasahuje výše do skandinávských pohoří. Rozsáhlá území ruské části sv. Evropy jsou hlavní oblasti rozšíření smrku. Zde je zahrnuta oblast hybridního roje se smrkem sibiřský (Picea obovata Led.), která plynule navazuje. Na východě končí ve středním Povolží (Musil, 2003).

Původní rozšíření smrku ztepilého se nachází v klimaxových porostech stupně suprakolinního až subalpínského s těžištěm výskytu ve stupni montánním a hlavně supramontánním jsou to hlavně okrajová horstva: Novohradské hory, Šumava, Český les, Krušné hory, Jizerské hory, Krkonoše, Orlické hory a Jeseníky. V termofytiku je původní výskyt sporný a pravděpodobně zde zcela chyběl. V oreofytiku je hlavní dřevinou v klimaxových smrčinách. Zejména tam, kde chybí kleč, se vyskytují skupiny smrků i nad hranicí souvislého lesa (Hrubý Jeseník).

Smrk ztepilý tvoří spolu s jedlím bělokorou (Abies alba Mill.) a bukem lesním (Fagus sylvatica) tzv. Hercynskou směs, která je typická pro střední polohy našich pohoří (Chrtek; Tomšovič, 1988).



Zdroj: Skrøppa, 2003

3.1.1.3 Ekologické nároky smrku ztepilého

Smrk ztepilý je světlomilná dřevina, která v počátečních stádiích ontogenetického vývoje dobře snáší zástin a tato vlastnost mu dovoluje pronikat do porostu jiných dřevin např. borovice lesní (*Pinus sylvestris* L.) nebo modřínu opadavého (*Larix decidua* Mill.). Tato schopnost se s věkem a podmínkami mění. Čistě porosty smrku ztepilého vytváří husté porosty, které pohlcují většinu dopadajícího světla a značně zastiňují půdní povrch.

Povrchový kořenový systém klade vyšší nároky na půdní vlhkost a citlivě reaguje na suchá období. Stanoviště příznivá pro růst smrku ztepilého se vyznačují rovnoměrnou vlhkostí. Nedostatek vláhy se stává limitujícím faktorem dobrého růstu.

Na půdu a geologické podloží nemá smrk ztepilý vysoké nároky. Snáší podklady nejrůznějších druhů, pokud nejsou příliš suché nebo extrémně chudé. Nesnáší nedostatečně provzdušněné půdy. Smrkové porosty silně ovlivňují půdotvorné činitele hromaděním surového humusu, jehož tvorbou dochází k podzolizaci (Úradníček; Chmelař, 1998).

Ekologické optimum smrku ztepilého se v podmínkách střední Evropy nachází obecně tam, kde slábne konkurenceschopnost jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) a buku lesního (*Fagus sylvatica* L.). Patří sem zejména výše položené, studené, mrazem ohroženější lokality (Musil, 2003).

Smrk ztepilý není náročný na klima. Optimální průměrná roční teplota se pohybuje kolem 6 °C při množství srážek 490 – 580 mm. Zaujímá přední pozice mezi dřevinami ve schopnosti snášet nízké teploty a je méně ohrožen pozdními mrazy než např. jedle bělokorá (*Abies alba* Mill.) a proto je vhodný ke zmlazování na holé ploše. Naopak je citlivý k vysokým teplotám a nízké relativní vzdušné vlhkosti (Úradníček; Chmelař, 1998).

Výskyt vysokohorského ekotypu smrku ztepilého je koncentrován v 8. vegetačním lesním stupni (smrkový) v nadmořských výškách nad 1050 m n. m. Štíhlá, hustá koruna se silnými větvemi nasazenými v ostrém úhlu dává předpoklad značné odolnosti k větru, sněhu a námraze. V mládí se vyznačuje pomalým růstem. Větve 2. a 3. řádu jsou většinou svazčité a deskovité, hustě ogehličené s krátkými jehlicemi. Šišky dosahují délek 5 – 15 cm.

Horský ekotyp smrku ztepilého se vyskytuje v 6. – 7. vegetačním lesním stupni (smrkobukový – bukosmrkový) v nadmořských výškách 750 – 1050 m n. m. Koruna je zde již kratší a poněkud řidší. Větve 2. – 3. řádu jsou svazčité s přechodnými formami k typu hřebenitému.

Chlumní ekotyp smrku ztepilého se vyskytuje ve 4. – 5. vegetačním lesním stupni (bukový – jedlobukový) v nadmořských výškách pod 700 m n. m. Ve specifických případech sestupuje až do 1. Vegetačního lesního stupně v SLT 1T a 3. Vegetačního lesního stupně v SLT 3R (Vacek et al., 2005). V mládí se vyznačuje rychlým růstem. Koruna je široká, eliptická až vejčitá se štíhlými větvemi kolmo odstávajícími od kmene. Větve 2. – 3. řádu jsou většinou hřebenité až hřebenitosvazčité s dlouhými jehlicemi. Šišky dosahují délek 16 – 22 cm (Pospíšil; Kobliha, 1982).

3.1.2 Posázavský smrk

Posázavský smrk patří k chlumním ekotypům smrku ztepilého. Smrkové porosty v oblasti dolního Posázaví jsou považovány v mnoha případech jako autochtonní, které se hodnotí jako relikty z doby atlantické až subatlantické. V tomto období smrk sestupoval do nižších oblastí, přičemž jednou z nich byla právě oblast Posázaví. Později při dalších změnách klimatu došlo ke zmenšení areálu výskytu smrku v této oblasti, nicméně na vhodných lokalitách se udržel až do současnosti (Nožička, 1972).

3.2 Šlechtitelské programy se smrkem

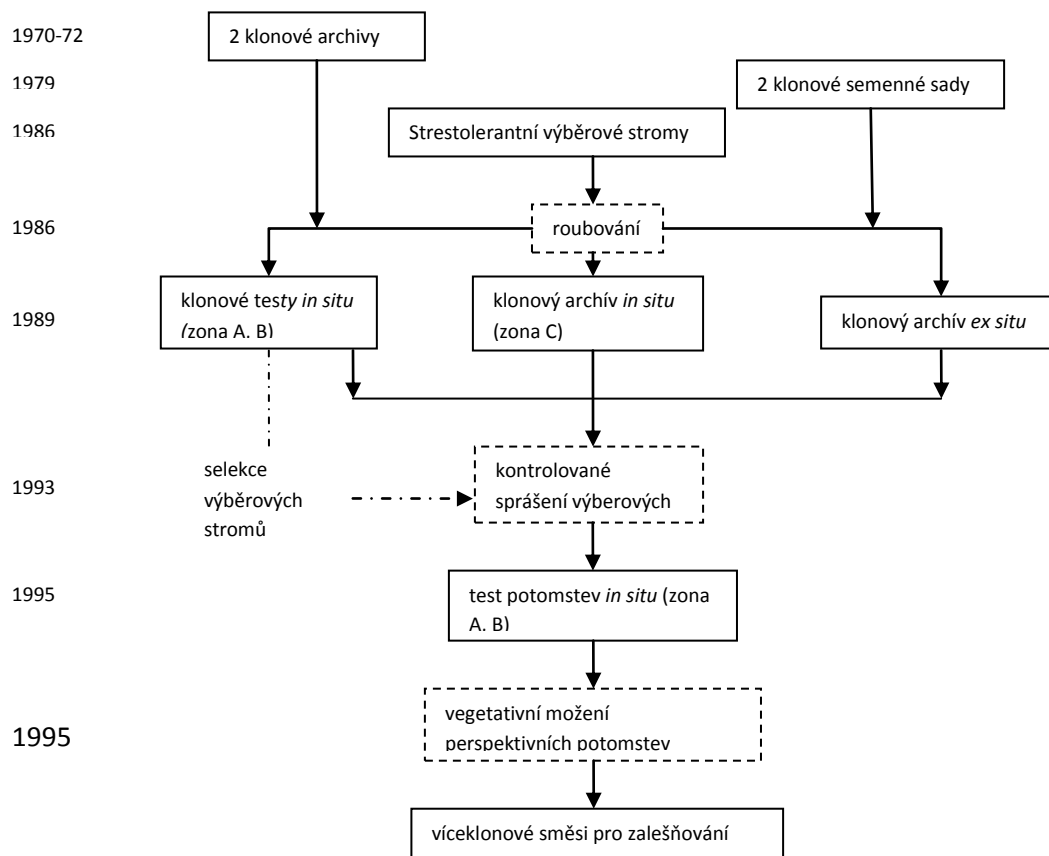
3.2.1 Šlechtitelské programy v ČR

Mezi hlavní cíle šlechtění smrku v ČR patří zvyšování produkce dřeva při udržení jeho kvality, záchrana autochtonních populací a vzhledem k imisní zátěži lesních porostů zachovat kvalitní byt' nepůvodní populace tolerantní vůči imisnímu zatížení (Hynek, 2004)

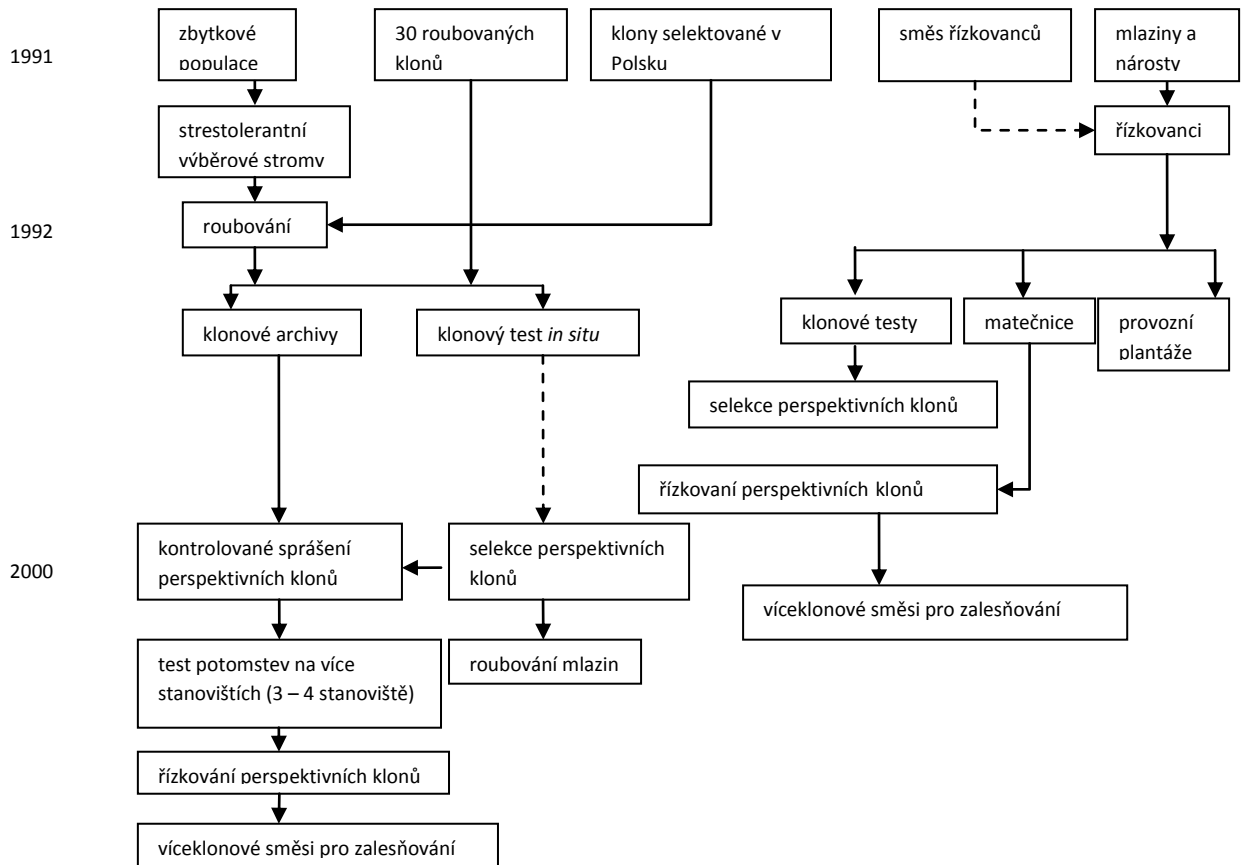
Šlechtění smrku ztepilého bylo v 70. letech zaměřeno na tvorbu šlechtitelských programů pro imisní oblasti, kde šlechtitelské cíle se odvíjeli od stupně imisního zatížení. V oblastech s nižší imisní zátěží se preferovala produkční výkonnost, zatímco v oblastech s vyšším imisním zatížením se věnovala hlavní pozornost převážně odolnosti vůči těmto stresujícím podmínkám (selekce tolerantních výběrových stromů). V oblastech se silným imisním zatížením je nutné šlechtitelské aktivity rozdělit do tří fází:

- 1) Konzervace stávajících genových zdrojů; generativní a vegetativní potomstva je nutné reprodukovat *ex situ*
- 2) Tvorba šlechtitelských populací a jejich testování *in situ*
- 3) Využívání vyšlechtěného materiálu při obnově porostů v imisních oblastech po snížení imisní zátěže a následných rekultivacích

Jelikož se podmínky v jednotlivých oblastech významně liší, je nutné uplatňovat šlechtitelské programy specificky vytvořené pro dané oblasti viz. obr. 1 a 2 (Hynek, 1992).

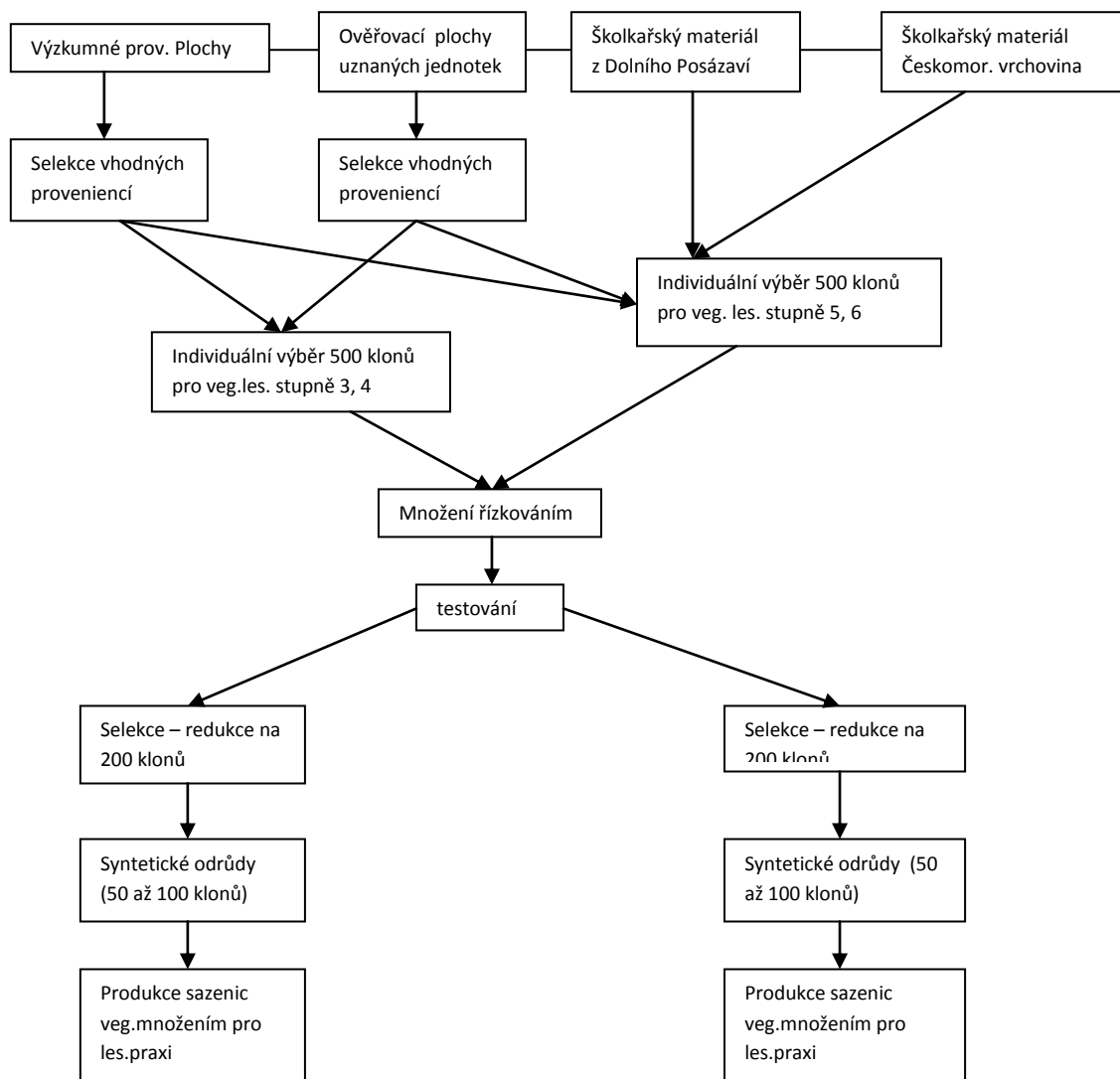


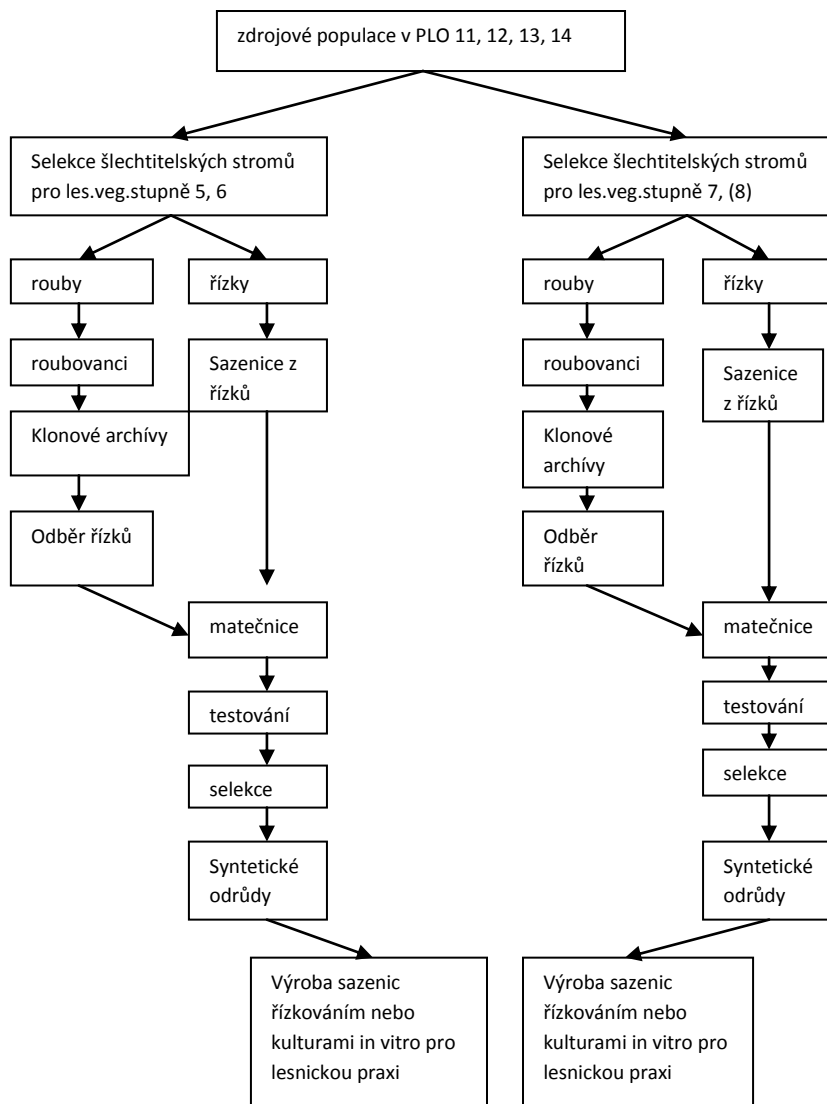
Šlechtění smrku ztepilého v Krušných horách (Hynek; Radosta, 1989)

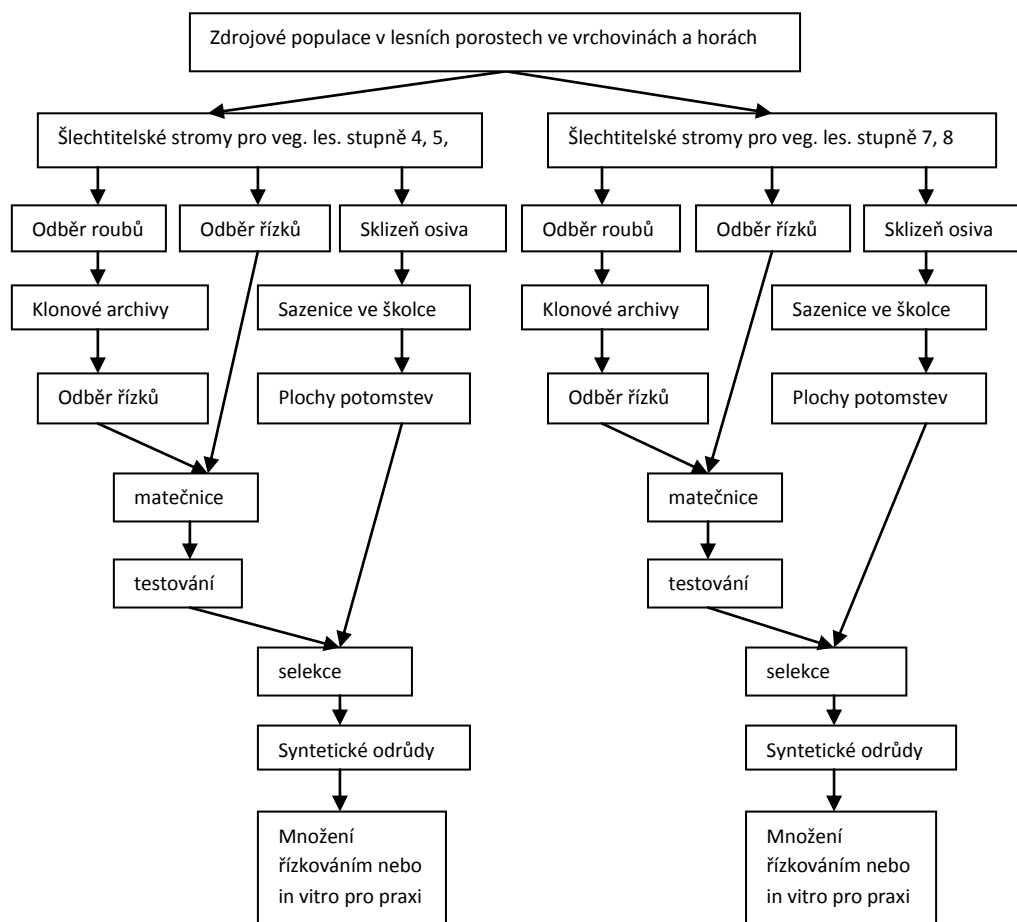


Šlechtění smrku ztepilého v Jizerských horách (Hynek, 1992)

Šindelář (1997) navrhuje několik specifických programů pro smrk ztepilý zaměřených na vícekriteriální selekci, jejíž hlavním kriteriem byla určitá specifická charakteristika (hrubost borky, úzká koruna, fenologie rašení a rychlost růstu) s produkčními vlastnostmi viz schéma 1 – 3. Většina těchto programů je započata inventarizací provenienčních pokusů z let 1964 -1968 nebo místních porostů. Testování selektovaných jedinců bylo prováděno na základě klonových testů, na jejichž základě byla provedena selekce nejlepších jedinců a tvorba víceklonálních směsí. Tyto jedinci zahrnuté v klonových směsích pak byli provozně řízkováni pro potřeby lesnické praxe.







Do současné doby se šlechtění srku ztepilého v ČR orientovalo převážně na selekci stresolerantních genotypů pro oblasti s vysokým imisním zatížením. Takovéto programy již byly založeny v Jizerských horách, kde byli vyselektováni jedinci z 8. VLS a následně otestováni jak v testech potomstev, tak i v testech klonových. Obdobný program byl založen i v Krušných horách, kde byli selektováni jedinci z oblasti Klínovce a Horní blatné a následně otestováni v testech klonových. Klonové testy byly založeny jednak v polohách s extrémním zatížením a dále pak v 5. a 6. VLS, ve Zbraslavi a v oblasti západních Čech. Tento program byl doplněn klonových archívem smrku z celé republiky s převahou jedinců z místních populací. Jedinci v tomto klonovém archívu byli kontrolovaně opylováni a otestováni v testech plnosesterských potomstev, které byly založeny v oblasti Milevska. Zároveň byli jedinci z klonového archívu testováni v klonových testech. V oblasti Krkonoš byli selektováni stresolerantní jedinci, ze kterých byla založena matečnice. Ta

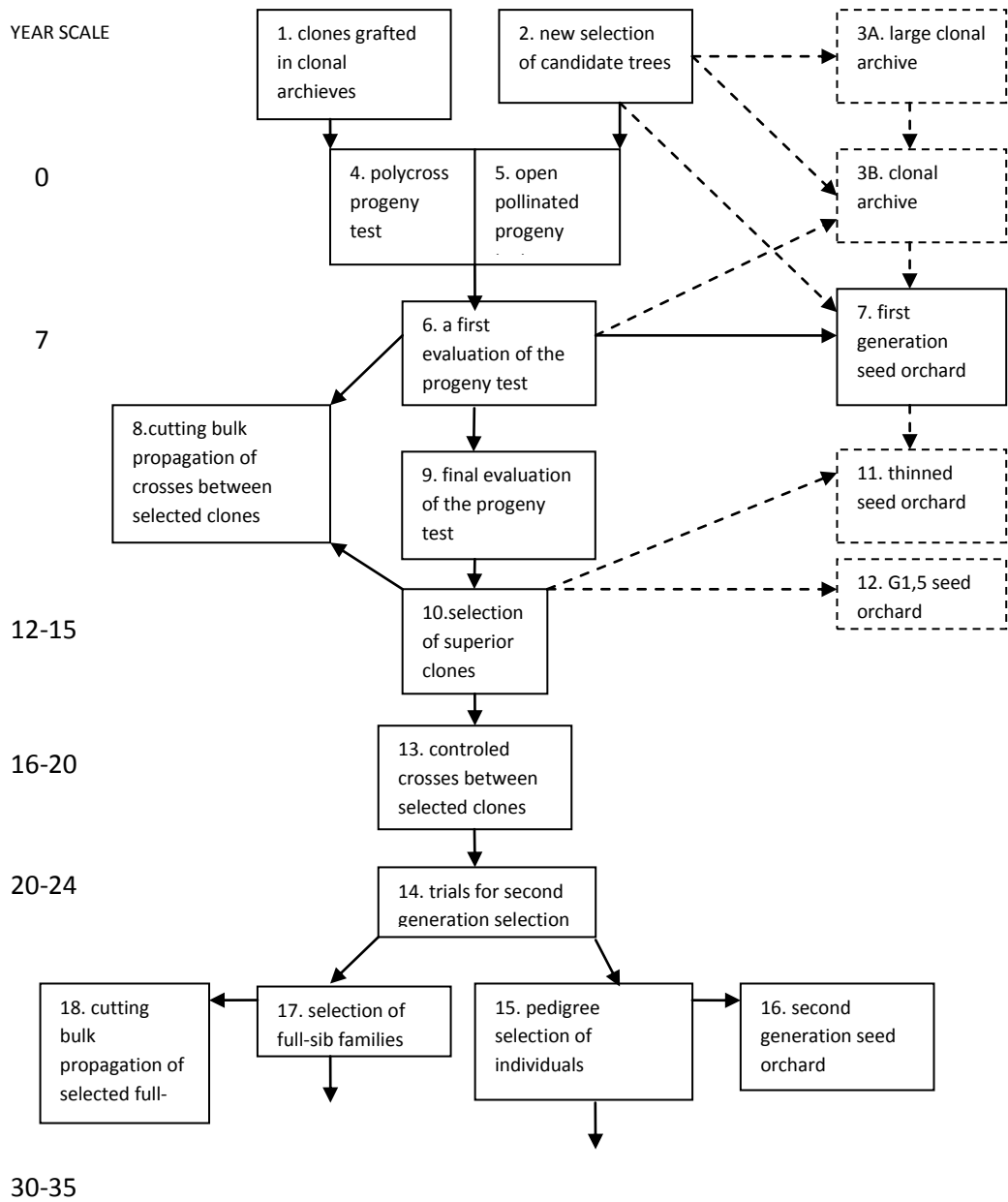
slouží jako zdroj materiálu jednak pro klonové testy a jednak jako zdroj reprodukčního materiálu pro provozní zalesňování. V oblastech Jeseníků a Beskyd založil prof. Kantor klonové semenné sady z jedinců pocházejících z 8. VLS, které doposud nebyly testovány v testech potomstev. Na Šumavě byly také selektovány jedinci z 8. VLS, z nichž byl založen klonový archív v oblasti Boubína a zároveň klonový test na Srní. Ze stejného materiálu byly založeny dva klonové semenné sady jeden ve vyšších polohách a druhý v nižších polohách. Po dostatečné úrodě byly založeny testy potomstev (pers. comm. Hynek).

3.2.2 Šlechtitelské programy v Evropě

Norsko

Šlechtitelské aktivity se smrkem ztepilým v rámci jednotlivých šlechtitelských zón jsou přímo úměrné jeho významu a proměnlivosti podmínek prostředí v daných lokalitách. Stromy zahrnuté do šlechtitelských programů jsou selektovány z kvalitních porostů rovnoměrně podél teplotního gradientu a roubováni do klonových archívů 1), které byly kandidáty z dalších selekcí 2). Základní šlechtitelské populace v nejdůležitějších zónách zahrnovali 700 – 1000 klonů a všichni selektovaní jedinci byli roubováni do klonových archívů 3a) případně bylo roubování odloženo až po vyhodnocení testů potomstev 3b, 7). Osivo odebrané z volného sprášení ze selektovaných stromů bylo použito k založení testu polosesterských potomstev 5), přičemž v dražších programech bylo využito polykrosu v klonových archívech (pylová směs složená z 10 – 15 klonů) 4). Testy potomstev se zakládají na čtyřech stanovištích: 2 plochy v cílové oblasti, 1 v oblasti s lepšími klimatickými podmínkami a 1 v oblasti s horšími klimatickými podmínkami. Tyto testy jsou navrženy jako jednostromové parcely se sponem 0,7 až 1 metr ve 30-ti opakováních a vyhodnoceny v 5-ti letech po založení. První generace semenných sadů se zde zakládají až po časném vyhodnocení testů potomstev 7), které mohou být navrženy vhodně pro potenciální genetickou probírku. Mnohem rychlejší způsob získání geneticky vylepšeného reprodukčního materiálu je křížení nejlepších

klonů co možná nejdříve a hromadná propagace těchto plnosesterských potomstev řízkováním (tzv. family forestry) 8). Konečné hodnocení testů potomstev bylo provedeno v 10. – 12. roce v závislosti na sponu, podmínkách stanoviště a konkurenci a zpětná selekce rodičovských klonů je provedena na základě indexu sestaveného z několika hodnocených znaků. Ve stejné době jsou vyhodnocovány klony v klonových archívech na intenzitu kvetení. Nejlepších 10- 20% původní šlechtitelské populace by mělo být základem pro další šlechtitelskou populaci 10). Zároveň kolem 30-ti nejlepších klonů by mělo být využito k založení 1,5-té generace semenného sadu. Semenný sad druhé generace by měl být založen na základě jednopárového křížení (single pair mating) zbylých klonů 11), jejichž plnosesterská potomstva jsou následně zahrnuta do selekce 13) na jejímž základě se vyselektují jedinci do semenných sadů druhé generace 15, 16), případně se nejlepší potomstva budou vegetativně rozmnožovat řízkováním 17, 18) (Skrøppa, 1982).

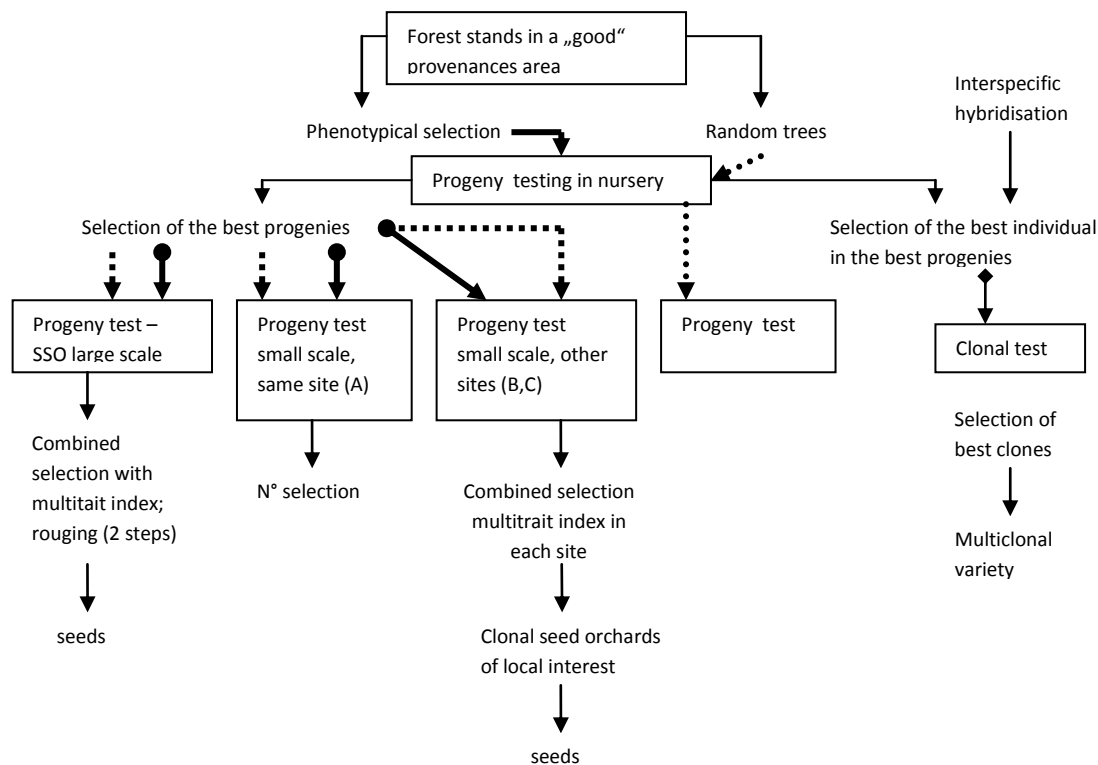


Francie

Hlavním účelem šlechtění smrku ve Francii je zajištění dostatečného množství reprodukčního materiálu pro zalesňování lesnicky atraktivních oblastí mimo původní výskyt smrku. Z důvodu nedostatku znalostí o mezipopulační a vnitropopulační genetické proměnlivosti smrku ve Francii byly založeny testy potomstev - jádrové semenné sady, které obsahují většinu francouzských proveniencí. Tyto výsadby zároveň slouží k odhadu heritabilit růstových parametrů. Zde jsou využity šlechtitelské populace zároveň jako produkční tak, aby se optimalizoval genetický zisk na jednotku času a zároveň se získaly odhady základních genetických parametrů. Hlavní program je možné rozdělit do 3 částí:

- 1) Fenotypová selekce v přirozených porostech na znaky, u kterých se předpokládá dostatečně vysoká heritabilita (hustota dřeva, fenologie rašení) a sběr osiva ze selektovaných stromů a zároveň z náhodně vybraných stromů v daném porostu
- 2) Test v lesní školce volně sprášených potomstev ze selektovaných stromů i ze stromů náhodně vybraných s následným vyhodnocením výškového růstu a fenologie rašení
- 3) Velké jádrové semenné sady; menší testy potomstev zahrnující stejné provenience na dalších stanovištích (B, C) pokrývající oblast potenciálního zájmu, test potomstev vysazený v blízkosti semenného sadu (A). Selektce v jádrovém semenném sadu je prováděna na základě vícekritériálního selekčního indexu (genetická probírka).

Test A je obhospodařován jako test potomstev se systematickou probírkou tak, aby bylo možné získat genetické parametry (variančně – kovarianční matice, průměry potomstev) pro druhou genetickou probírku v jádrovém semenném sadu. Testy A a B jsou dále využity k vyhodnocení interakcí genotypu a prostředí (G x E interakce). Šlechtitelská populace je dále průběžně doplňována novými proveniencemi. Jako výstup k rychlému získání vyšlechtěného reprodukčního materiálu je zde navrhována tvorba víceklonových směsí určené k vegetativní propagaci řízkováním (Biro, 1982).



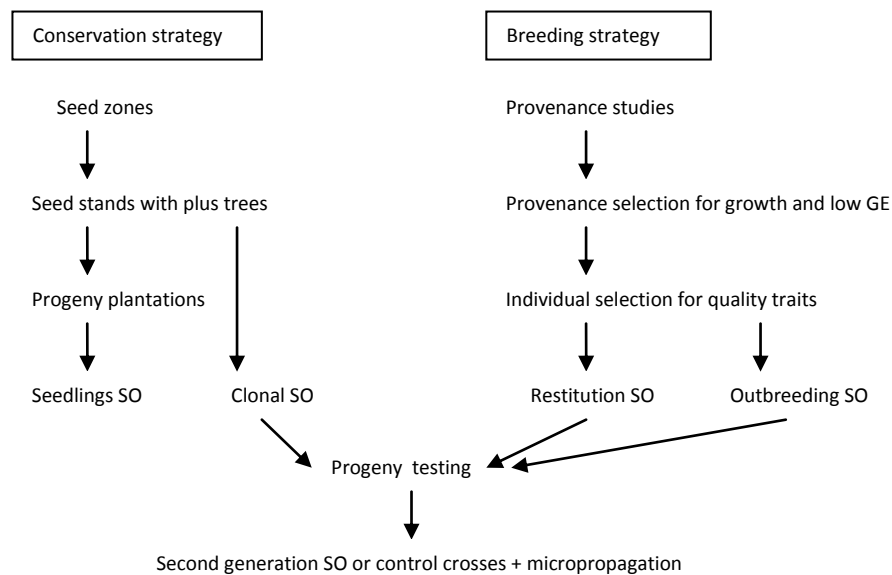
Polsko

Hlavním cílem šlechtění smrku v Polsku je propojení šlechtitelských a konzervačních strategií do jednotné strategie. Mezi základní aktivity patří konzervace obnovitelných přirozených zdrojů pro budoucí šlechtitelské aktivity a vytvoření jádrových semenných sadů v blízkosti semenných porostů. Zvláštností tohoto programu je tvorba dvou typů semenných sadů a to:

- 1) „regenerační semenné sady“ (reconstitution seed orchards) představující klonové semenné sady založené za účelem produkce osiva z nejlepších genotypů nejlépe adaptovatelných a produkčních proveniencí. Záměrem je obnovení nejlepších proveniencí z IUFRO pokusu založeného v letech 1964 – 1968, jejichž původ není dostatečně přesně zmapován
- 2) „hybridizační semenné sady“ (outbreeding seed orchards) představující klonový semenný sad složený z jedinců pocházejících z 5-ti geograficky

vzdálených proveniencí, které se projevují velice dobře na všech stanovištích, za účelem produkce heterozního materiálu

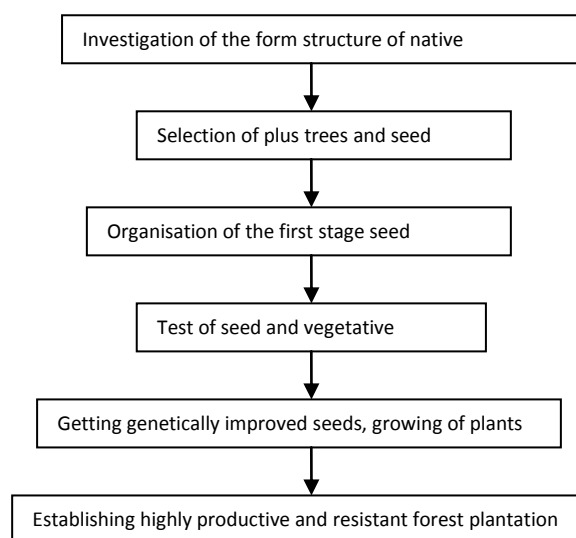
V další fázi je navrženo založení testu potomstev na bázi polykrosu a semenné sady druhé generace, které by měli být navrženy v souladu s požadavkem na budoucí genetickou probírku (Giertych, 1982).



Rusko

Hlavním cílem šlechtění smrku v Rusku je založení vysoce produktivních porostů použitím rychle rostoucích, dobře adaptovaných jedinců. Program byl zahájen selekcí zhruba 2000 jedinců s následným naroubováním do semenného sadu první generace, který má sloužit pro produkci osiva a zároveň jako klonový archiv. V oblastech s větším zastoupením selektovaných genotypů byly vylišené semenné porosty pro sběr kvalitního osiva. V semenných sadech první generace je definován jako optimální spon 8 x 8 m tedy 150 jedinců na

hektar. Izolace těchto semenných sadů před kontaminací pylem z okolních porostů byla často neefektivní a v některých případech vyústila v nadměrnou produkci hluchých semen z důvodu pylového deficitu. Z tohoto důvodu byly semenné sady druhé generace založeny bez izolace a to v porostech s vysokou produktivitou. Zároveň byl založen test potomstev z vysoce produktivních populací, z jednotlivých selektovaných jedinců a hybridních kombinací. Výsledky ukazují nárůst o 5 – 10% v průměrech potomstev ve srovnání s průměry testovaných populací. Testována byla i vegetativní potomstva perspektivních jedinců (kolem 200 jedinců) z mladých potomstev, která byla testována na růst, odolnost vůči biotickým a abiotickým činitelům a rhizogenezi. Následně byla vytvořena víceklonální směs na základě výsledků testu vegetativních potomstev. Osivo sesbírané ze selektovaných jedinců bylo vyseto ve skleníku a po roce byly semenáčky přesazeny do rašelinového substrátu. Dvouletí jedinci byli přesazeni do minerální půdy. Ve čtyřech letech došlo k vyhodnocení růstových parametrů, které bylo podkladem pro selekci rychle rostoucích jedinců pro následnou vegetativní propagaci řízkováním (Dolgov, 1993).



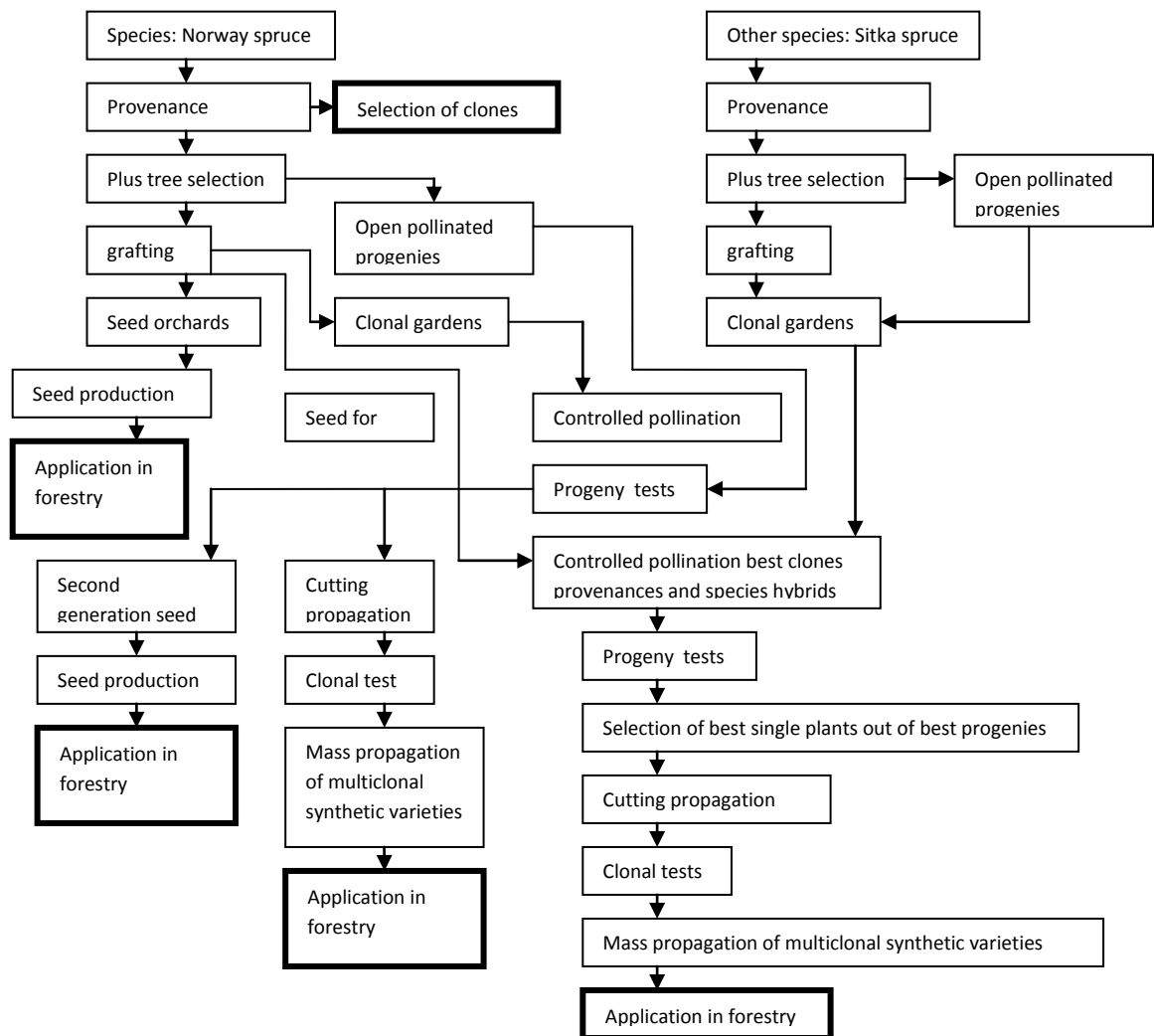
Litva

Hlavním cílem šlechtění smrku v Litvě je zajištění geneticky vylepšeného reprodukčního materiálu pro obnovu lesních porostů, které by mělo vést k založení vysoce produktivních a kvalitních lesních porostů v budoucnosti. Šlechtitelský program byl zahájen fenotypovou selekcí semenných porostů a rodičovských stromů (593 jedinců), které se projevovaly rychlým růstem, optimálním tvarem koruny, mírnou sbíhavostí kmene, malými větvemi, odolností ke znečištěnému ovzduší, chorobám a škůdcům. Nejhodnotnější jedinci byli naroubováni do klonových archívů (403 klonů). Řízkovanci 573 rodičovských stromů byli použiti k založení semenného sadu první generace a zároveň byly založeny testy potomstev všech rodičovských stromů (Gabilavicius, 1993)

Německo

Šlechtitelský program v Německu byl zahájen selekcí nejlepších proveniencí na základě výsledků provenienčních testů. Místní provenience byly upřednostňovány v případech, kdy rozdíly v adaptabilitě a produkci byly minimální. Následně byly založeny semenné sady první generace ze selektovaných proveniencí za účelem produkce geneticky vylepšeného reprodukčního materiálu a zároveň plnily funkci výsadby zajišťující požadovanou konzervaci genových zdrojů. K vyhodnocení jedinců zahrnutých do semenných sadů byly založeny testy potomstev, po jejichž vyhodnocení se provedla genetická probírka v semenných sadech prvních generací a založili se semenné sady generace druhé. V rámci testu potomstev se vyselektovali nejlepší jedinci z potomstev, kteří se naklonovali a byli ověřeni v klonových testech. Na základě vyhodnocení testů je možné provést genetickou probírku, pomocí níž je možné dosáhnout dodatečného genetického zisku kolem 10 % původního odhadu. Jedinci selektovaní pro klonové testy byli selektováni v provenienčních testech a testech potomstev ve 4 letech, přičemž selekční intenzity se pohybovaly v rozmezí 1:5000 až 1:20000. Celkově bylo testováno

65000 klonů v testech v lesních školkách a 25000 klonů v polních testech. Následnou selekcí veš 20-ti letech počet klonů poklesl na 5000. Ve stejné době byla zahájena vegetativní propagace řízkováním s bezprostřední realizací genetického zisku v lesním provozu (Kleinschmidt, 1993).



Švédsko

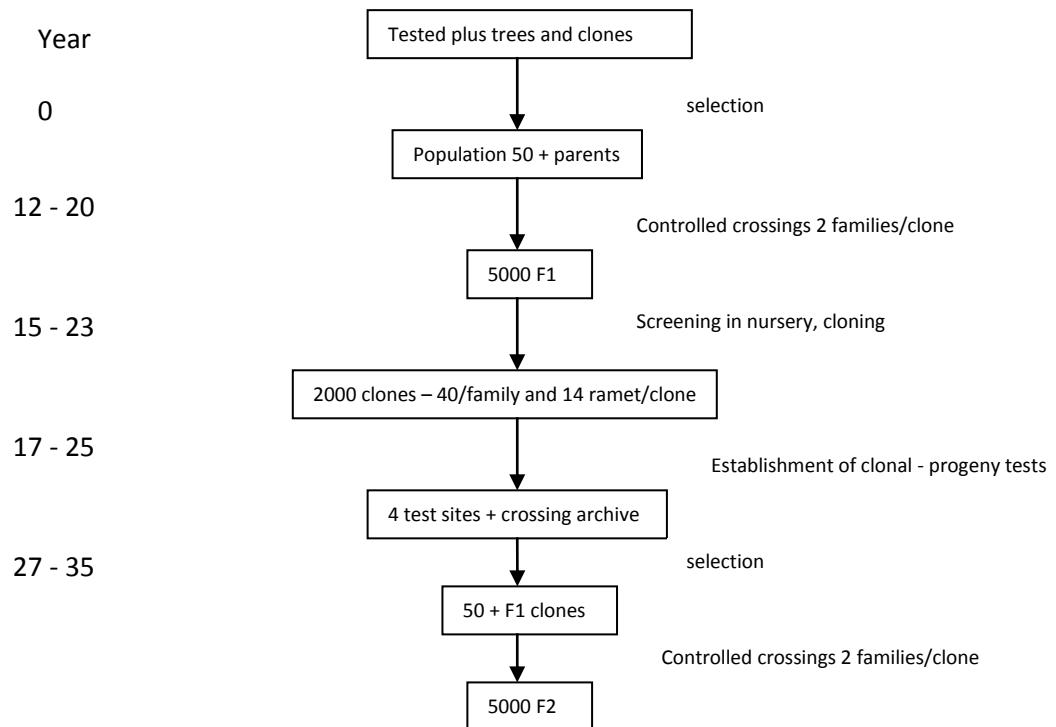
Hlavním cílem šlechtění smrku ve Švédsku jsou dobrá adaptabilita na klimatické podmínky, odolnost vůči biotickým a abiotickým činitelům a kvalita dřevní produkce. Šlechtitelský program byl zahájen tvorbou kandidátské populace rozdělené do tří kategorií:

- 1) „staré rodičovské stromy“ (old plus trees), které byly selektovány v přirozeně se zmlazujících dospělých porostech a byly použity pro založení prvních semenných sadů v letech 1950 – 1960. Následně byl založen test potomstev zahrnující plnosesterská potomstva a v případech jedinců s nepravidelným kvetením pak potomstva z volného sprášení. Výsledky tohoto testu posloužily k odhadu genetických parametrů a šlechtitelských hodnot
- 2) „nové rodičovské stromy“ (new plus trees), které byly selektovány v mladších porostech (20 – 40 let) v letech 1970 – 1980 za účelem zvětšení kandidátské populace, lepšího vyhodnocení kvality zavětvení a selekcí rodičovských stromů z nejlepších nepůvodních populací
- 3) „klony z klonových testů“ (clones from clonal test program), což jsou nejúspěšnější kandidáti pro založení kvalitní šlechtitelské populace, kteří jsou testováni klonovými testy rozmístěnými přes celou oblast

Celková kandidátská populace zahrnuje 24500 testovaných rodičovských stromů a klonů. Selektovaní jedinci byli stimulováni fytohormony (gibereliny) za účelem dostatečné produkce šištic v co nejbližším možném termínu a křížení systémem double pair mating. V každém potomstvu bylo předpokládáno kolem 100 jedinců, přičemž bylo z každého potomstva selektováno 40 jedinců v závislosti na jejich celkovém růstu a růstovém rytmu. Takto vytvořená populace obsahovala kolem 2000 jedinců, kteří byli vegetativně namnoženi a testováni v klonových testech plnosesterských potomstev na čtyřech stanovištích podél fotoperiodického a termoperiodického gradientu. Tento test byl vyhodnocen ve věku 10 – 15 let s následnou selekcí vedoucí k vytvoření

další šlechtitelské populace, která zahrnovala stejný počet jedinců z každého potomstva. V rámci krátkodobého šlechtění zaměřeného na dosažení maximálního genetického zisku při umělé obnově lesních porostů v blízké budoucnosti byly vytvořeny elitní linie křížením 10 - ti nejlepších jedinců v každém potomstvu. Tyto elitní linie byly následně pro selekci a hromadnou propagaci. Mezi navrhované metody hromadné propagace patří:

- 1) Hromadná propagace plnosesterských potomstev – nejrychlejší způsob rozmnožování geneticky vylepšeného materiálu v rámci každé nové šlechtitelské generace
- 2) Víceklonové variety – nejlepší klony jsou uchovávány v juvenilním stavu po dobu trvání klonových testů k potenciální hromadné propagaci směsí nejlepších klonů, předpokládaná doba od křížení do komerční propagace je předpokládána 15 – 16 let
- 3) Semenný sad – ten by měl být založen řízkovanci nebo roubovanci po vyhodnocení testů potomstev doplněných klonovými výsadbami, případně by byl transformován z klonových testů pomocí genetické probírky, sběr osiva je předpokládán po 30 – 35 letech (Karlsson; Rosvall, 1995).



Finsko

Hlavním účelem šlechtění smrku ve Finsku je ekonomicky efektivní tvorba produkčních populací. Šlechtitelský program byl zahájen selekcí prvních rodičovských stromů ve 40 – tých letech a semenných porostů a rodičovských stromů v přirozených porostech v 50 – tých letech 20. Století.

Semenné sady první generace – byly založeny v letech 1962 – 1972 s následnými testy potomstev a opakovanou selekcí zaměřenou na hromadnou produkci geneticky vylepšeného materiálu v klonových semenných sadech. Základním problémem semenných sadů se smrkem je periodické kvetení (5 – 10 let), pomalý fyziologický vývoj roubů k fyziologické zralosti bez kvetení (15 – 20 let), těžko odhadnutelný podíl pylové kontaminace z okolních porostů a efekt výsadby semenáčků v podmínkách odlišných od podmínek, ve kterých je založen semenný sad.

Klonování ortet selektovaných ve slibných potomstvech (kontrolovaně a volně sprášená potomstva rodičovských stromů) a proveniencích je možné uvažovat pouze v juvenilním stádiu z důvodu snižování procenta zakořeňování řízkovanců, příp. plagiotropním růstem a tím prodražování vlastní produkce reprodukčního materiálu. V 80 - tých letech byla navržena hromadná propagace (tzv. bulk propagation, která byla založena na vegetativním rozmnožování semenáčků (výhoda spočívá v opakovaném křížení perspektivních jedinců k získání juvenilních semenáčků jako zdroje pro vegetativní rozmnožování).

Koncept malých semenných sadů je založen na hormonální stimulaci kvetení kontejnerovaných roubovanců ve sklenících, který umožňuje kontrolované opylení a rychlou vegetativní propagaci ve stylu „bulk propagation“. Výhodou tohoto konceptu je plná kontrola pylové kontaminace, což umožňuje realizaci odhadnutého genetického zisku. Na druhou stranu jeho nevýhodou je nízká produkce osiva z důvodu pomalého růstu jedinců v sadu (Mikola, 1993).

3.3 Teoretické základy šlechtění lesních dřevin

3.3.1 Principy selekce, krátkodobý a dlouhodobý zisk

Selekce představuje jediný nástroj šlechtitele, který mu umožňuje formovat šlechtěnou populaci podle potřeb odpovídajícím definovaným cílům šlechtitelského programu. Selekcí nejlepších jedinců z kandidátské populace se realizuje tvorba genetického zisku, za kterou se však platí ztrátou genetické diverzity. Opakovanou selekcí v rámci jednotlivých cyklů šlechtitelského programu se tak dosáhne selekčního limitu, kde již neexistuje proměnlivost v rámci sledovaného znaku a nelze již generovat další genetický zisk. Kromě selekce na genetickou diverzitu ovšem v opačném trendu působí mutace a migrace, které částečně vyvažují dopad selekce na genetickou diverzitu populace (Namkoong, 1988).

Podstatou genetického zisku je odezva na selekci v podobě změny průměrné fenotypové hodnoty potomstev selektované skupiny rodičů vzhledem

k průměru původní rodičovské populace. Tuto odezvu na selekci lze definovat jako:

$$R = b_{O\bar{P}} S$$

Kde R je odezva na selekci, $b_{O\bar{P}}$ je regrese potomků k průměru rodičů, S je selekční diferenciál. Selekční diferenciál představuje veličinu charakterizující rozdíl mezi průměrnou fenotypovou hodnotu selektované skupiny rodičů a fenotypovou hodnotou celkové rodičovské populace. Regresi potomků k průměru jejich rodičů lze nahradit heritabilitou a vzorec lze pak napsat jako:

$$R = h^2 S$$

Selekční diferenciál a stejně tak směrodatná odchylka, která měří proměnlivost daného znaku, jsou závislé na jednotkách, ve kterých je znak měřen. Proto je vhodné generalizovat výpočet odezvy na selekci pomocí standardizace selekčního diferenciálu, kterou lze provést jako S/σ_P . Tento standardizovaný selekční diferenciál je pak nazýván selekční intenzitou i . Odezvu na selekci je pak možné charakterizovat jako:

$$R = ih^2 \sigma_P$$

Efektivita vlastní selekce je závislá na těchto faktorech:

- 1) heritabilita – podíl genotypové proměnlivosti na celkové fenotypové proměnlivosti, se zvyšující heritabilitou stoupá efektivita selekce
- 2) selekční intenzita – podíl selektovaných jedinců k celkové kandidátské populaci
- 3) fenotypový rozptyl – vyjadřuje celkovou proměnlivost sledovaného znaku v rámci hodnocených šlechtitelských výsadeb (Falconer; Mackay, 1996)

Cílem selekce ovšem není pouze maximalizace genetického zisku, která je závislá na výše uvedených faktorech, ale je třeba najít vhodný kompromis mezi velikostí generovaného zisku a ztrátou genetické diverzity, která je zdrojem potenciálu pro tvorbu genetického zisku v budoucích generacích (Quinton et al., 1982). Zvolit vhodný kompromis již závisí pouze na rozhodování šlechtitele,

vhodné volbě selekčního postupu a příp. citlivosti selekčního nástroje k získání optimálního řešení.

Potenciál tvorby genetického zisku je možné získat ze dvou složek celkové proměnlivosti sledovaného znaku, jednak v proměnlivosti mezi potomstvy a jednak v proměnlivosti v rámci potomstev. Obecně platí závislost efektivity selekce uvnitř potomstev na velikosti heritability. Se zvyšující se heritabilitou roste její efektivnost (Sánchez Rodriguez, 2000). Vlastní odhad genetického zisku lze tedy také definovat jako:

$$\Delta G = i_f * h_f^2 * \sigma_f + i_w * h_w^2 * \sigma_w$$

kde ΔG je odhadovaný genetický zisk, i je selekční intenzita, h^2 je heritabilita a σ je směrodatná odchylka souboru fenotypových hodnot kandidátů; index f a w znamená složku selekce mezi potomstvy respektive v rámci potomstev (Zobel; Talbert, 1984).

Efektivita selekce však nezávisí pouze na výše definovaných faktorech, ale také na přesnosti odhadu selekčních kritérií vzhledem k budoucímu vývoji projevu znaku. Proto je třeba při výpočtu genetického zisku zvažovat i riziko takovéto časné selekce vzhledem k realizaci tohoto zisku v době obmýtí. Tím do výpočtu vstupují další parametry a to věkové korelace projevu sledovaného znaku:

$$\Delta G = i_f * r_f * h_f^2 * \sigma_f + i_w * r_w * h_w^2 * \sigma_w$$

kde r je korelační koeficient projevu znaku v období selekce a v době obmýtí (Magnussen; Yanchuk, 1993).

Konstrukcí korelačních koeficientů jako efektivního nástroje pro časnou selekci se zabývala celá řada autorů (Kang, 1985; Burdon, 1989). Velice používaným vzorcem se stal koncept vyvinutý Lambertem (1980):

$$r(x) = A + B * \ln x$$

kde $x = t/T$; t je věk v době selekce (v letech od doby výsadby), T je věk v době obmýtí (v letech od doby výsadby), A je hodnota bodu procházejícího regresní křivkou pro $x = 1$, B je regresní koeficient závislosti hodnoty $r(x)$ na $\ln(x)$. Hühn a Kleinschmidt (1993) deklarovali jako optimální koeficienty pro smrk $A = 0.843$ a $B = 0.263$. Na základě těchto korelací je pak možné stanovit optimální věk pro selekci, který se pohybuje kolem 15-ti let pro potomstva zastoupena minimálně

20-ti jedinci, případně 10-ti let pro potomstva zastoupena 40 - ti jedinci (Magnussen; Yanchuk, 1993). Počet testovaných potomků v rámci potomstev by měl být dostatečně velký k tomu, aby rozdíly mezi potomstvy I v rámci potomstev byly statisticky významné. Snedecor a Cochran (1967) navrhli statistické testy vedoucí k získání minimální velikosti potomstva, kdy vycházeli ze srovnání dvou potomstev:

$$n = (Z_A + Z_B)^2 (2\sigma_e / \delta)$$

kde n je počet jedinců v rámci potomstva, δ rozdíl mezi průměry potomstev, σ_e rozptyl v rámci potomstev a $(Z_A + Z_B)$ je daná konstanta, která vyjadřuje pravděpodobnost, s jakou se získají statisticky významné rozdíly mezi potomstvy. S ohledem na povahu testovaného materiálu je třeba rozptyl v rámci potomstev upravit o korelace mezi příbuznými jedinci:

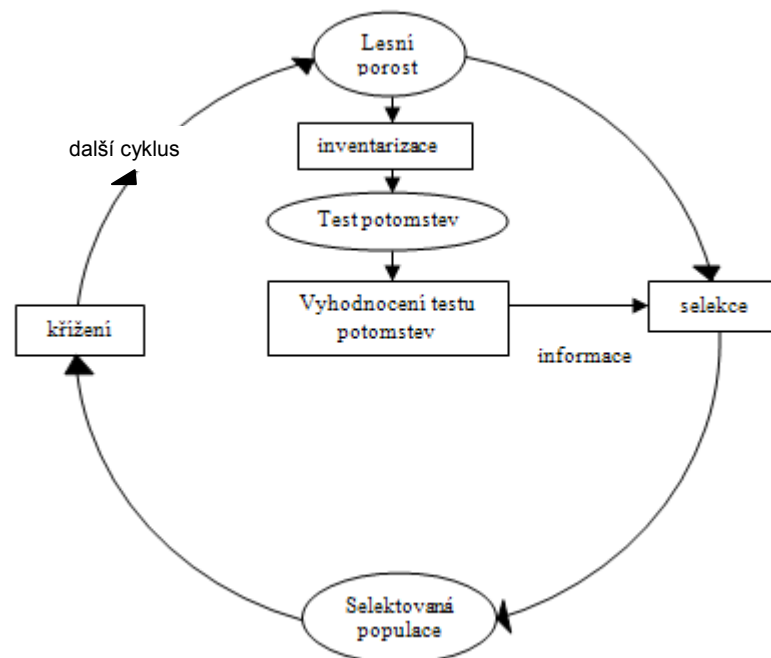
$$\sigma_e = (1 - t)\sigma$$

kde t je $\frac{1}{4}h^2$ pro polosesterská potomstva a $\frac{1}{2}h^2$ pro plnosesterská potomstva, σ je celkový rozptyl populace.

Nejstarší používanou selekcí je individuální fenotypová selekce, která je založena na hodnocení fenotypového projevu jedinců bez znalosti jakékoliv informace o jejich genetické kvalitě. Této selekce je využíváno v prvotních fázích šlechtitelských programů a od pečlivosti provedení této selekce se odvíjí celková efektivita daného programu. Při výběru jedince je třeba dbát jak na jeho fenotypový projev, tak na jeho umístění v porostu (Hynek, 1997). Na základě této selekce jsou založeny všechny semenné sady prvních generací příp. semenné porosty (Šindelář, 1968).

Mezi základní šlechtitelské koncepty patří tzv. opakovaná selekce navržená Namkoongem (1988), jejíž princip se skládá z tvorby dvou populací (kandidátské a selektované) a dvou aktivit (selekce a křížení). Selektovaní jedinci jsou kříženi a vysázeni v testech bez ohledu na rodokmen. Nejlepší jedinci jsou selektováni a opět kříženi. Z takto vzniklých jedinců je opět založena výsadba určená k opětovné selekci. Mnohem přesnější selekce představuje selekci na základě všeobecné kombinační schopnosti s uvažováním struktury rodokmenu. Zde je uvažována selekce nejlepších jedinců z nejlepších potomstev. Ty jsou v dalším cyklu kříženi a otestováni

v testech potomstev, na jejichž základě je provedena další selekce. Toto představuje koncepci tzv. „forward selection“ tedy selekce v potomstvech (Eriksson; Ekberg, 2001). Další možnost představuje selekce rodičovských stromů na základě kvality jejich potomstev tzv. zpětná selekce „backward selection“. Volba metody křížení, které může být provedeno volným sprášením případně kontrolovaným sprášením, předem určuje množství genetických parametrů (všeobecná resp. specifická kombinační schopnost), které mohou být získány na základě vyhodnocení testů potomstev. To ovlivňuje i přesnost vlastní selekce. Efektivita selekce však závisí u většiny lesních dřevin především na velikosti aditivního genetického rozptylu.



Zdroj: Namkoong, 1988

Po otestování selektovaných jedinců v testech potomstev je možné provést selekci dvěma způsoby, buď selekcí nejlepších jedinců přímo v potomstvech, nebo selekcí nejlepších rodičovských stromů na základě výsledků testů potomstev. Výsledky studií založených na selekčních intenzitách ukazují vhodnost kombinace obou těchto způsobů, přičemž rozsah selekce v generaci potomstev a generaci rodičovských stromů závisí na heritabilitě, selekční intenzitě a počtu jedinců v potomstvech a také na způsobu křížení. V

případě volného sprášení se podíl rodičovských stromů pohybuje kolem 25% všech selektovaných jedinců, zatímco v případě polykrosu se jedná již pouze o 3% (Ruotsalainen; Lindgren, 1998). V případě plnosesterských potomstev se již zpětná selekce, tedy selekce rodičovských stromů nevyplatí (Lindgren; Werner, 1989).

Vzhledem k designu testovacích výsadeb je navržena tzv. sekvenční selekce, která kombinuje selekci mezi potomstvy a v rámci potomstev. Princip selekce je založen na selekci nejlepších jedinců z každé parcely selektovaného potomstva. Tato metoda je velice častou ve šlechtění rychlerostoucích dřevin. Touto selekcí se vhodně pokryje proměnlivost podmínek prostředí na stanovišti. Tato selekce je velice často porovnávána se selekcí kombinovanou, která je založena na tvorbě selekčního indexu zohledňující průměr potomstva a vlastní fenotypovou hodnotu jedince (Lindgren; Wei, 1994). Ta se jeví ve většině případů efektivnější než selekce sekvenční a to v případech znaků s nízkou heritabilitou a v testech s malou velikostí parcel (Cotterill; Jackson, 1985; Bueno Filho; Vencovsky, 2000).

V případě vícekriteriální selekce je možné použít tandemovou selekci založenou na opakovaných selekcích střídající znaky jako selekční kritérium v následných generacích selekcí, nebo hodnoty jednotlivých znaků vhodně zkombinovat do selekčních indexů (Hazel, 1943). Seleční indexy jsou konstruovány jako sumy aditivních genetických hodnot jednotlivých znaků přenásobených ekonomickou vahou. Efektivita selekčních indexů závisí na korelaci fenotypové a genotypové hodnoty a na vhodně zvolených vahách přidělených jednotlivým znakům v indexu. Srovnávací studie ukazují vyšší kumulovanou hodnotu genotypu u indexové selekce, avšak efektivita indexové selekce ve srovnání s tandemovou pouze v prvních cyklech selekce. Pokles relativní efektivnosti indexové selekce klesá s rostoucí selekční intenzitou, heritabilitou a negativní korelací mezi hodnocenými znaky (Villanueva; Kennedy, 1993).

Velice užitečným konceptem často využívaným ve šlechtitelských programech je odhad šlechtitelské hodnoty vypočtené na základě analýzy REML – BLUP (Henderson, 1988), která je selekčním kritériem v tzv. BLUP selekce (BLUP = Best Linear Unbiased Prediction), což je selekce založená

přímo na selekci na aditivní genetickou hodnotu sledovaného znaku. Šlechtitelská hodnota představuje hodnotu jedince jako rodiče tedy hodnotu, kterou jedinec předá svým potomkům. Efektivita BLUP selekce je závislá na přesnosti odhadu šlechtitelské hodnoty, která je závislá na rozsahu (počet ploch, počet opakování) (Cotterill; James, 1984, Lu; White, 2004), kvalitě založení a údržby šlechtitelských výsadeb a také na vhodném věku selekce. Ze statistického hlediska se jeví metoda jednostromových parcel jako nejlepším designem pro založení šlechtitelských výsadeb. Velká výhoda spočívá v obrovské flexibilitě vzhledem k dodatečným analýzám *a posteriori*, které vedou k částečnému odstranění nežádoucí proměnlivosti podmínek na stanovišti např. pomocí postblockingu. Ty vedou k vylepšení odhadů nejen šlechtitelských hodnot, ale i dalších genetických parametrů např. heritability, aditivního genetického rozptylu (Ericsson, 1997).

Pro návrhy testů vícestromovými parcelami postblocking velice rychle ztrácí svoji efektivitu a je třeba přistoupit k prostorovým analýzám, které využívají prostorovou korelační strukturu v podobě definování pozice jedince ve výsadbě a mohou tak pokrýt závislost sousedících měření. Navíc je možné v rámci těchto analýz pomocí vložených polygonů odseparovat různé gradienty působící napříč stanovištěm např. nerovnoměrná tloušťka půdního horizontu, minerální výživa, vodní režim. Tyto modely jsou založeny na rozdělení zbytkových komponentů rozptylu na komponentu skutečně náhodnou a komponentu korelovanou. Vložením polygonů se korelovaná složka pokryje modelem a náhodné efekty by měly získat normální rozdělení. Tím jsou odhady šlechtitelských hodnot získány s menší střední chybou odhadu (Gilmour et al., 2002).

Z hlediska věku selekce je třeba navrhnout takový spon, aby testování jedinci byli po celou dobu ovlivňováni sousedními jedinci pouze minimálně. Se vzrůstající konkurencí sousedních jedinců jsou pak odhady šlechtitelských hodnot nadúrovňových jedinců nadhodnoceny a naopak jedinců potlačených podhodnoceny. Toto znepresnění odhadů je možné potlačit vložením autokorelační struktury prvního řádu (Dutkowski et al., 2002; Funda et al., 2007).

Selekce je v konzervativních šlechtitelských programech navrhována jako vyvážená, tedy všechny hodnocené varianty (potomstva, dílčí části kandidátské populace – sublimes) jsou zastoupeny v další generaci šlechtitelského cyklu rovnoměrně. Tato selekční schémata jsou uvažována převážně pro dlouhodobé šlechtitelské strategie, které v maximální možné míře minimalizují ztrátu genetické diverzity (Danusevicius; Lindgren, 2005). Progresivnější metody pracují s nevyváženou selekcí, která zohledňuje vlastní šlechtitelskou hodnotu jedince. Tyto metody se jeví jako velice perspektivní pouze v případě, kdy šlechtitel má k dispozici kvalifikované selekční nástroje (Lindgren, 2005).

Základním konceptem nevyvážené selekce ve šlechtitelských programech představuje tzv. linear deployment (Lindgren, 1993). Tento princip je založen na zohlednění šlechtitelských hodnot při využití genetického materiálu ve šlechtitelských programech. Znamená to, že jedinci s vyššími šlechtitelskými hodnotami jsou zastoupeni ve větším poměru než jedinci s nižšími šlechtitelskými hodnotami. Tento princip lze uplatnit jak v návrhu počtu ramet jednotlivých klonů v klonových semenných sadech (Lindgren; Matheson, 1986; Prescher et al., 2006) tak k optimálnímu počtu jedinců reprezentujících jednotlivá potomstva při selekci do další generace šlechtitelských populací (Wei; Lindgren, 1995).

Jedním z dalších možných postupů BLUP selekce je algoritmus vyvinutý Lindgrenem a Mullinem (1997) „Group merit selection“ založený na iteračním postupu, který se dá charakterizovat jako simulované žíhání oceli („simulated annealing“), jejíž atomy hledají stále vhodnější polohu tak aby výsledkem byla skutečně tvrdá ocel, a přitom periodicky odevzdávají část své energie. Cílem je najít stav s nejnižší energetickou hodnotou, která definuje optimum daného problému. Výhodou tohoto postupu je možnost pracovat s příbuzným materiálem, což koncept linear deploymentu nedokáže.

Podobný koncept selekce jedinců v potomstvech na základě průměrné hodnoty potomstev navrhl Andersson et al. (1999) pomocí celočíselného programování. Problém celočíselného programování spočívá v definování kritéria pro získání skutečného optima.

V poslední době probíhá velice intenzivní výzkum selekce asistované genovými markery. Princip spočívá v detekování lokusů řídících expresi sledovaného znaku (QTL – quantitative traits loci) pomocí tvorby genetických map na základě analýz genetických markerů (Kaya et al., 1999). Efektivita detekování těchto lokusů je závislá na hustotě markerové mapy a na vzdálenosti markeru ke QTL. Čím menší je vzdálenost mezi markerem a QTL, tím menší je pravděpodobnost rekombinace v daném úseku a tím spolehlivější je marker jako selekční nástroj. Genetický zisk generovaný touto selekcí může růst do té doby, dokud nové markery vkládané do tvorby markerových map budou signifikantně zvyšovat genetický rozptyl (Lande; Thompson, 1990). Cílem tohoto postupu je efektivní selekce jedinců již v raném stádium, což by mělo za následek zkrácení šlechtitelského cyklu a zefektivnění celkového šlechtitelského programu. Relativně efektivní se zdají být tyto typy selekce pro znaky vykazující nízkou heritabilitu a nízkou genetickou korelací projevu znaku v mládí a ve zralém věku ve srovnání s klasickou fenotypovou selekcí (Wu, 2002).

Krátkodobý zisk vs. dlouhodobý zisk

Krátkodobý genetický zisk je maximalizován selekcí jedinců na šlechtitelských hodnotách, které mohou být odhadnuty pomocí informací z rodokmene. Většina algoritmů pracujících s krátkodobou selekcí, tedy selekcí generující pouze krátkodobý genetický zisk je založena na maximalizaci průměrné šlechtitelské hodnoty selektované skupiny penalizované nárůstem příbuznosti (pomocí „group coancestry“) (Lindgren, 2005). Z hlediska dlouhodobého potenciálu genetického zisku je ovšem třeba klást mnohem větší důraz na genetickou diverzitu než je tomu u krátkodobé selekce zaměřené na bezprostřední realizaci genetického zisku. Rychlé vyčerpání aditivního genetického rozptylu tedy vlastní genetické proměnlivosti populace způsobuje ztrátu potenciálu pro tvorbu genetického zisku v budoucích generacích selekcí a šlechtitelský program se stane neefektivním (Eriksson; Ekberg, 2001). Studie založené na maximalizaci dlouhodobého zisku pracují většinou s konzervativními vyváženými selekcemi za účelem udržení maximálně možné

genetické diverzity jako potenciálu pro tvorbu genetického zisku v budoucnu (Danusevicius; Lindgren, 2005).

3.3.2 Genetická diverzita

Genetická diverzita je jedním z důležitých genetických parametrů zvažovaných ve šlechtitelských programech a strategiích. Její velikost přispívá ke stabilitě porostů a odolnosti vůči biotickým a abiotickým činitelům. Genetickou diverzitu je možné vyjádřit jako:

$$GD = 1 - \Theta$$

kde Θ je tzv. „group coancestry“, která je definována jako průměrný koeficient příbuznosti mezi jedinci v populaci (Cockerham, 1967).

Genetickou diverzitu je možné sledovat z více aspektů na příklad jako alelovou diverzitu popisovanou počtem polymorfních lokusů, počtem alel na lokus, podílem heterozygotních lokusů nebo jako genovou diverzitu definovanou jako pravděpodobnost, že alely na sledovaném lokusu nejsou totožné svým původem (Rosvall, 1999).

Význam genetické diverzity se liší vzhledem k různým účelům šlechtitelských programů viz tab. 1. Většina genetické proměnlivosti je tvořena běžnými alelami, jejichž frekvence v populaci je vyšší než 0,1 a vyskytují se i v malých výběrech z populace (Yanchuk, 2001).

účel	genetická diverzita		
	mezi jedinci	v rámci populací	mezi populacemi mezi druhy
krátkodobý zisk		**	**
dlouhodobý zisk		**	*
evoluce		**	*
stabilita a odolnost	*	*	**
neočekávané riziko		*	**
nové cíle		**	*

* - střední důležitost ** - vysoká důležitost

Zdroj: Ruotsalainen (2002)

Ve šlechtitelských programech je genetická diverzita vhodně aproximována efektivní velikostí populace, která je definována jako počet neinbredních, nepříbuzných jedinců ekvivalentní skutečnému stavu populace

(Lindgren, 1997). Jedním ze způsobů jak vyjádřit efektivní velikost populace je „Status number“, který je založen na jedné polovině inverzní hodnoty „group coancestry“:

$$N_s = \frac{1}{2\Theta}$$

Kde N_s je hodnota efektivní velikosti populace a Θ je „group coancestry“ tedy průměrný koeficient příbuznosti (Lindgren et al, 1996).

Koeficienty příbuznosti jsou definovány pravděpodobností, s jakou získáme v potomstvu jedince s lokusem obsazeným alelami, které si jsou svým původem identické (Malecot, 1948). Takto definované „group coancestry“ nám zároveň stanovuje inbreedingový koeficient v generaci potomstev, které vzejdou křížením jedinců zahrnutých ve výpočtu „group coancestry“.

Kontrola inbreedingu tedy stupně příbuzenského křížení v rámci šlechtění lesních dřevin je stěžejní pro celkový úspěch programu. Vysoký podíl příbuzenského křížení může vyústit v inbreedingovou depresi, která v případě smrku způsobuje redukci v množství plných semen v úrodě a snižuje celkovou produkci jedinců vzniklých z příbuzenského křížení (Skrøppa, 1996). Z dlouhodobých experimentů s inbredním materiálem je možné pozorovat změny ve vývoji průměrů potomstev v čase. Potomstva projevující se jako méně produktivní v časném období jsou naopak nejproduktivnější v pozdějších letech. Celkově ovšem inbrední potomstva nikdy nedosáhnou produkčních kvalit potomstev z volného sprášení (Eriksson et al., 1973). Intenzita projevu inbreedingové deprese je závislá na počtu škodlivých alel jak v populaci, tak v rámci každého jedince, což je závislé na historii vývoje genetické struktury populace. Tyto důsledky snižují efektivitu semenných sadů jak v množství produkovaného osiva tak jeho kvalitě. Tím redukuje realizovaný genetický zisk (Skrøppa, 1996; Andersson et al., 1974).

3.3.3 Šlechtitelský program

Šlechtitelský program je ucelený kontinuální systém aktivit, který směřuje ke splnění předem stanovených šlechtitelských cílů (k produkci geneticky

vylepšeného reprodukčního materiálu). Každý šlechtitelský program by měl zvažovat tyto faktory:

- Cíl šlechtění
- Ekologické a jiné podmínky prostředí, v němž má být vyšlechtěný materiál pěstován
- Výchozí šlechtitelský materiál (zdrojové populace)
- Metody zvolené pro realizaci programu
- Časový průběh šlechtitelského procesu
- Způsob množení vyšlechtěného materiálu
- Tvorba syntetických odrůd (víceklonové směsi) resp. syntetických populací (semenné sady)
- Ověření a rajonizace vyšlechtěných odrůd
- Uznávací řízení a registrace odrůd (Šindelář, 1992)

Šlechtitelské aktivity v rámci šlechtitelských programů lze koncentrovat do 3 populací:

- 1) Zdrojová populace – skládá se z jedinců selektovaných primární fenotypovou selekcí v porostech a její rozsah je dán jednak účelem šlechtitelského programu (konzervace genových zdrojů nebo aktivní šlechtění) a jednak velikostí a rozmanitostí přírodních podmínek cílové oblasti, ve které je vyšlechtěný materiál využit
- 2) Šlechtitelská populace – zde se koncentrují aktivity spojené s křížením jedinců kandidátské populace a jejich testováním ať již polními šlechtitelskými výsadbami nebo dnes rozšířené otestování genetické informace pomocí analýz genetických markerů. Toto testování probíhá v rámci podpůrného programu (Namkoong, 1988)
- 3) Produkční populace - tyto populace jsou konečnými výstupy vlastního šlechtitelského programu a slouží k transferu genetického zisku vygenerovaného ve šlechtitelském programu do provozních hospodářských výsadeb. Hlavními produkčními populacemi jsou semenné sady a pro klonové programy matečnice. (Paule, 1992)

Úspěch šlechtitelského programu závisí již na pečlivosti výběru jedinců do kandidátské populace. Výběr by měl vycházet nejen z fenotypového projevu, ale i z postavení daného jedince v porostu vzhledem ke konkurenčním vzbábám

okolních jedinců (Hynek, 1997). Selektované stromy by měly být vybírány v porostech nacházejících se ve druhé polovině doby obmýtí. Nikdy by se výběrové stromy neměly vybírat v porostech přestárých (Brown; Goddard, 1961). Kandidátská populace je zpravidla vytvořena na základě inventarizací původních porostů nebo z výsledků provenienčních testů (Šindelář, 1992).

Návrhy šlechtitelských programů by měli být řešeny jako dlouhodobé koncepce, které budou schopny pružně reagovat na změny preferencí trhu vzhledem k jejich cíli a zároveň reflektovat na změny ekologických podmínek v důsledku dlouhodobých změn klimatu. Na tyto potřeby reagoval Namkoong (1988) rozdělením šlechtitelské populace do menších celků (subpopulací) s minimálním počtem 50 jedinců, které jsou umístěny do širokého spektra podmínek prostředí pokrývajících celkovou zájmovou oblast. Selektce probíhá samostatně v rámci každé ze subpopulací s cílem klást větší důraz na kvalitu kmene než na produkci. Aditivní genetický rozptyl se v rámci jednotlivých subpopulací mírně sníží, zatímco mezi subpopulacemi se zvýší. Toto zvýšení aditivního genetického rozptylu umožňuje mnohem flexibilnější reakci na změnu šlechtitelských cílů v budoucnu.

Šlechtitelská populace nemusí být obecně rozdělena do subpopulací, ale do dílčích linií, v rámci kterých se uskutečňuje křížení. Tento způsob managementu šlechtitelských populací vykazuje rychlou akumulaci inbreedingu v rámci jednotlivých linií, ovšem na druhou stranu selekcí nejlepšího jedince z každé linie umožňuje vyloučení inbreedingu v produkčních populacích. Počet linií tedy odpovídá počtu klonů, který předpokládáme pro použití v semenném sadu z hlediska jeho efektivní velikosti populace (McKeand, 1980). V rámci každé dílčí linie se uvažuje jako optimální počet genotypů mezi 15 – 40. McKeand a Bridgwater (1998) ovšem navrhuje pouze 4 jedince v rámci každé dílčí linie. Ruotsalainen a Lindgren (2000) modifikoval tento princip vložením pozitivního asortativního křížení. Princip spočívá v tvorbě dílčích linií z genotypů uspořádaných podle jejich šlechtitelských hodnot, čímž získal nárůst rozptylu mezi dílčími liniemi a dodatečný genetický zisk kolem 15% oproti náhodně vytvořeným dílčím liniím.

Jádrové šlechtění tzv. „nucleus breeding“ představuje další způsob managementu šlechtitelských populací (Cotterill et al., 1989). Koncept je

založen na nerovnoměrném rozdělení šlechtitelské populace do menší jádrové populace (30-50 jedinců), ve které se provádí všechny aktivity v rámci aktivního šlechtění a větší hlavní populace (300-400 jedinců), ve které probíhá konzervace genových zdrojů a uchování potenciálu pro tvorbu dlouhodobého genetického zisku (Eriksson; Ekberg, 2001).

EI-Kassaby et al. (2007) navrhuji velice progresivní šlechtitelský postup založený na rekonstrukci rodokmenu s využitím molekulárních markerů, zejména mikrosatelitů, což podstatně zkrátí náklady na nejdražší část šlechtitelských programů a to testy potomstev. Díky rekonstrukci rodokmenu zjistíme otce perspektivních jedinců v potomstvech a tím z polosesterských potomstev vytvoříme potomstva plnosesterská. To vede ke zpřesnění odhadů šlechtitelských hodnot a zefektivnění celkové selekce. Navíc dojde ke zkrácení doby testování a tím se genetický zisk realizuje mnohem dříve, než je tomu u klasických postupů. Efektivita selekce je zde závislá na použitém návrhu křížení, přičemž jako nejefektivnější se jeví polykros, kde je možné dohledat otce vždy. V případě potomstev semenného sadu je úspěšnost selekce závislá na podílu kontaminace osiva z okolních porostů.

Vegetativní propagace ve šlechtění lesních dřevin

Nezastupitelnou funkci ve šlechtění lesních dřevin má vegetativní propagace, přičemž nejvyužívanější metodou je klonování. Význam vegetativního rozmnožování se dá shrnout do několika bodů:

- Zachování genotypů v klonových archivech
- Rozmnožování požadovaných genotypů pro speciální použití např. semenné sady nebo šlechtitelské pokusy
- Vyhodnocení genotypů a jejich interakce s prostředím pomocí testů potomstev (klonových testů)
- Zabezpečení maxima genetického zisku šlechtěného materiálu při produkci sadebního materiálu v provozních programech (Paule, 1992).

Jednou z hlavních technologických úloh vegetativní propagace ve šlechtění lesních dřevin představuje roubování jedinců do klonových

semenných sadů a klonových archívů. V těchto případech se využívá spíše heterovegetativního rozmnožování v podobě roubování, kde jedinec je vytvořen naroubováním roubu na podnož, která pochází z jiného jedince. Genetická odlišnost obou částí může způsobovat problémy s ujímavostí roubovanců a v některých případech dochází k nadměrné mortalitě z důvodu negativní interakce mezi podnoží a roubem. Autovegetativního rozmnožování v podobě řízkování se využívá především v ověřovacích testech, které jsou buď zakládány jako čistě klonové testy, nebo jsou klonové replikace součástí testů potomstev. V případě čistých testů potomstev je možné získat genotypovou hodnotu testovaných jedinců, která zahrnuje jak aditivní, tak neaditivní genetické účinky zahrnující efekty dominance a epistáze. Tyto genotypové hodnoty je možné využít v programech klonového hospodářství, kde se pro získání reprodukčního materiálu využívá právě autovegetativního rozmnožování (Karlsson, 2000)

V některých případech je efektivita klonování klasickou cestou pomocí řízkování obtížná a neefektivní. V těchto případech jsou tyto klasické způsoby nahrazeny biotechnologiemi a to hlavně somatickou embryogenezí v kombinaci s kryoprezervací umožňující přetrvávání zdrojového materiálu (embryogenních pletiv) v juvenilním stádiu po dlouhou dobu. To umožňuje klony otestovat v klonových testech, na jejichž základě je možné vyselektovat nejlepší klony a ty pak množit pomocí materiálu, který je po dobu testu konzervován pomocí kryoprezervace. Takto konzervovaný materiál neztrácí schopnost efektivní propagace a celý klonový program je pak mnohem efektivnější (Park et al., 1998). V některých programech jsou využity produkty somatické embryogeneze pro tvorbu umělých semen (Maruyama et al., 2003)

Další možností využití autovegetativního rozmnožování ve šlechtění lesních dřevin je doplnění testů potomstev klonovými replikacemi. Selektce založená na průměru klonu testovaného v plnosesterských testech doplněných klonovými replikacemi představuje nejefektivnější metodu selekce z hlediska velikosti odhadu genetického zisku (Mullin; Park, 1992)

Semenné sady

Semenné sady jsou nejčastější formou produkčních populací ve šlechtitelských programech lesních dřevin po celém světě. Podle způsobu jejich založení je možné rozlišovat semenné sady jádrové, které jsou založeny generativně z potomstev rodičovských stromů, a semenné sady klonové, které jsou založeny z klonových replikací rodičovských stromů (Eriksson; Ekberg, 2001). Specifickým případem jádrových semenných sadů jsou tzv. „Polycross seed orchards“, které jsou založeny z potomstev rodičovských stromů, které byly kontrolovaně sprášeny pylovou směsí vybraných otcovských jedinců (Plomion et al., 2001).

Jádrové semenné sady jsou zakládány převážně u dřevin s časným nástupem kvetení, kdy je možné získat první vyšlechtěné osivo v ekonomicky akceptovatelném časovém horizontu. První generace jádrových semenných sadů jsou zakládány z jedinců vzniklých volným sprášením rodičovských stromů v mateřských porostech (Paule, 1992). Takto vytvořený semenný sad je pak transformován genetickou probírkou tak, že jsou ponecháni jako producenti osiva pouze nejlepší jedinci z nejlepších potomstev (Eriksson; Ekberg, 2001).

Klonové semenné sady jsou zakládány jako vegetativní kopie rodičovských stromů selektovaných v mateřských porostech. Tyto typy semenných sadů se zakládají hlavně pro dřeviny s pozdním nástupem kvetení. To by v předchozím typu semenných sadů znamenalo podstatné zhoršení ekonomické efektivity. K docílení časného kvetení je zde využito efektů heterovegetativního množení, hlavně zachování ontogenetického stádia roubu, což vede k navození kvetení v relativně brzké době. Na druhé straně značným rizikem heterovegetativního množení je nekompatibilita roubu s podnoží, která způsobuje hynutí jedinců jak ihned po naroubování tak i v několika letech po naroubování.

Hlavním problémem řešeným při zakládání semenných sadů je způsob selekce jedinců, volba vhodného rozmístění a efektivní velikosti populace. Selektace jedinců do semenných sadů je prováděna dvěma způsoby a to buď vyváženou selekcí v potomstvech nebo selekcí mezi mateřskými jedinci případně jejich kombinací (Ruotsalainen, 2002), nebo selekcí mezi mateřskými

jedinci s nevyváženým zastoupením, kdy počet ramet je funkcí šlechtitelské hodnoty daného jedince (Lindgren; Matheson, 1986).

Z hlediska návrhu rozmístění jedinců v semenném sadu je možné definovat tři typy semenných sadů:

- 1) Tzv. „free love“ návrhy – jsou založeny bez jakéhokoliv návrhu rozmístění jedinců
- 2) návrhy náhodného rozmístění – jedinci jsou rozmístěni náhodně po celé ploše semenného sadu, nebo v rámci jednotlivých bloků, obvykle s omezením minimálního odstupů ramet stejného klonu
- 3) návrhy systematického rozmístění – jedinci systematicky rozmístěni po celé ploše semenného sadu

Hlavními problémy, které je třeba v rámci návrhu semenného sadu řešit jsou:

- 1) omezit kontaminaci úrody osiva pylem z okolních porostů
- 2) vytvořit takové podmínky, aby sprášení bylo rovnoměrné po celé ploše sadu
- 3) rozmístěním zajistit maximalizaci počtu kombinací, s cílem zajistit maximální genetickou proměnlivost
- 4) minimalizovat inbreeding (van Buijtenen, 1971).

Pro návrh rozmístění jedinců v semenném sadu existují softwary, které navrhují systematické rozmístění ramet jednotlivých klonů v rámci pravoúhlých, trojúhelníkových a hexagonálních parcel podle předem stanovených požadavků (Chakravarty et al., 1993, Bell; Fletcher, 1978). V současné době je snaha vytvořit návrhy rozmístění jedinců na základě optimalizačních algoritmů, které jsou založeny na minimalizaci pravděpodobnosti příbuzenského křížení. Tyto programy umožňují naopak obrovskou variabilitu v nastavení vstupních parametrů (Lstibůrek; El-Kassaby, 2008).

Současné semenné sady byly navrhovány většinou s vyváženým zastoupením všech selektovaných jedinců. Tohoto způsobu je využíváno hlavně v semenných sadech prvních generací, kdy jedinci jsou selektováni na základě fenotypového projevu bez dostupných informací o jejich genetické

kvalitě. V případě, že jsou již dostupné informace o genetické kvalitě jedinců z testů potomstev, je možné management semenného sadu upravit se zřetelem na tyto informace. Jedním z klasických opatření reflektujících tyto nové informace je genetická probírka, kterou je možné provést na základě „Linear Deployment“ strategie (Lindgren; Matheson, 1986), kdy počet jedinců po probírce je přímo úměrný šlechtitelské hodnotě daného jedince. Nevýhodou tohoto postupu je ztráta produkce osiva, která je z ekonomického hlediska mnohem větší než zisk z dodatečného zvýšení genetického zisku. Z tohoto důvodu je často genetická probírka nahrazována selektivním sběrem osiva, kdy osivo ze semenného sadu je sbíráno samostatně z jednotlivých klonů a poté je vytvořena směs osiva podle optimálních proporcí závislých na genetické kvalitě jednotlivých klonů. Tento postup sice není tak efektivní jako genetická probírka z hlediska genetického zisku, avšak udržuje genetickou diverzitu na podstatně vyšší úrovni. Jako optimální řešení dodatečného zvýšení genetického zisku se jeví kombinace obou těchto postupů, kdy se provede mírná genetická probírka s následnou intenzivnější selekcí jedinců pro selektivní sběr osiva (Kang et al., 2005).

Pro zvýšení efektivity semenného sadu je možné provádět dodatečné sprášení, kdy se v době kvetení odebere z jedinců v semenných sadech zbývající pyl, a pomocí vybavení pro kontrolované opylování jsou zbývající neopylené samičí šišťice opyleny směsí získaného pylu. Toto dodatečné sprášení může zvýšit produkci semenného sadu v prvních letech kvetení, kdy produkce pylu může být ještě v některých případech omezená a umožní dodatečně zvýšit genetický zisk díky proporčním pylovým příspěvkům v pylové směsi přímo úměrným genetické hodnotě otcovských jedinců. Navíc je možné zvýšit genetickou diverzitu v osivu díky zvýšení počtu kombinací rodičů, kteří by při volném sprášení nevznikli z důvodu fenologických rozdílů v procesu kvetení. Stoehr (2005) díky genetickým analýzám zjistil, že při použití dodatečného opylení stoupne podíl plných semen v průměru z 25% na 41,1%. Celkový ekonomický efekt dodatečného sprášení je závislý jak na potenciálu zvýšení produkce osiva, tak na výši dodatečného genetického zisku v osivu díky intenzivnější selekci otcovských rodičů nebo proporčním příspěvkům jednotlivých otců v závislosti na jejich genetické kvalitě.

4 Materiál

Šlechtitelský program se smrkem ztepilým z oblasti Dolního Posázaví byl zahájen v roce 1960 výběrem tzv. „šlechtitelských stromů“, kteří v rámci tehdejší praxe představovali rodičovské stromy bez požadavku uznávacího řízení. Tyto stromy však byly dodatečně uznány za výběrové. Celkově bylo vyselektováno 220 jedinců na 11-ti lokalitách v oblasti tří bývalých lesních závodů: ŠLP Kostelec n.Č.l., LZ Kácov a LZ Konopiště viz příloha č. 1 a příloha č. 2. Dostatečná úroda osiva v roce 1971 umožnila založení testů potomstev k ověření genetické kvality vyselektovaných jedinců. Celkem bylo založeno 6 výsadeb testů potomstev, přičemž předmětem této práce bylo vyhodnocení 3 hlavních ploch: Skalice, Moštice a Lhotky. Veškerý materiál pro založení těchto výzkumných ploch byl vyškolčován ve školce šlechtitelské stanice Vědeckého lesnického ústavu v Kostelci n.Č.l. na Trubech.

Charakteristika přírodních poměrů v oblasti Dolního Posázaví

Dolní Posázaví je charakterizováno pahorkatinou v oblasti středního a dolního toku řeky Sázavy, která protéká jihovýchodní částí středočeského kraje. Nadmořské výšky v této oblasti dosahují 300 – 550 m.n.m. a roční úhrny srážek se pohybují mezi 535 – 716 mm. Průměrné roční teploty se pohybují v rozmezí 7,0 – 8,1 °C a vegetační období zde trvá 151 – 160 dní. Posázaví patří do Středočeské vrchoviny, pro kterou jsou typická společenstva dubobukového stupně. Na přechodu k Polabí se vyskytuje stupeň bukodubový, na jihu a jihovýchodě stupeň jedlobukový a bukový (Plíva; Průša, 1969)

Selekce výběrových stromů byla provedena na celkem 11 oblastech dolního Posázaví, přičemž hlavní část selekce byla soustředěna do tří hlavních oblastí:

Jevanské údolí

Tato lokalita zaujímá bezprostřední okolí Jevanského potoka a spodní partie svahů až do výšky 30 – 40 m nad úrovní potoku v úseku mezi obcí Jevany a samotou Penčice, který je dlouhý přibližně 1200 m a představuje území o rozloze přibližně 40 ha v severní části Dolního Posázaví v oblasti ŠLP v Kostelci n.Č.l. Je předpokládáno, že jedinci selektovaní v této oblasti jsou součástí pozůstatků původní jevanské populace, která vznikla samovolným šířením smrku v době poledové. Místní porosty byly obnovovány buď přirozeným zmlazením, nebo výběrnou sečí a tedy genetická struktura populace nebyla pozměněna vnesením reprodukčního materiálu z jiných oblastí v rámci obnovy porostů.

Údolí čakovického potoka

Tato lokalita se nachází v západní části Dolního Posázaví v oblasti LZ Konopiště. Vybrané stromy pocházejí ze dvou populací: kamenické a hradečnické. Selektované stromy v této oblasti patřili v Posázaví k nejmohutnějším a vzhledem k věku porostů 140 – 230 let je můžeme považovat za původní.

Hodkovské údolí

Tato lokalita se nachází ve východní části Posázaví v blízkosti Zbraslavic v oblasti LZ Kácov. Porosty, ze kterých byli jedinci selektováni, tvoří souvislý porostní celek zaujímající 8,5 ha na východním svahu Hodkovského údolí. Selektované stromy byly soustředěny podél dvou úžlabin, odvádějících v době tání nebo silných dešťů vodu do Hodkovského potoka. Stáří porostů se v době selekce pohybovalo mezi 110 a 140 roky. Ze struktury porostů bylo možné odvodit, že vznikly z přirozeného zmlazení jediného souvislého homogenního porostu. Hodkovský smrk je možné téměř s jistotou také považovat za původní místní populaci.

Pokusná výsadba Skalice

Tato plocha byla založena v roce 1977 řadovou výsadbou 131 potomstev ve dvou opakováních. Potomstva pocházejí z přímého výsevu semen z roku 1973. Výměra plochy činí 1,41 ha. Nadmořská výška plochy výsadby je 405 m a je orientována jihovýchodním směrem se sklonem 3°. Geologický podklad tvoří permokarbonské arkozy, půda je hlinito-písčítá, stanovištní typ je *Luzuleto Quercetum luzuletosum pilosae*. Původní počet jedinců v rámci parcely je 17. V současné době tedy ve věku 30-ti let po založení se na ploše nachází 2063 jedinců.

Pokusná výsadba Moštice

Tato plocha byla založena v roce 1978 řadovou výsadbou 118 potomstev ve třech opakováních. Potomstva pocházejí z přímého výsevu semen z roku 1973. Výměra plochy činí 1,59 ha. Výsadby se nachází v nadmořské výšce 355 m s jižní expozicí a sklonem 4°. Geologický podklad tvoří diluviální hlíny, půda je vlhká, hlinito-písčítá, stanovištní typ je *Cariceto abietum*. Původní počet jedinců v rámci parcely je 16. V současné době tedy ve věku 30-ti let po založení se na ploše nachází 2077 jedinců.

Pokusná výsadba Lhotky

Tato plocha byla založena v roce 1975 řadovou výsadbou 133 potomstev vybraných jedinců z dolního Posázaví. Všechna potomstva jsou zastoupena ve třech opakováních. Potomstva pocházejí z přímého výsevu semen z roku 1972. Výměra plochy činí 2,1 ha. Plocha byla založena na rovném terénu v nadmořské výšce 370 m, geologický podklad je tvořen sprašovými hlínami, půda je hlinitá, uléhavá, stanovištní typ je *Luzuleto-pilosae Abietum*. Původní počet jedinců v rámci parcely je 15. V současné době tedy ve věku 30-ti let po založení se na ploše nachází 3170 jedinců (Žďárská, 1975; Žďárská, 1990).

Klonový archiv posázavského smrku – Truba

Klonový archiv se nachází v nejsevernější části Středočeské pahorkatiny v nadmořské výšce 360 – 370 m. Vegetační období v této oblasti trvá 166 dnů, průměrná roční teplota je zde 7,7°C a roční úhrn srážek je 682 mm. Archiv má celkovou výměru 2.15 ha a skládá se z 5 dílčích ploch. Každá tato dílčí plocha kromě plochy 5 je rozdělena do bloků. Jejich počet na každé ploše je určen velikostí plochy a původně plánovaným počtem klonů. Rozmístění ramet je koncipováno na stejném principu tak, jako by se jednalo o semenný sad. Tedy ramety stejného klonu jsou umístěny co možná nejdále od sebe. Důvodem pro takovéto rozmístění je požadavek, aby klonový archiv nesloužil pouze pro šlechtitelské účely, ale také jako demonstrační objekt. Výhodou je navíc zamezení vlivu heterogenity plochy na fenologické projevy klonů a v případě úhynu části výsadby z důvodu např. podmáčení části výsadby je možné snížit riziko uhynutí všech ramet daných klonů. Na plochách 1 a 2 jsou ramety rozmístěny ve sponu 3.5 x 3.5 m, na ploše 3 je spon 5 x 4 m a na ploše 4 je trojúhelníkový spon s délkou strany 3.4 m. V konečné fázi zakládání klonového archivu zde bylo zastoupeno 172 klonů (Žďárská, 1975).

5 Metody

Odhad šlechtitelských hodnot

Základním předpokladem smíšených modelů je, že data jsou lineárně závislá na nepozorovatelných vícekritériálních náhodných proměnných s normálním rozdělením. Předpokládejme, že máme k dispozici n pozorování y_1, \dots, y_n a tato pozorování chcete vysvětlit použitím n hodnot pro každou z p vysvětlujících proměnných $x_{11}, \dots, x_{1p}, x_{21}, \dots, x_{2p}, \dots, x_{n1}, \dots, x_{np}$. Hodnoty x_{ij} představují buď spojité proměnné regresního typu, nebo formální proměnné naznačující příslušnost určité třídě. Standardní lineární model je možné napsat jako:

$$y_i = \sum_{j=1}^p x_{ij} \beta_j + \varepsilon_i \quad i = 1, \dots, n$$

kde β_1, \dots, β_p jsou neznámé parametry fixních efektů, které mají být odhadnuty a $\varepsilon_1, \dots, \varepsilon_n$ jsou neznámá nezávislá rezidua vykazující normální rozdělení s průměrem 0 a rozptylem σ^2 . Předchozí rovnici je možné také napsat v maticovém tvaru jako:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1p} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2p} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \cdots & x_{np} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \vdots \\ \beta_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{bmatrix}$$

Pro zjednodušení je možné provést tento zápis:

$$y = \mathbf{X}\beta + \varepsilon$$

kde y je vektor pozorovaných hodnot, \mathbf{X} je indexová matice vyjadřující přítomnost nebo absenci konkrétního efektu, β je vektor neznámých parametrů fixních efektů a ε je vektor neznámých nezávislých reziduí.

Tyto modely mají ovšem velice omezené předpoklady o distribuci reziduí, které jsou v mnoha případech nepostačující. Smíšené modely představují jakousi nadstavbu obecných lineárních modelů definovaných výše. Umožňují vložení

náhodných proměnných, pomocí nichž je možné mnohem flexibilněji definovat kovarianční matici reziduí. Jinými slovy umožňují jak korelaci, tak heterogenitu rozptylu za předpokladu normality rozdělení.

Smíšené modely je možné definovat jako:

$$y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon$$

kde Z představuje matici designu a γ je vektor neznámých parametrů náhodných efektů. Matice Z stejně tak jako matice X může obsahovat buď spojité proměnné, nebo formální proměnné. V našem případě obsahuje formální proměnné 1 nebo 0 v závislosti na přítomnosti či absenci daného efektu. Smíšený model je takto nazývá z toho důvodu, že je schopen zahrnout jak fixní tak náhodné efekty. Klíčovým předpokladem je, že γ a ε jsou proměnné s normálním rozdělením charakterizované:

$$E \begin{bmatrix} \gamma \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \gamma \\ \varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G & 0 \\ 0 & R \end{bmatrix}$$

kde G je kovarianční matice pro vektor náhodných efektů γ a R je kovarianční matice pro vektor reziduí ε . Rozptyl hodnot vektoru y je potom možné vypočítat jako:

$$V = ZGZ^T + R.$$

První část pravé strany vzorce počítá příspěvek náhodných efektů do celkového rozptylu, zatímco druhá část představuje příspěvek reziduí. Rozptyl V je pak možné modelovat stanovením designové matice náhodných efektů Z a specifikováním kovariančních struktur pro G a R . Obecně se předpokládá konstantní rozptyl a nezávislost reziduálních chyb, takže matice R je diagonální maticí $R = \sigma_E^2 I$.

Odhady matic G a R nejsou tak jednoduché jako je tomu u obecných lineárních modelů. Zde totiž vedle vektoru fixních efektů β navíc neznáme vektor

náhodných efektů γ , proto není vhodné použít metodu nejmenších čtverců, ale zobecněnou metodu nejmenších čtverců „generalized least squares“ (GLS), kdy minimalizujeme:

$$(y - \mathbf{X}\beta)^T V^{-1} (y - \mathbf{X}\beta)$$

to ovšem předpokládá, že známe hodnotu V a tím také hodnoty matic \mathbf{G} a \mathbf{R} . Pokud tyto informace nemáme k dispozici je třeba použít odhadnuté GLS, do jehož výpočtu vložíme přiměřený odhad V . Cílem je najít odpovídající odhad \mathbf{G} a \mathbf{R} .

Ve většině případů je využito metod na základě maximální věrohodnosti, využívající předpokladu, že hodnoty vektorů γ a ε mají normální rozdělení. Velkou výhodou těchto metod je schopnost pracovat s nevyváženým datovým souborem, kdy některé hodnoty není možné získat např. v důsledku mortality. Maximalizující funkci použitou v těchto modelech je možné napsat jako:

$$l_R(\mathbf{G}, \mathbf{R}) = -\frac{1}{2} \log |\mathbf{V}| - \frac{1}{2} \log |\mathbf{X}^T \mathbf{V}^{-1} \mathbf{X}|$$

Odhady parametrů fixních a náhodných efektů jsou pak vypočítány z rovnice, která je v maticovém tvaru definována jako:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{X} & \mathbf{X}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{X} & \mathbf{Z}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{Z} + \hat{\mathbf{G}}^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\beta} \\ \hat{\gamma} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{y} \\ \mathbf{Z}^T \hat{\mathbf{R}}^{-1} \mathbf{y} \end{bmatrix}$$

po úpravě je možné tuto rovnici napsat jako:

$$\hat{\beta} = (\mathbf{X}^T \hat{\mathbf{V}}^{-1} \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \hat{\mathbf{V}}^{-1} \mathbf{y}$$

$$\hat{\gamma} = \hat{\mathbf{G}} \mathbf{Z}^T \hat{\mathbf{V}}^{-1} (\mathbf{y} - \mathbf{X} \hat{\beta})$$

Pokud matice \mathbf{G} a \mathbf{R} jsou známy, pak $\hat{\beta}$ je nejlepší lineární nestranný odhad (BLUE – *Best Linear Unbiased Estimator*) a $\hat{\gamma}$ je nejlepší lineární nestranná předpověď (BLUP – *Best Linear Unbiased Prediction*). Slovo „nejlepší“ zde znamená minimální průměrný čtverec reziduí.

Kovarianční matice mezi odhady a skutečnými hodnotami parametrů $(\hat{\beta} - \beta, \hat{\gamma} - \gamma)$ je definovaná jako:

$$C = \begin{bmatrix} X^T R^{-1} X & X^T R^{-1} Z \\ Z^T R^{-1} X & Z^T R^{-1} Z + G^{-1} \end{bmatrix}^{-1}$$

Matice G a R jsou ovšem většinou neznámé a jsou odhadnuty pomocí výše uvedených metod. Tyto odhady (\hat{G}, \hat{R}) jsou potom použity v předchozím výrazu k získání odhadu kovarianční matice C:

$$\hat{C} = \begin{bmatrix} X^T \hat{R}^{-1} X & X^T \hat{R}^{-1} Z \\ Z^T \hat{R}^{-1} X & Z^T \hat{R}^{-1} Z + \hat{G}^{-1} \end{bmatrix}^{-1}$$

Pro vyjádření vhodnosti modelu pro analyzovaný datový soubor je využívána statistika χ^2 . Tato statistika vždy srovnává dva kovarianční modely, které jsou si navzájem specificky odlišné. Algoritmus pak zpracuje každý model samostatně v rámci iterací a následně odečte odpovídající hodnoty $-2 \log$ likelihood získaných v každém modelu. REML počítá tuto hodnotu za účelem rozhodnutí, zda stávající parametry v modelu je třeba dále upravovat. Algoritmus upravuje model tak dlouho, dokud se nedostane na hraniční hodnoty kovariančních parametrů.

Šlechtitelské hodnoty jedinců jsou získány z vektoru náhodných efektů pomocí metody BLUP. Odhady šlechtitelských hodnot byly provedeny pomocí speciálního softwaru ASReml[®] (Gilmour et al., 2002), který je uživatelsky velice příjemný díky jednoduchému vložení rodokmenu a příp. dalších kovariančních struktur do modelu.

V rámci tohoto projektu byly měřeny dva znaky a to celková výška a průměr ve výčetní tloušťce, proto bylo třeba použít model pro hodnocení více znaků (Olsson; Ericsson, 2002). Je třeba předpokládat smíšený model s kovariančními členy:

$$y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon$$

kde:

$$y \rightarrow y' = [y_1', y_2', \dots, y_n'],$$

$$X = \bigotimes_{i=1}^n X_i,$$

$$b \rightarrow b' = [b_1', b_2', \dots, b_n'],$$

$$Z = \bigotimes_{i=1}^n Z_i,$$

$$u \rightarrow u' = [u_1', u_2', \dots, u_n'],$$

$$e \rightarrow e' = [e_1', e_2', \dots, e_n'].$$

$i = 1$ až n , kde n je počet znaků. Výpočet rozptylu je pak počítán jako:

$$\text{Var} \begin{bmatrix} u \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G \otimes I & 0 \\ 0 & R \otimes I \end{bmatrix}$$

kde $G = \{\sigma_{u_i u_j}\}$ je rozptyl/kovariance efektů rodičů, $R = \{\sigma_{e_i e_j}\}$ je rozptyl/kovariance reziduí. Tyto hodnoty byly vypočteny právě pomocí metody REML s využitím programu ASReml (Gilmour et al., 2002). Aditivní genetický rozptyl je pak počítán jako $\hat{\sigma}_{A_i}^2 = 4\hat{\sigma}_{u_i}^2$, pak A_{ip} je šlechtitelská hodnota rodičovského stromu p pro znak i . Fenotypový rozptyl je počítán jako $\hat{\sigma}_{p_i}^2 = 2\hat{\sigma}_{u_i}^2 + \hat{\sigma}_{e_i}^2$. Odhad rozptylu prostředí (zahrnující efekty neaditivních genetických účinků) je vypočten jako $\hat{\sigma}_{E_i}^2 = \hat{\sigma}_{p_i}^2 - \hat{\sigma}_{A_i}^2$. Obdobně jako rozptyly jsou vypočítávány kovariance jako $\hat{\sigma}_{A_1 A_2} = 4\hat{\sigma}_{u_1 u_2}$, $\hat{\sigma}_{P_1 P_2} = 2\hat{\sigma}_{u_1 u_2} + \hat{\sigma}_{e_1 e_2}$, $\hat{\sigma}_{E_1 E_2} = \hat{\sigma}_{P_1 P_2} - \hat{\sigma}_{A_1 A_2}$. Korelace aditivních genetických účinků by získány výpočtem:

$$\hat{r}_{A_{ij}} = \frac{\hat{\sigma}_{A_i A_j}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{A_i}^2 \hat{\sigma}_{A_j}^2}}.$$

Heritabilita v užším smyslu byla vypočtena jako $\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_A^2}{\hat{\sigma}_P^2}$.

Takto získané šlechtitelské hodnoty byly vloženy do selekčního indexu kombinujícího šlechtitelské hodnoty jednotlivých znaků s jejich ekonomickými vahami. Pro tento účel byl použit index vyvinutý Hazelem (1943):

$$H = w_1 A_1 + w_2 A_2 + \dots + w_i A_i$$

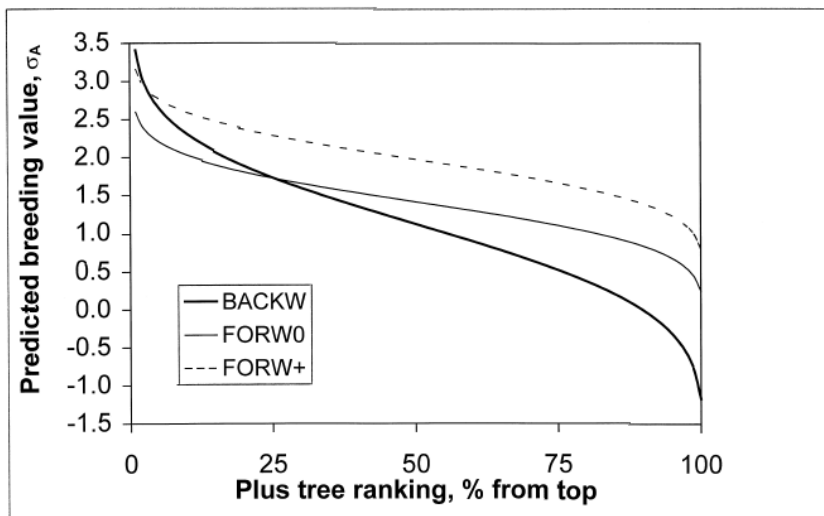
kde H je hodnota selekčního indexu, A je odhad šlechtitelské hodnoty pro jednotlivé znaky, w je ekonomická váha znaku, i je počet hodnocených znaků. V tomto případě je ekonomickou hodnotou podíl znaku na tvorbě celkového objemu. Rozptyl selekčního indexu byl pak počítán jako:

$$\text{Var}(H) = w_1^2 \sigma_{BV1}^2 + w_2^2 \sigma_{BV2}^2 + \dots + w_i^2 \sigma_{BVi}^2$$

Jelikož pracujeme s materiálem do určité míry již příbuzným, bylo třeba navrhnout metodu, která umožňuje selektovat i příbuzné jedince a zároveň optimalizovat genetické příspěvky selektovaných genotypů. Efektivita tohoto modelu byla porovnána s konzervativnějším postupem založeným na kombinaci vyvážené zpětné selekce a selekce v potomstvech.

Jako základní model byl vybrán model pojmenovaný jako BESBAF0 (Ruotsalainen; Lindgren, 1998), který je založen na kombinaci selekce rodičovských stromů a nejlepších jedinců v potomstvech. Z grafu č. 1 je patrné, že selekce rodičovských stromů je do určité hodnoty selekční intenzity efektivnější než selekce nejlepších jedinců v potomstvech. Tato výhoda se ovšem s rostoucí intenzitou klesá a výhodu získává naopak selekce v potomstvech. Proto je vhodné na základě testování selekčních intenzit najít bod, kde se tyto trendy mění. Po tomto bodu pak selektovat pouze rodičovské stromy a dále pak již nejlepší jedince z potomstev. Pro vlastní selekci je nutné potomstva uspořádat podle jejich průměrné hodnoty.

Graf č. 1: průměrná šlechtitelská hodnota získaná zpětnou selekcí a selekcí v potomstvech



zdroj: Routsalainen, 1998

Metoda je postavena na odhadu odezvy na selekci za různých selekčních intenzit podle vzorečku:

$$R_s = i\sigma_p h^2 \frac{nr}{\sqrt{n(1+(n-1)t)}}$$

kde i je selekční intenzita rodičů, n je velikost potomstev, r je korelační koeficient mezi šlechtitelskými hodnotami a t je korelační koeficient mezi fenotypovými hodnotami. Následně byl vypočítán odhad genetického zisku jako:

$$G_2 = 2R_s \sqrt{1 - \frac{1}{m}}$$

kde m je počet rodičovských stromů. Stejně tak je možné vypočítat genetický zisk v případě selekce nejlepších jedinců v potomstvech jako:

$$G_3 = \frac{G_1}{2} + R_f + R_w$$

kde:

$$G_1 = ih^2\sigma_p$$

i – selekční intenzita

h^2 – heritabilita v užším smyslu

σ_p – směrodatná odchylka fenotypových hodnot

$$R_f = i_1 \frac{\left(\sqrt{1 - \frac{1}{m}} \right) \left(\frac{1,5}{n} + 0,5 \right)}{\sqrt{1 + \left(\frac{4}{h^2} - 1 \right) / n}}$$

kde i_1 je selekční intenzita mezi potomstvy

$$R_w = i_2 0,75 \sqrt{\frac{\left(1 - \frac{1}{n} \right)}{\left(\frac{1}{h^2} - 0,25 \right)}}$$

kde i_2 je intenzitě selekce nejlepších jedinců v rámci potomstev. Pro tuto selekci byl použit software GAINPRED_ADVANCED2002 pracující v rozhraní MS Excel, který vyvinul prof. Lindgren ve Švédsku a je volně dostupný na webové stránce: http://www-genfys.slu.se/staff/daql/Breed_Home_Page/.

V případě smrku ztepilého většina semenných sadů je založena jako semenné sady klonové, proto je třeba vyselektované jedince naklonovat ve vhodných proporcích. K tomuto účelu byla zvolena metoda „Linear Deployment“ vyvinutá prof. Lindgrenem, která při návrhu počtu ramet jednotlivých klonů zohledňuje jejich šlechtitelskou hodnotu. Metoda je postavena na modelu, který lze napsat jako:

$$G = \sum p_i g_i - c \sum p_i^2$$

kde G je očekávaný genetická hodnota osiva ze semenného sadu, g_i je odhad šlechtitelské hodnoty i -tého jedince, c je penalizující konstanta, která určuje

váhu kladenou na genetickou diverzitu a p_i je proporce i-tého klonu za podmínek:

$$0 \leq p_i \leq 1 \quad \text{a} \quad \sum p_i = 1$$

K dosažení maximální hodnoty G , tedy maxima očekávané genetické hodnoty osiva ze semenného sadu, je třeba vyřešit parciální derivaci $\frac{\partial G}{\partial p_i}$ a optimální

příspěvek i-tého klonu p_i je pak možné získat za podmínky $\frac{\partial G}{\partial p_i} = 0$ výpočtem:

$$p_i = \frac{g_i - g_k}{2c} + p_k$$

kde p_k je genetický příspěvek k-tého klonu, g_i a g_k jsou odhady šlechtitelských hodnot i-tého a k-tého klonu. Z tohoto výpočtu je patrné, že velikost genetického příspěvku i-tého klonu p_i je lineárně závislá na velikosti jeho šlechtitelské hodnoty g_i . Šlechtitelská hodnota g_0 odpovídající nulovému genetickému příspěvku patří poslednímu jedinci selektovanému v rámci vyvážené kombinované selekce. Efektivní velikost populace je pak získána na základě výpočtu:

$$N_e = \frac{\left[\sum_i p_i \right]^2}{\sum_i p_i^2}$$

kde p_i je genetický příspěvek i-tého klonu. Jako nástroj pro výpočet optimálního genetického příspěvku tedy počtu ramet v semenném sadu na základě konceptu „Linear Deployment“ byl použit software LINEAR_DEPLOYMENT2006 pracující v rozhraní MS Excel a je volně dostupný na webové stránce: http://www-genfys.slu.se/staff/dagl/Breed_Home_Page/.

Jako alternativa byl použit postup, který vhodně kombinuje selekci na bázi „Group Merit Selection“ s následným optimálním využitím selektovaných jedinců na základě „Linear Deployment“, který navíc umožňuje využití příbuzných jedinců, což původní algoritmus nedovoluje. Model je postaven na řešení konvexního kvadratického problému ve tvaru:

$$\min \frac{1}{2}x^T Q^0 x + c^T x + c^f$$

kde c jsou lineární členy optimalizačního problému, Q je pozitivně semi-definitní matice, což je předpokladem řešení konvexního optimalizačního problému. V našem případě je třeba, aby matice příbuznosti tuto podmínku splňovala (důkaz je prezentován v připravovaném článku Funda et al. viz příloha č. 3). Množina řešení je pak definována omezujícími podmínkami:

$$l_k^c \leq \frac{1}{2}x^T Q^k x + \sum_{j=0}^{n-1} a_{kj}x_j \leq u_k^c \quad k = 0, \dots, m-1, j = 0, \dots, n-1$$

$$l^x \leq x \leq u^x$$

kde:

l^c - specifikuje spodní hranici omezující podmínky

u^c – specifikuje horní hranici omezující podmínky

l^x – specifikuje spodní hranici proměnné

u^x – specifikuje horní hranici proměnné

V našem případě tuto obecnou specifikaci kvadratické optimalizace je možné převést na objektivní funkci definovanou jako:

$$\max \sum_{A=1}^N X_A p_A$$

kde X_A je šlechtitelská hodnota, p_A optimální zastoupení jedince v produkční populaci (semenném sadu), N počet jedinců v rodokmenu. Tato objektivní

funkce je optimalizována v rámci množiny řešení určené omezujícími podmínkami:

$$\sum_{A=1}^N \sum_{B=1}^N C_{A,B} p_A p_B \leq \frac{1}{2N_{e,\min}}$$

kde $C_{A,B}$ je koeficient příbuznosti mezi jedinci A a B, $N_{e,\min}$ je minimální požadovaná efektivní velikost populace, p_A a p_B představují optimální zastoupení jedinců, které jsou omezeny podmínkami:

$$0 \leq p_A \leq 1 \quad \text{a} \quad \sum_{A=1}^N p_A = 1.$$

Jelikož uvažujeme již určitý stupeň příbuznosti mezi selektovanými jedinci, je třeba upravit objektivní funkci o koeficient inbreedingové deprese. Vložení tohoto koeficientu do algoritmu pokryjeme důsledky příbuzenského křížení, jehož výsledkem mohou být hluchá semena představující produkční ztráty semenného sadu příp. snížená vitalita semenáčků pocházejících z inbredního osiva. Výsledná objektivní funkce je pak definovaná jako:

$$\max \sum_{A=1}^N [X_A p_A - \sum_{B=1}^N D_{A,B} p_A p_B X_A]$$

kde $D_{A,B}$ je koeficient inbreedingové deprese jehož hodnota závisí na příbuzenském vztahu mezi jedinci A a B.

Dalším hodnoceným hlediskem při odhadu genetického zisku je jeho rozptyl, tedy kritérium vypovídající jak daleko je možné se odchýlit od predikované hodnoty. Z tohoto důvodu byly šlechtitelské hodnoty modifikovány do tvaru:

$$SC = X - cSE(X)$$

kde SC je modifikovaná šlechtitelská hodnota jako selekční kritérium, X je šlechtitelská hodnota, SE je její rozptyl a c je konstanta penalizující šlechtitelskou hodnotu její chybou a je omezena v intervalu:

$$0 \leq c < \infty$$

Hodnota konstanty c určuje váhu kladenou na velikost rozptylu kolem predikovaného odhadu genetického zisku, tzn. jak dalece se může lišit realizovaný genetický zisk od zisku odhadovaného. Objektivní funkce je v tomto případě modifikována do tvaru:

$$\max \sum_{A=1}^N k_A c SE(X_A) \bar{p}_A$$

respektive:

$$\max \sum_{A=1}^N SC_A p_A$$

Objektivní funkce je opět ohraničena omezujícími podmínkami totožnými s předchozími modely. Výsledné příspěvky získané z tohoto modelu byly přiřazeny originálním hodnotám s cílem vypočítat průměrnou šlechtitelskou hodnotu a její rozptyl, který je počítán jako:

$$\text{Var}\left(\sum_{A=1}^N X_A p_A\right) = \sum_{A=1}^N \text{Var}(X_A) p_A^2 + 2 \sum_{A=1}^{N-1} \sum_{B=A+1}^N \text{Cov}(X_A, X_B) p_A p_B$$

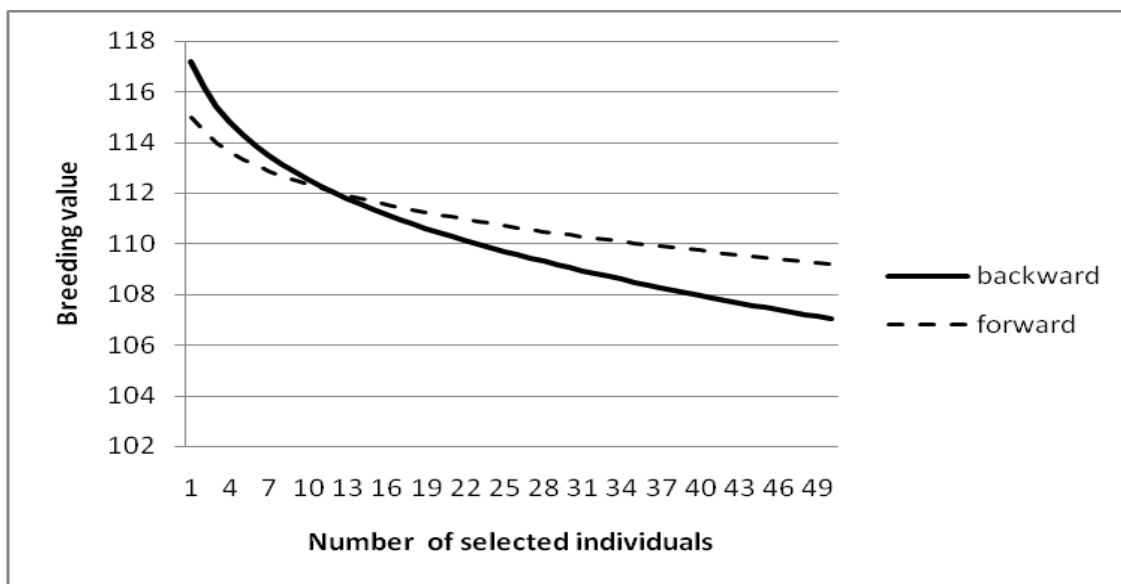
kde $\text{Var}(X_A)$ je rozptyl odhadu šlechtitelské hodnoty a $\text{Cov}(X_A, X_B)$ je kovariance mezi příbuznými jedinci (Falconer; Mackay, 1996).

6 Výsledky

Ověřovací výsadby Skalice, Moštice a Lhotky byly předem vybrány pro fenotypová měření a následné statistické vyhodnocení. Hodnocenými znaky byly celková výška, průměr kmene ve výčetní výšce a tvárnost kmene. Na základě statistické vyhodnocení pomocí metody REML – BLUP byly odhadnuty šlechtitelské hodnoty a jejich střední chyby odhadu. Dále byly vypočítány ekonomické váhy jednotlivých znaků tak, aby vyjádřily podíl na celkové objemové produkci. Váhy byly stanoveny 0,36 pro tloušťku a 0,64 pro výšku. Z těchto hodnot byly pak sestaveny selekční indexy jak pro vlastní šlechtitelské hodnoty, tak pro fenotypové. Z těchto hodnot byly získány fenotypové a aditivní genetické rozptyly, na jejichž základě byla stanovena heritabilita v užším smyslu. Takto vytvořené indexy byly standardizovány do normálního rozdělení s průměrem 100 a rozptylem 1. Heritabilita vypočtená z původních hodnot dosáhla hodnoty 15 %.

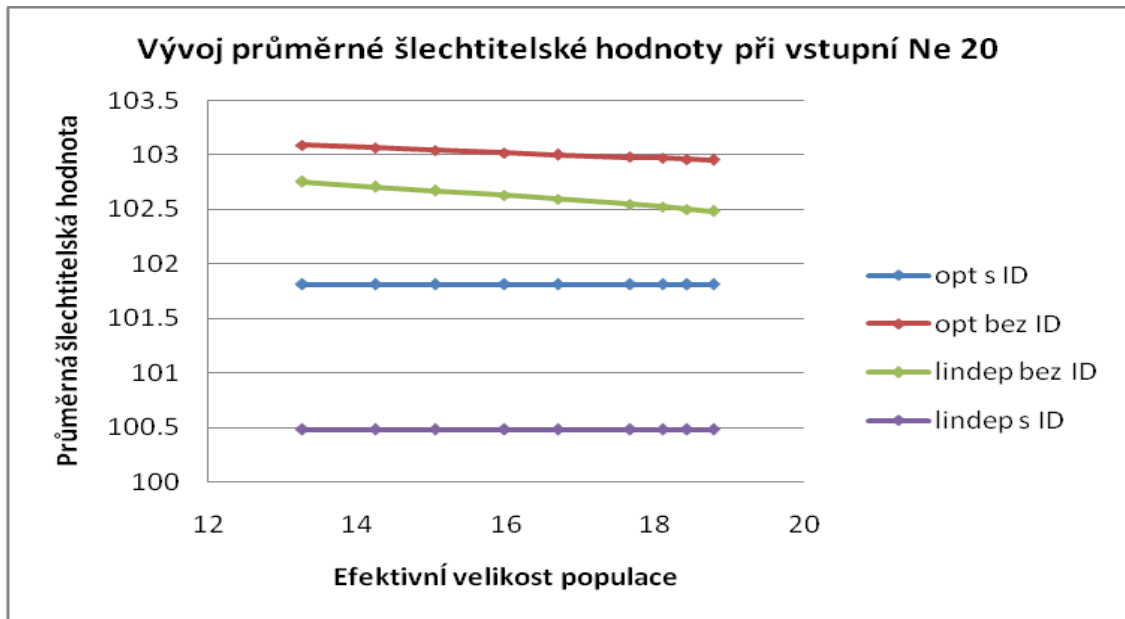
Tyto hodnoty (aditivní genetický rozptyl, fenotypový rozptyl, heritabilita) byly použity jako vstupní data pro stanovení počtu selektovaných rodičů, případně nejlepších jedinců v potomstvech v rámci vyvážené selekce. Ta byla stanovena na základě nejlepšího selekčního scénáře, který byl určen na základě výsledků selekčních scénářů s různými selekčními intenzitami. K tomuto účelu byl využit software GAINPRED_ADVANCED2002. Na základě testování různých selekčních intenzit bylo zjištěno jako nejlepší řešení selekce 11 rodičů a zbytek jedinců byl selektován již v potomstvech viz. graf. 1 a příloha č. 3. Hodnocená potomstva byla uspořádána podle svých průměrných hodnot a u nejlepších 11 potomstev byli vybráni rodiče a u dalších pak nejlepší jedinci. Následně byl vypočítán optimální počet ramet vyselektovaných klonů do semenného sadu pomocí „Linear deployment“ metody.

Graf 1: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty na základě selekce rodičovských stromů ve srovnání se selekcí nejlepších jedinců v potomstvech



Takto vyselektovaní jedinci byli vloženi do programu stanovujícího jejich optimální zastoupení v semenných sadech LINEAR_DEPLOYMENT-2006, který byl vyvinut prof. Lindgrenem ve Švédsku. Pro tento postup byly selektovány dvě populace o efektivních velikostech 20 a 40. Princip programu je založen na návrhu zastoupení genotypů přímoúměrných jejich šlechtitelským hodnotám, přičemž průběh přímé úměrnosti je závislý na minimální požadované šlechtitelské hodnotě v selektovaném souboru jedinců. Jako alternativní postup jsme zvolili program založený na kvadratické optimalizaci. Tento program poskytl naprosto totožné výstupy jako program předchozí a z toho důvodu mohl být kompletně nahrazen optimalizačním programem. Výhodou optimalizačního programu je možnost selektovat i příbuzné jedince, pro které navrhuje jejich optimální zastoupení.

Graf 2: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty v modelech bez inbreedingové deprese a s inbreedingovou depresí při vstupní hodnotě efektivní velikosti populace 20



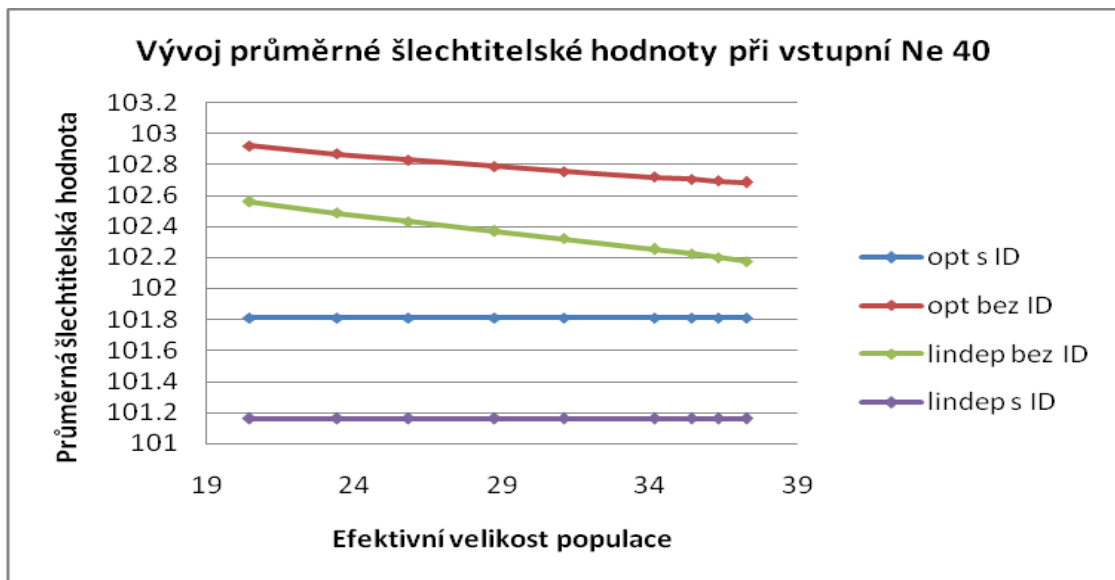
Celkově byly srovnány čtyři modely:

- 1) vyvážená selekce nepříbuzných jedinců v rámci generací potomstev a rodičovských stromů s následným návrhem zastoupení selektovaných jedinců pomocí konceptu „Linear deployment“
- 2) optimalizace zastřešující selekci na bázi „Group merit selection“ tedy umožňující selekci příbuzných jedinců s následným návrhem zastoupení jedinců pomocí konceptu „Linear deployment“
- 3) stejný jako model 1, který navíc zahrnuje efekt inbreedingové deprese
- 4) stejný jako model 2, který navíc zahrnuje efekt inbreedingové deprese.

Z výsledků je patrná jasná výhoda optimalizace využívající kompletního rodokmenu nad vyváženou selekcí využívající z každého selektovaného potomstva buď nejlepšího jedince z potomstva nebo rodiče. Tento trend platí jak pro model bez inbreedingové deprese tak i pro model který ji zvažuje. Výsledky jsou udány jako průměr selektované skupiny vycházející z normálního rozdělení s průměrem 100 a rozptylem 1, je proto možné po odečtení celkového průměru (tedy 100) od průměru selektované skupiny získat selekční diferenciál.

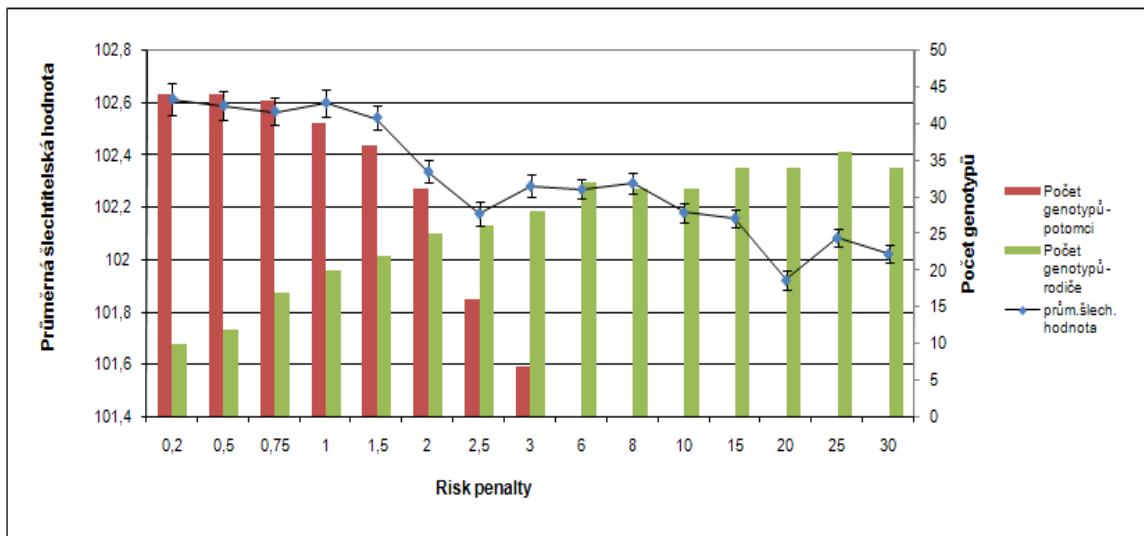
Z grafů č. 2 a č.3 je možné odečíst příslušné průměrné hodnoty skupin genotypů selektovaných jednotlivými postupy. Pro vstupní efektivní velikost populace 20 dosahuje průměr selektované skupiny od 102,75 do 102,48 v případě vyvážené selekce a od 103,09 do 102,95 pro selekci využívající kompletního rodokmenu. V případě modelů zvažujících inbreedingovou depresi se průměr selektované skupiny v závislosti na změně efektivní velikosti populace nemění a dosahují 100,48 v případě vyvážené selekce a 101,81 v případě selekce využívající kompletního rodokmenu.

Graf 3: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty v modelech bez inbreedingové deprese a s inbreedingovou depresí při vstupní hodnotě efektivní velikosti populace 40



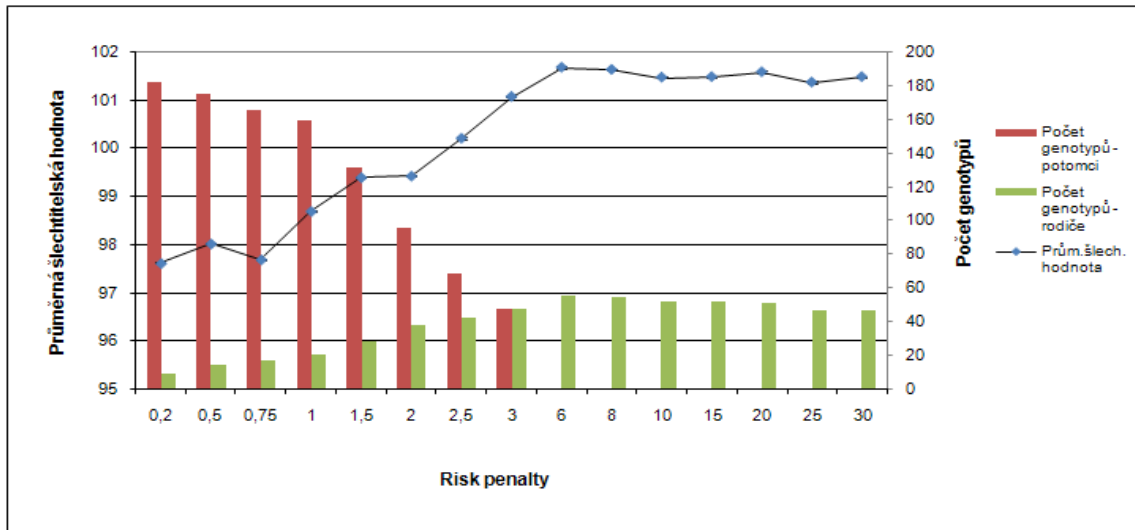
V případě scénářů se vstupní efektivní velikostí populace 40 dosahuje průměr selektované skupiny od 102,56 do 102,18 v případě vyvážené selekce a od 102,92 do 102,68 pro selekci využívající kompletního rodokmenu. V případě modelů zvažujících inbreedingovou depresi se průměr selektované skupiny v závislosti na změně efektivní velikosti populace nemění a dosahují 101,15 v případě vyvážené selekce a 101,81 v případě selekce využívající kompletního rodokmenu.

Graf 4: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty a zastoupení rodičů respektive potomků mezi selektovanými genotypy v modelech hodnotících riziko selekce vzhledem k chybám odhadů šlechtitelských hodnot při efektivní velikosti populace 20



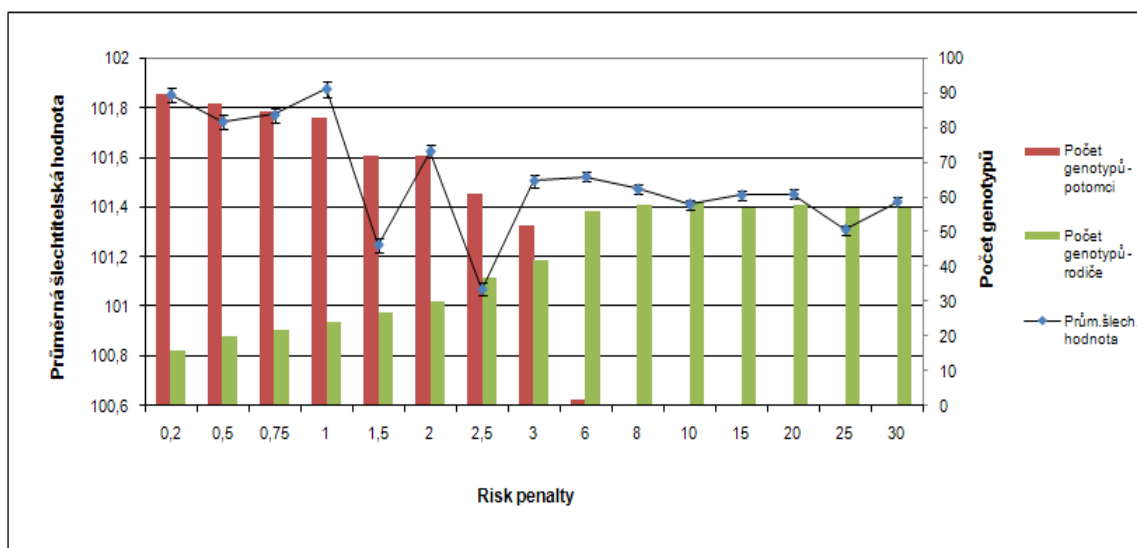
Dalším hlediskem, které bylo hodnoceno v selekčních postupech byla chyba odhadu šlechtitelských hodnot. Podle postupu popsaném v metodice byl hodnocen opět průměr selektované skupiny a navíc konfidenční interval daného průměru a vývoj počtu selektovaných genotypů a jejich rozdělení mezi potomky a rodiče. Z grafu č.4 je možné odečíst průměr selektované skupiny pro model nezahrnující inbreedingovou depresi s efektivní velikostí populace 20 mezi 102,02 a 102,61 se směrodatnou odchylkou od 0,1 do 0,22, která slouží jako základ pro výpočet konfidenčního intervalu, v závislosti na velikosti „risk penalty“. Hodnota „risk penalty“ se pohybuje od 0,2 do 30. Jelikož výstup programu je ve formě procentuálního zastoupení jednotlivých genotypů, pro prezentaci v grafech jsem tuto procentuální zastoupení převedl do případové studie se 400 jedinci na hektar semenného sadu, tedy pro spon 5 x 5 m. Celkový počet genotypů pro tento model se pohyboval v rozmezí 60 a 31 genotypů, přičemž počet rodičovských jedinců stoupal se stoupající hodnotou „risk penalty“ od 10 do 36. Naopak počet jedinců z potomstev se stoupající hodnotou „risk penalty“ klesal a to ze 44 na 0.

Graf 5: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty a zastoupení rodičů respektive potomků mezi selektovanými genotypy v modelech hodnotících riziko selekce vzhledem k chybám odhadů šlechtitelských hodnot a zároveň zohledňuje efekt inbreedingové deprese při efektivní velikosti populace 20



Graf č. 5 prezentuje výsledky pro model s efektivní velikostí populace 20 navíc zahrnující efekt inbreedingové deprese. V tomto případě se průměr selektované skupiny pohybuje mezi 97,62 a 101,67 a příslušné směrodatné odchylky mezi 0,076 a 0,097. Celkový počet selektovaných genotypů se pohybuje v rozmezí 192 a 47. Z tohoto počtu se zastoupení rodičovských jedinců pohybuje od 10 do 56 a počet jedinců z potomstev od 182 do 0 opět v závislosti na hodnotě „risk penalty“.

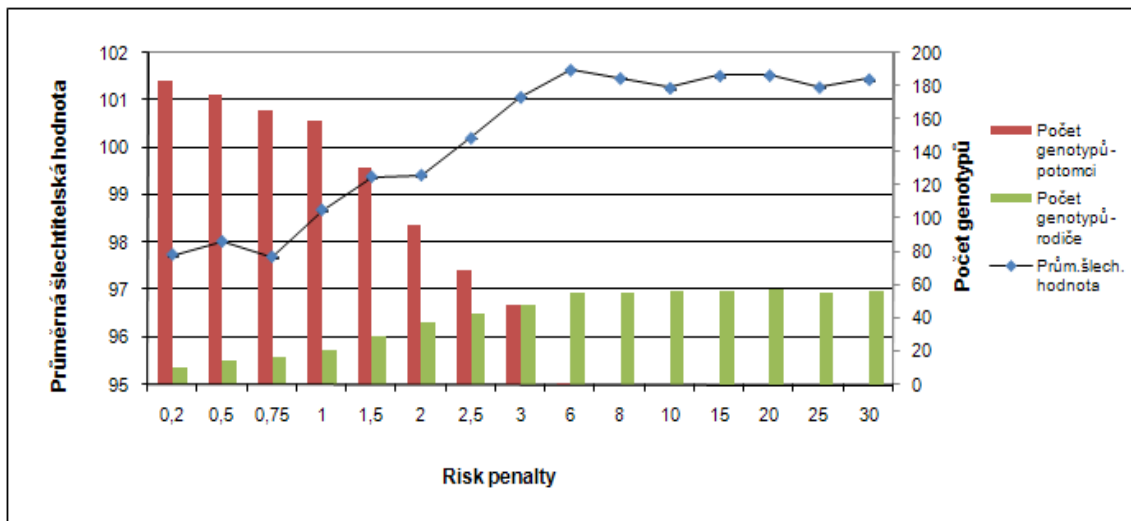
Graf 6: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty a zastoupení rodičů respektive potomků mezi selektovanými genotypy v modelech hodnotících riziko selekce vzhledem k chybám odhadů šlechtitelských hodnot při efektivní velikosti populace 40



Graf č. 6 prezentuje výsledky pro stejnou situaci jako graf č.4 ovšem efektivní velikost selektované populace dosahuje hodnoty 40. V tomto případě se průměr selektované skupiny pohybuje mezi 101,07 a 101,85 a příslušné směrodatné odchylky mezi 0,0726 a 0,1644. Celkový počet selektovaných genotypů se pohybuje v rozmezí 107 a 57. Z tohoto počtu se zastoupení rodičovských jedinců pohybuje od 16 do 59 a počet jedinců z potomstev od 90 do 0 opět v závislosti na hodnotě „risk penalty“.

Graf č. 7 prezentuje výsledky pro model s efektivní velikostí populace 40 navíc zahrnující efekt inbreedingové deprese. V tomto případě se průměr selektované skupiny pohybuje mezi 97,74 a 101,45 a příslušné směrodatné odchylky mezi 0,073 a 0,097. Celkový počet selektovaných genotypů se pohybuje v rozmezí 193 a 56. Z tohoto počtu se zastoupení rodičovských jedinců pohybuje od 10 do 58 a počet jedinců z potomstev od 183 do 0 opět v závislosti na hodnotě „risk penalty“.

Graf 7: Vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty a zastoupení rodičů respektive potomků mezi selektovanými genotypy v modelech hodnotících riziko selekce vzhledem k chybám odhadů šlechtitelských hodnot a zároveň zohledňuje efekt inbreedingové deprese při efektivní velikosti populace 40



7 Diskuze

Šlechtitelské programy s lesními dřevinami jsou založeny na opakujících se šlechtitelských cyklech složených ze selekce jedinců vhodných jako rodiče generace následující, jejich vzájemného křížení a následného testování jejich potomstev v polních ověřovacích výsadbách případně v laboratorních podmínkách. Jako nejefektivnější selekcí se v současné době zdá být selekce indexová. Tato selekce je prováděna pomocí selekčních indexů jako selekčních kritérií, které jsou založeny na kombinaci hodnot průměrů potomstev a hodnot samotných jedinců. Těmto hodnotám jsou přiřazeny určité váhy, jejichž velikost určuje důraz kladený jednotlivých faktorům. Metoda REML – BLUP je dnes nejpoužívanější metodou pro odhad šlechtitelských hodnot, které představují nejlepší lineární odhad selekčního indexu.

Dalším zpřesněním selekce pomocí selekčních indexů je tvorba vícekritériálních selekčních indexů, které kombinují indexy jednotlivých hodnocených znaků do jediného selekčního kritéria, přičemž každému znaku je přiřazena jeho ekonomická váha. Zde je ovšem problém s tvorbou ekonomických vah, jelikož je velice obtížné předpovídat vývoj trendů a preferencí v pilařském resp. dřevozpracujícím průmyslu v rozmezí doby obměty tedy zhruba kolem 100 let. V našem případě jsme využili čistě produkčních vah, tedy jakým poměrem se jednotlivé znaky (celková výška a průměr kmene ve výčetní výšce) podílejí na celkové objemové produkci. Tento postup je sice vhodný spíše pro rychle rostoucí dřeviny určené k tvorbě biomasy nicméně tvorba ekonomických vah pro selekční indexy je velice komplikovaným problémem a je to téma samostatné dizertační práce kolegy ve Švédsku (pers. comm. Mats Berlin). Efektivitu selekce pomocí vícekritériálních selekčních indexů do značné míry ovlivňují i genetické korelace mezi hodnocenými znaky. Slabé nebo negativní korelace vedou k podstatnému snížení genetického zisku. V našem případě oba selektované znaky (celková výška a průměr ve výčetní výšce) jsou vysoce korelované. Koeficient korelace aditivních genetických účinků je v našem případě 0,82, což mělo pouze nepatrný vliv na redukci genetického zisku. Kvalitativní znak, kterým byl v našem případě přímot

kmene, byl řešen metodou prahové hodnoty, kdy jedinci hodnocení hůře než číslem 2 ze čtyřbodové stupnice byly vyloučeny v rámci předselekce a do hlavní selekce se již nevkládali.

Dlouhodobé šlechtitelské programy s lesními dřevinami jsou v současné době prováděny převážně na základě vyvážených selekčních postupů s cílem udržovat maximální genetickou diverzitu v selektovaných populacích. Ta má sloužit jako jeden z potencionálních zdrojů genetického zisku v dalších generacích selekce (Namkoong, 1988). Mnoha studiemi je však již dokázáno, že určitý stupeň nevyváženosti v selekčních postupech generuje dodatečný genetický zisk. V současné době již existuje několik konceptů jak optimalizovat nevyváženou selekci tak, abychom dosáhli kompromisu mezi genetickým ziskem a genetickou diverzitou. Mezi takové koncepty je možné zařadit „Group Merit Selection“ (Lindgren; Mullin, 1997), „Linear deployment“ (Lindgren, 1986) příp. „Integer linear programming“ (Andersson et al., 1999). Tyto koncepty sami o sobě však neposkytují komplexní řešení, ale představují pouhé nástroje, které usnadní šlechtiteli rozhodnutí o vlastní selekci. Hlavní odpovědnost za efektivitu šlechtitelského programu nese tedy šlechtitel a jeho kompetentnost provést kvalifikované rozhodnutí (Lindgren, 2005).

V mnoha případech vyvážené selekce představují nadměrné plýtvání finančními prostředky a to hlavně v podobě rozsáhlých testů potomstev. Dochází přitom k selekci pouze v rámci potomstev nikoliv k selekci mezi potomstvy. Ověřovací testy pak zahrnují i jedince z méně kvalitních potomstev, kteří by nemuseli být vůbec testováni, přičemž důraz by měl být kladen hlavně na nejlepší jedince z nejkvalitnějších potomstev případně rodičovské stromy (Ruotsalainen, 1998). Nevyváženost zastoupení selektovaných jednotek (potomstvo, genotyp) vedoucí k vyšším genetickým ziskům oproti klasické vyvážené selekci je vždy založena na hodnotě průměru potomstva případně selekčního indexu genotypu.

Této efektivity nevyváženého zastoupení testovaného materiálu je možné dosáhnout pouze v pokročilých generacích šlechtitelských programů, kdy již máme dostupné informace z ověřovacích výsadeb v podobě odhadů

šlechtitelských hodnot a je možné tyto parametry využít jako kritérium pro nevyváženou selekci pomocí konceptu „Linear deploymentu“. Lindgren a Matheson (1986) odhadli dodatečný genetický zisk osiva ze semenného sadu borovice lesní ve Švédsku generovaného díky nevyváženému zastoupení selektovaných genotypů v závislosti na jejich šlechtitelské hodnotě kolem 4.5% oproti genetickému zisku v semenném sadu s rovnoměrným zastoupením selektovaných jedinců. Výsledky těchto studií jsou ovšem pouze teoretické a nezahrnují biologické aspekty v podobě fenologie rašení příp. disproporce mezi přítomností samčích a samičích gamet v době kvetení a jejich proměnlivost v jednotlivých letech. Tyto aspekty mohou celkový efekt „Linear deploymentu“ zastřít a dodatečný genetický zisk tak bude zanedbatelný nebo vůbec žádný. Jako vhodné řešení se nabízí selektivní sběr osiva v semenném sadu s následnou genetickou analýzou smíšeného vzorku. Na jeho základě je možné vytvořit optimální skladbu osiva vzhledem k jeho genetické hodnotě a genetické diverzitě (Funda et al., článek umístěn mezi přílohami). Jedním z dalších problémů tohoto konceptu je předpoklad nepříbuznosti selektovaných jedinců. To snižuje celkový potenciál tvorby genetického zisku z důvodu využití pouze části aditivního genetického rozptylu. Předpoklad nepříbuznosti pak může způsobit problémy v pokročilých generacích šlechtitelských programů, kde se příbuznost mezi šlechtěnými jedinci zvyšuje.

Dalším zdrojem dodatečného genetického zisku je selekce příbuzných jedinců, což je případ „Group Merit Selection“. Zde je třeba mít šlechtitelskou populaci zmapovanou rodokmenem již od počáteční fáze šlechtitelského programu. Výhodou selekce příbuzných jedinců je skutečnost, že je založena na základě hodnocení kumulovaného selekčního kritéria selektované skupiny namísto individuálního hodnocení samotných jedinců a navíc zvažuje genetickou příbuznost mezi selektovanými jedinci. Princip je založen na hledání kompromisu mezi genetickým ziskem a genetickou diverzitou. Chovatelé skotu v těchto případech často využívají inbreedingových koeficientů k vyjádření genetické diverzity (Wray; Goddard, 1994) zatímco v případě šlechtění lesních dřevin je genetická diverzita mnohem častěji vyjadřována pomocí „Status number“ (Lindgren, 1996), který představuje jednu z forem vyjádření efektivní

velikosti populace, je pro selekční postupy lépe uchopitelným kritériem. Studie prezentující tento selekční postup ukazují jasnou výhodu selekce využívající rodokmenu nad selekcí vyváženou, tedy selekci stejného počtu potomků z každého potomstva (Lindgren; Mullin, 1997) a efektivita této selekce stoupá se stoupající komplexností rodokmenu (Zheng et al., 1997). Algoritmus použitý v selekci pomocí „Group merit selection“ je založen na penalizaci šlechtitelských hodnot jedinců koeficienty příbuznosti mezi selektovanými jedinci. Tyto koeficienty jsou přenásobeny penaltou zohledňující faktory jako konzervace neutrálních alel, počet šlechtitelských generací, velikost populace, efekt inbreedingové deprese (Lindgren; Mullin, 1997). Cílem je vytvořit kompromis mezi dlouhodobým genetickým ziskem a genetickou diverzitou (Rosvall, 1999). Tento algoritmu má ovšem značné rezervy ve své efektivnosti. Předpokládá totiž stejné zastoupení selektovaných jedinců v selektované populaci. To znamená, že každý selektovaný genotyp bude zastoupen v semenném sadu stejným počtem ramet.

V našem případě jsme oba výše uvedené efekty („Linear deployment“ a „Group merit selection“) zkombinovali v jednom kroku a získali tak optimální zastoupení selektovaných genotypů nejen vzhledem k jejich šlechtitelské hodnotě, ale také v závislosti na míře příbuznosti mezi selektovanými jedinci. Jelikož efekt konceptu „Linear deployment“ je všeobecně znám, jako standardní model byla vybrána právě selekce nejlepších jedinců z nejlepších potomstev a to buď rodičovské stromy nebo nejlepší jedince z potomstev v závislosti na výsledku experimentu se selekční intenzitou (Ruotsalainen; Lindgren, 1998). Takto vysektovaný soubor jedinců byl podroben „Linear deploymentu“ za účelem získání optimálního zastoupení selektovaných jedinců v semenném sadu. Tento základní model v grafech označený jako „lindep“ byl porovnáván se selekcí založené na bázi kvadratické optimalizace využívající kompletního rodokmenu testované populace. Tento alternativní model je v grafech označen jako „opt“. Z grafů č. 2 a č. 3 je patrná větší efektivnost optimalizace nad vyváženou selekcí po celé oblasti testování, přičemž efekt optimalizace se s přibývajícím efektivní velikosti populace zvyšuje. Toto je způsobeno intenzivnějším vyčerpáním potenciálu tvorby genetického zisku v případě

vyvážené selekce, která využívá jen část celkového aditivního genetického rozptylu oproti selekci pomocí optimalizace využívající kompletního rodokmenu. Na druhou stranu efektivita optimalizace je vykoupena větším počtem genotypů zahrnutých do selektované populace, což může mít za následek provozní problémy s manipulací a evidencí jednotlivých klonů. Z grafu č. 4 je možné sledovat vývoj počtu selektovaných jedinců pro efektivní velikost populace 20, kdy počty jedinců dosahují až 60 oproti 20 jedincům selektovaným ve vyvážené selekci.

Výhodou optimalizačního postupu použitého v tomto projektu je oproti všem srovnávaným postupům jeho deterministický charakter, tedy možnost ovlivňovat citlivost vzhledem ke skutečnému optimu, zatímco všechny ostatní postupy jsou založeny na bázi heuristického algoritmu, kdy není možné získat představu o tom, jak daleko jsme od skutečného optima. Kvadratická optimalizace byla již s úspěchem použita v chovu zvířat k určení optimálních genetických příspěvků pro návrh křížení (Villanueva et al., 2006), ovšem v případě šlechtění lesních dřevin tomu tak zatím nebylo.

Pokud je do selektované skupiny vnášena příbuznost je třeba při selekci jedinců zohlednit efekt inbreedingové deprese. Inbreedingová deprese v případě smrku ztepilého může vyústit ve sníženou produkci osiva, příp. ve sníženou vitalitu semenáčků, což jsou samozřejmě nežádoucí efekty (Skrøppa, 1996). V našem případě byly efekty inbreedingové deprese řešeny vložením kvadratického členu v podobě matice koeficientů inbreedingové deprese odrážejících stupeň příbuznosti mezi selektovanými jedinci. Koeficienty byly odečteny z výsledků výzkumu sledující efekt selfingu (Skrøppa, 1996). Pro selfing byl stanoven koeficient inbreedingové deprese 0,37 pro vztah rodič – potomek 0,19 a pro vztah mezi sourozenci v rámci polosesterského potomstva 0,08. Tyto koeficienty jsou pouze výsledkem konkrétní studie a jsou do určité míry ovlivněny jednak stavem genetické konstituce hodnocených potomstev vzhledem k počtu recesivních alel jak na úrovni potomstev tak i na úrovni jedinců a jednak stářím hodnoceného materiálu. I přesto toto odvození považuji za postačující jako kritérium pro zahrnutí efektu inbreedingové deprese do selekčního modelu. V grafech č. 2 a č. 3 je opět patrná vyšší efektivnost

selekce pomocí optimalizace oproti vyvážené selekci, přičemž efekt se zvyšuje se snižující se efektivní velikostí populace. Zajímavým zjištěním je stabilita vývoje průměrné šlechtitelské hodnoty vzhledem k efektivní velikosti populace. V tomto případě vložení inbreedingové deprese sice způsobilo obecně pokles průměrné šlechtitelské hodnoty a to z důvodu posunutí selekce směrem k vyvážené selekci ovšem její hodnota zůstala stejná po celou sledovanou oblast efektivní velikosti populace. Toto je způsobeno strukturou rodokmenu, který je velice jednoduchý a optimalizační algoritmus má dostatek prostoru pro udržení stejné šlechtitelské hodnoty pro celou oblast sledované efektivní velikosti populace.

Dalším hodnoceným kritériem v selekčních postupech byly chyby odhadů šlechtitelských hodnot. Chyby odhadů šlechtitelských hodnot je možné ovlivnit již při zakládání ověřovacích výsadeb vhodným návrhem založení, výběrem vhodných lokalit a volbou dostatečného množství potomků zastupujících jednotlivá potomstva příp. založit výsadby s klonovými replikacemi jedinců obsažených v testech potomstev, které odhady šlechtitelských hodnot podstatně zpřesní (Lu; White, 2004). Pokud již nemáme možnost ovlivnit tyto faktory při vlastním zakládání testovacích výsadeb, je možné tyto chyby odhadů korigovat např. metodou „postblocking“, která je vhodná pouze pro určitá schémata a to hlavně pro výsadby založené metodou jednostromových parcel (Ericsson, 1997). Cílem tohoto konceptu je přiblížit skutečně realizovaný genetický zisk co nejlíže zisku odhadovanému a minimalizovat tak ztráty způsobené chybným odhadem oproti skutečnému projevu. V našem případě jsme vstupovali do selekce penalizací šlechtitelské hodnoty její chybou, které byla přiřazena určitá váha zde nazvaná „Risk penalty“. Tato váha vyjadřuje míru rizika, které jsme ochotni podstoupit při provozní realizaci genetického zisku. Se zvyšující se hodnotou „Risk penalty“ klesá míra rizika odchýlení se od predikované průměrné šlechtitelské hodnoty při provozní realizaci. Výsledky tohoto postupu jsou graficky znázorněny v grafech č. 4 a č. 6. Průměrná šlechtitelská hodnoty vykazuje jasný klesající trend se stoupající hodnotou „Risk penalty“. Z tohoto trendu lze odvodit, že se stoupající penalizací klesá zastoupení jedinců s vysokou šlechtitelskou hodnotou ale relativně vysokou

chybou odhadu a jsou nahrazeny jedinci se šlechtitelskými hodnotami nižšími ovšem také s relativně menšími chybami odhadu. Pro všechny soubory selektovaných jedinců byly vypočteny konfidenční intervaly, které byly počítány na hladině významnosti 0.05 a sloužily jako hodnotící kritérium. Z grafů č. 4 a č. 6 je patrné, že se stoupající hodnotou „Risk penalty“ klesá rozsah konfidenčních intervalů. Rozsah konfidenčních intervalů klesá i s rostoucí efektivní velikostí populací. V grafu č. 6 je možné pozorovat konfidenční intervaly pro efektivní velikost populace 40, které jsou pouhým zlomkem konfidenčních intervalů pro efektivní velikost populace 20 zobrazených v grafu č. 4. Toto zúžení konfidenčních intervalů je způsobeno selekcí většího počtu genotypů v případě vyšší efektivní velikosti populace. Dalším aspektem hodnoceným v tomto modelu byl vývoj počtu selektovaných genotypů a jejich skladba vzhledem k postavení v rodokmenu to vše opět v závislosti na hodnotě „Risk penalty“. Zde byl testován modelový příklad pro semenný sad smrku se sponem 5 x 5 m (spon obvyklý ve švédských semenných sadech se smrkem ztepilým) tedy 400 jedinců na hektar. Počty selektovaných jedinců klesají s rostoucí hodnotou „Risk penalty“ a to z 60 na 30 u efektivní velikosti populace 20 a ze 100 na 60 u efektivní velikosti populace 40. Také poměr mezi rodičovskými jedinci a potomky se mění v závislosti na hodnotě „Risk penalty“, přičemž s jejím nárůstem klesá zastoupení potomků ve prospěch rodičovských stromů. Tento efekt je způsoben hlavně mnohem menší chybou odhadu šlechtitelských hodnot rodičovských jedinců vzhledem k chybám odhadů šlechtitelských hodnot potomků. Z tohoto důvodu klesá i celkový počet selektovaných jedinců kdy je selekce koncentrována pouze do nejkvalitnějších rodičovských stromů s nízkou chybou odhadu jejich šlechtitelských hodnot. Z výsledků je možné odvodit jako nejlepší varianty selekce s hodnotou „Risk penalty“ 0,2 a 1 jelikož i spodní hranice konfidenčních intervalů, které zde představují hodnotící kritérium, jsou nejvyšší. Není tedy nutné zacházet se selekcí do schémat s vyšší hodnotou „Risk penalty“, kde bychom zbytečně přišli o část genetického zisku, a selektovat tak jedince nejen mezi rodičovskými stromy ale i v potomstvech. Tento výsledkem je platný pro obě testované efektivní velikosti populací.

Posledním testovaným modelem byla kombinace konceptu „Risk penalty“ s vložením efektu inbreedingové deprese. Výsledky tohoto modelu jsou prezentovány v grafech č. 5 a č. 7 pro efektivní velikosti populací 20 a 40. V tomto případě má vývoj průměrné šlechtitelské hodnoty v závislosti na hodnotě „Risk penalty“ přesně opačný trend, tedy se zvyšující se hodnotou „Risk penalty“ se zvyšuje průměrná šlechtitelská hodnota selektované skupiny. Tento průběh je důsledkem selekce jedinců i v podprůměrných potomstvech z důvodu minimalizace efektu inbreedingové deprese, která právě vede k selekci menšího počtu jedinců z více potomstev a směřuje tak spíše k vyvážené selekci. Se zvyšující se penalizací se selekce opět koncentruje do kvalitnějších potomstev a později pouze do rodičovské generace. Tím stoupá průměrná šlechtitelská hodnota selektované skupiny. Vložení inbreedingové deprese spolu s „Risk penalty“ do modelu je opět vykoupeno navýšením počtu selektovaných jedinců oproti modelu neuvažující inbreedingovou depresi a to v počátečních fázích dokonce více než trojnásobně z 60 na 190. To může způsobit provozní problémy s manipulací a evidencí jednotlivých genotypů ať již při odběru roubov ze selektovaných jedinců tak při vlastním zakládání semenného sadu. Selektace velkého množství jedinců na druhou stranu podstatným způsobem sníží konfidenční interval kolem odhadu průměrné šlechtitelské hodnoty skupiny selektovaných jedinců. Při srovnání vývoje průměrných šlechtitelských hodnot modelů bez efektů inbreedingové deprese a modelů zahrnujících tento efekt je patrné, že modely s inbreedingovou depresí nikdy nedosáhnou hodnot modelů bez inbreedingové deprese. Toto je způsobeno hlavně dopadem inbreedingové deprese, který směřuje do mnohem vyváženější selekce jedinců z většího počtu potomstev a to i méně kvalitních. Ty pak snižují celkový průměr šlechtitelské hodnoty skupiny selektovaných jedinců. Problém, který může nastat po takto provedené selekci, je najít vhodný návrh rozmístění ramet jednotlivých klonů v případě jedinců s různým stupněm příbuznosti. Z tohoto pohledu se jeví selekce zahrnující efekt inbreedingové deprese mnohem vhodnějším řešením zohledňující následnou optimalizaci návrhu semenného sadu. Je možné předpokládat mnohem komplexnější rodokmen v dalších šlechtitelských generacích a tím model s inbreedingovou depresí bude nabývat postupem generací většího významu vzhledem

k efektivnímu zakládání budoucích semenných sadů. Navíc efekt inbreedingové deprese by se mohl v budoucích generacích projevit sníženou fruktifikací, díky které by se mohl celkový šlechtitelský program do značné míry zredukovat příp. úplně ukončit.

Stejným principem je možné zakládat šlechtitelské populace příp. tyto populace přímo propojit s populacemi produkčními (semennými sady). V tomto případě bychom však měli být mnohem obezřetnější z hlediska efektivní velikosti populace. Měli bychom postupovat mnohem konzervativněji než v případě čistě produkčních populací, kde jde pouze o zprostředkování krátkodobého genetického zisku do lesnického provozu. V případě šlechtitelských populací jde hlavně o udržení dostatečně širokého aditivního genetického rozptylu, který je zdrojem budoucích genetických zisků. Zde do rozhodovacího procesu vstupují další faktory jako např. předpokládaná životnost šlechtitelského programu, počet uvažovaných generací, délka generačního cyklu příp. možnost obohacení „genepoolu“ dodatečným vnesením materiálu z dalších zdrojů. Mimo tyto provozní faktory samozřejmě vstupují do reprodukčního procesu i biologické faktory jako např. synchronizace kvetení jedinců v populaci, pohlavní asymetrie (produkce rozdílného množství samičích a samčích gamet), pozitivní asortativní křížení. Podobně jako u semenných sadů, při vkládání příbuzných jedinců do šlechtitelské populace, je třeba při selekci jedinců brát v potaz efekt inbreedingové deprese, která v některých případech může vyústit ve sníženou fruktifikaci. Tím by byly možnosti šlechtitelského programu do značné míry redukovány menší frekvencí kombinací křížení, což by v důsledku vedlo k intenzivnímu snižování genetické diverzity a následně celkové efektivitě šlechtitelského programu. Při zvážení všech těchto faktorů.

8 Závěr

Současné dlouhodobé šlechtitelské programy jsou založeny na maximální konzervaci genových zdrojů, přičemž dochází k neefektivnímu držení i méně kvalitních genotypů ve šlechtitelských programech. To prodražuje šlechtitelské programy o testování těchto méně kvalitních jedinců. Tyto náklady by naopak měli být vloženy do rozsáhlejšího testování právě těch nejlepších jedinců. Pro tvorbu šlechtitelských populací je dnes nejčastěji využívanou metodou vyvážená selekce, kdy z každého potomstva se selektuje nejlepší jedinec příp. několik nejlepších jedinců. V některých progresivnějších programech se využívá nevyváženého zastoupení jednotlivých selektovaných potomstev (Lindgren; Mullin, 1997)(Andersson et al., 1999). Pro tvorbu produkčních populací se využívá nevyváženého zastoupení selektovaných genotypů v závislosti na jejich genetické kvalitě (Lindgren; Matheson, 1986). Tato nevyváženost zastoupení generuje ve svém důsledku dodatečný genetický zisk (Zheng et al., 1997). Koncepty „Group merit selection“ a „Linear deployment“ navrhuující nevyváženého zastoupení selektovaných jednotek (potomstva, jedinci) jsou principy velice efektivní ovšem efektivnější by byla jejich kombinace. Důvodem je v případě „Linear deploymentu“ neschopnost optimalizovat zastoupené pro příbuzné jedince a v případě „Group merit selection“ chybí návrh zastoupení jednotlivých selektovaných genotypů odrážejících jejich genetickou hodnotu. Kvadratická optimalizace je velice efektivním řešením, které kombinuje oba tyto koncepty a tím dosáhne absolutního optima v rámci omezujících podmínek. Navíc umožňuje zahrnout i další faktory do modelu, které by byly v obou předešlých způsobech velice problematické. Celkové výhody kvadratické optimalizace lze shrnout do několika bodů:

- Umožňuje selektovat v celém rodokmenu a to i přes několik generací
- Velice jednoduše lze vnést faktor příbuznosti do selekčního modelu pomocí kvadratického členu

- Navrhne optimální genetický příspěvek i v případě selekce příbuzných jedinců tak, aby se minimalizoval dopad inbreedingové deprese
- Umožňuje manipulovat s citlivostí vzhledem k dosažení skutečného optima; vždy víme, jak daleko jsme od skutečného optima
- Je velice flexibilní k vnesení dalších omezujících podmínek

Přínosem kvadratické optimalizace ve šlechtění lesních dřevin je návrh skutečně optimálních proporcí jednotlivých selektovaných genotypů v jak šlechtitelských tak produkčních populacích. Navíc umožní velice efektivně využít vložení příbuznosti do selektovaného souboru a zvažování i jejího negativního dopadu v budoucích generacích v podobě inbreedingové deprese. To je důležité hlavně v pokročilých generacích šlechtitelských programů, kdy chceme skutečně efektivně navrhovat šlechtitelské cykly vhodným kompromisem mezi konzervativní vyváženou selekcí nepříbuzných jedinců a naopak selekcí maximalizující genetický zisk bez ohledu na ztrátu genetické diverzity (vede k selekci příbuzných jedinců z nejlepších potomstev). K tomuto účelu je kvadratická optimalizace velice užitečným nástrojem šlechtitele, přičemž vlastní efektivita šlechtitelských programů opět závisí na kvalitě rozhodnutí šlechtitele. Vnesení příbuznosti a jejího negativního dopadu je v dlouhodobých šlechtitelských programech nevyhnutelným aspektem jejich celkové optimalizace.

9 Summary

Long term breeding programmes are established on repetitive breeding cycles which consist of the selection of superior genotypes, their mating and testing in progeny trials or in controlled conditions (frost hardness evaluation). Recent breeding programmes in forest tree breeding are managed very conservatively to save high genetic diversity for a long time and keep even those inferior genotypes in breeding schemes. There is a preferred balanced within family selection on the basis of selection indices. Selection using selection index as the selection criterion is the most effective selection except the case with low heritability. In this case, phenotypic selection is preferred. The selection index is a complex criterion composed from the family mean and individual value which are multiplied by their weight determining an emphasis given to each member of the selection index. The most used selection index in forest tree breeding is breeding value which is computed as the best linear estimate of the selection index. Considering more traits as selection criteria, it is possible to estimate breeding values of each trait estimate in multivariate analyses which includes genetic correlations and covariances of traits in. These breeding values can be included in the complex selection index in which they are multiplied by their economic value. Economic values reflect important of the traits in the future trends of the wood market. The suitable economic weights make a selection on the basis of the complex selection index which is very effective.

Unbalanced selection schemes seem to be more effective than balanced ones at all. There are a few approaches to optimize unbalanced selection which produce a trade-off between genetic gain and genetic diversity. The main ones can be named „Linear deployment“ (Lindgren, 1986), „Group merit selection“ (Lindgren, Mullin, 1997), „Integer linear programming“ (Andersson et al., 1999). These approaches can be used as helpful tools to select the best subset of genotypes but final efficiency depends on the competence of forest tree breeders (Lindgren, 2005).

Quadratic optimization is very often used in animal breeding to optimize genetic contribution into breeding stock. The advantage of quadratic

optimization consist of the deterministic character of algorithm instead of heuristic ones which is used in the algorithms named above. The deterministic character of the algorithm enables to determine sensitivity to reach of total optimum. We used quadratic optimization to finding the best subset of genotypes and their optimal proportion in seed orchard or breeding population according to the desired minimal genetic diversity. We compared balanced within family selection designed according to Ruotsalainen (1998) with selection using whole pedigree. The results of the base model shows the effect of selection of relative genotypes which is more effective for all situations (Zheng et al., 1997).

On the other hand, when the relative genotypes are selected, the effect of inbreeding depression becomes more important. It is necessary to put coefficients of inbreeding depression into the selection model. There is an option to solve inbreeding depression in selection procedure through including of quadratic term into the optimization. Quadratic term is based on matrix of coefficients which mean a reduction in performance of measured trait. These coefficients should be obtained from studies evaluating performance of families coming from mating of relative parents and selfing. The selection procedure considering the inbreeding depression should minimize consequences of relative crossing which results in reduction of flowering and performance. Other advantage of such selection consists of better optimization of seed orchard design which enables minimization of inbreeding. Quadratic optimization seem to be very efficient tools for management of both breeding and production populations and its using in forest tree breeding should reasonably solve an optimal manipulation with relative individuals in long term breeding programmes.

10 Literatura

Andersson, E., Jansson, R., Lindgren, D., 1974. Some results from second generation crossing involving inbreeding in Norway spruce (*Picea abies*). *Silvae Genetica* 23:34-43

Andersson, E.W., Sánchez Rodríguez, L., Andersson, B., 1999. Group coancestry – controlled selection in *Pinus sylvestris* L. breeding program. *Theor. Appl. Genet.* 99:73-80

Anonymous, 2006. Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky 2006. Mze Úsek lesního hospodářství. Pp.128

Bell, G.D., Fletcher, A.M., 1978. Computer organised orchards layouts (COOL) based on the permuted neighbourhood design concept. *Silvae Genet.* 27: 223-225

Beznoska, K., 2004. Smrk ztepilý dřevina roku 2004. *Lesu zdar* 1(2004): 6-7

Birot, Y., 1982. Breeding strategy with Norway spruce in France with particular references to the criteria and method of selection. In: Proceedings of the IUFRO joint meeting of working parties on genetics about breeding strategies including multiclinal varieties. Sensenstein, Germany. Lower Saxony Forest Research Institute, Staufenberg – Escherode, 10 -16

Brown, C.L., Goddard, R.E., 1961. Silvical considerations in the selection of plus phenotypes. *Journal of Forestry* 59: 420-426

Bueno Filho, J.S.S., Vencovsky, R., 2000. Efficiency of combined selection over sequential selection in forest tree progeny trials. *Silvae Genetica* 49:169-173

Burdon, R.D., 1989. Early selection in tree breeding: principles for applying index selection and inferring input parameters. *Can.J.For.Res.* 19:499-504

Cockerham, C., 1967. Group inbreeding and coancestry, *Genetics* 56:89–104

Cotterill, P.P., James, J.W., 1984. Number of offspring and plot sizes required for progeny testing. *Silvae Genetica* 33:203-209

Cotterill, P.P., Jackson, N., 1985. Genetic gains obtained from alternative breeding strategies including simple low cost options. *Silvae Genetica* 34:56-63

Cotterill, P.; Dean, C.; Cameron, J. and Brindbergs, M. 1989. Nucleus breeding: a new structure for rapid improvements under clonal forestry. In: *Breeding Tropical Trees: Population Structure and Genetic Improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry*. G.I. Gibson, A.R. Griffin and A.C. Matheson (eds). Oxford Forestry Institute, Oxford, UK. pp. 39-51.

Danusevicius, D., Lindgren, D., 2005. Optimisation of breeding population size for long-term breeding. *Scandinavian Journal of Forest Research* 20:18-25

Dolgolikhov, V., 1993. Norway spruce breeding in the north-west part of Russia. In: Rhone, V. (ed.), *Norway spruce provenances and breeding*, Proceedings of the IUFRO S2.2-11 symposium Latvia. Latvian forestry research institute Salaspils, 171 – 173

Dutkowski, G.W., Costa e Silva, J., Gilmour, A.R., & Lopez, G.A. 2002. Spatial Analysis Methods for Forest Genetic Trials. *Canadian Journal of Forest Research* 32: 2201–2214.

EI-Kassaby, YA, M Lstibůrek, C Liewlaksaneeyanawin, GT Slavov & GT Howe. 2007. Breeding without breeding: approach, example, and proof of concept. *In: Proc. IUFRO, Low Input Breeding and Genetic Conservation of Forest Tree Species* (Isik, F., ed.). Antalya, Turkey, 9-13 October 2006. pp. 43-54.

Ericsson, T., 1997. Enhanced heritabilities and best linear unbiased predictors through appropriate blocking of progeny trials. *Can.J.For.Res.*27:2097-2101

Eriksson, G., Schelander, B., Åkebrand, V., 1973. Inbreeding depression in an old experimental plantation of *Picea abies*. *Hereditas* 73:185-194

Eriksson, G., Ekberg, I., 2001. An introduction to forest genetics. SLU Repro, Uppsala. ISBN 91-576-6032-8 pp.166

Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C, 1996. *Introduction to Quantitative genetics*. 4th edition. Longman, New York.: pp. 464

Funda, T., Lstibůrek, M., Klápště, J., Permedlová, I., Kobliha, J., 2007. Addressing spatial variability in provenance experiments exemplified in two trials with black spruce. *Journal of forest science* 53:47-56

Gabrilavicius, R., Pliura, A., 1993. Breeding of Norway spruce in Lithuania. In: Rhone, V. (ed.),. *Norway spruce provenances and breeding*, Proceedings of the IUFRO S2.2-11 symposium Latvia. Latvian forestry research institute Salaspils, 189 - 192

Giertych, M., 1982. Breeding strategies with Norway spruce in Poland. In: *Proceedings of the IUFRO joint meeting of working parties on genetics about breeding strategies including multiclonal varieties*. Sensenstein, Germany. Lower Saxony Forest Research Institute, Staufenberg – Escherode, 17 – 21

Gilmour, A.R.; Gogel, B.J.; Cullis, B.R.; Welham, S.J.; Thompson, R., 2002 *ASReml User Guide Release 1.0* VSN International Ltd., Hemel Hempstead, HP1 1ES, UK, ISBN 1-904375-07-3

Hazel, L.N., 1943. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics* 28: 476-490

Henderson, C.R., 1988. Progress in statistical methods applied to quantitative genetics since 1976. In: B.S. Weir, E.J. Eisen, M.M Goodman, and G. Namkoong (eds.), *Proceedings of the second international conference on quantitative genetics*. Sinauer Assoc. MA.: 85-90.

Hühn, M., Kleinschmidt, J., 1993. Time trends in age-age covariances and correlations – examples from Norway spruce clones. *Silvae Genetica* 42:175-179

Hynek, V., Radosta, P., 1989. Breeding programmes for Norway spruce in the Ore Mountains. In: *Forestry genetics, breeding and physiology of woody plants*. Proceeding of the international symposium IUFRO, Voronezh, USSR, poster

Hynek, V., 1992. Šlechtění smrku ztepilého z imisně výrazně zatížených oblastí Čech. *Lesnictví* 38: 929-940

Hynek, V., 2004. Breeding programmes of Norway spruce *Picea abies* (L.) in the Czech Republic. *Dendrobiology* 51: 17-21

Hynek, V., Buriánek, V., Benedíková, M., Frýdl, J., Kaňák, J., 1997. Výběrové stromy a porosty uznané pro sběr osiva: základní kritéria. VÚLHM Jíloviště – Strnady, 51 str.

Chakravarty, G.N., Bagchi, S.K., 1993. A computer program for permuted neighbourhood seed orchard design. *Silvae Genet.* 42: 1-5

Chrtek, J., a kol., 1988. Květena České socialistické republiky 1. Academia, Praha, 540 s.

Kang, H., 1985. Juvenile selection in tree breeding: Some mathematical models. *Silvae Genetica* 34:75-84

Kang, K.S., Lindgren, D., Mullin, T.J., Choi, W.Y., Han, S.U., Kim, C.S., 2005. Genetic gain and diversity of seed crops under alternative management options in a clonal seed orchard of *Pinus thunbergii*. In: Proceedings of the 28th Southern Forest Tree Improvement Conference in Religh, NC 21.-23. June 2005, hosted by North Carolina State University

Karlsson, B., Rosvall, O., 1995. Norway spruce. In: Corrected reprint from: Lee, S.J.(ed.).1993. Progeny testing and breeding strategies, Proceedings of the Nordic group of tree breeding, October 1993, 184+pp. Edinburg: Forestry Commission.

Karlsson, B., 2000. Clone testing and genotype x environment interaction in *Picea abies*. Doctor's dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences.

Kaya, Z., Sewell, M.M., Neale, D.B., 1999. Identification of quantitative trans loci influencing annual height- and diameter- increment growth in loblolly pine. *Theor.Appl.Genet.* 99:586-592

Kleinschmidt, J., 1993. 25 years Norway spruce breeding in Lower Saxony, Germany. In: Rhone, V. (ed.),. Norway spruce provenances and breeding,

Proceedings of the IUFRO S2.2-11 symposium Latvia. Latvian forestry research institute Salaspils, 213 - 218

Klika, J., Šiman, K., Novák, F.A., Kavka, B., 1953. Jehličnaté. Nakladatelství ČSAV. Praha. pp. 307

Lambert, C.C., 1980. Juvenile-mature correlations in Pinaceae and implications for early selection. *Forest Science* 26:571-580

Lande, R., Thompson, R., 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124:743-756

Li, B., McKeand, S., Weir, R., 2000. Impact of forest genetics on sustainable forestry - results from two cycles of loblolly pine breeding in the US. *Journal of Sustainable Forestry* 10:79-85

Lindgren, D., Matheson, A.C., 1986. An algorithm for increasing the genetic quality of seed from seed orchards by using the better clones in higher proportions. *Silvae genetica* 35: 173-177

Lindgren, D., Werner, M., 1989. Gain generating efficiency of different Norway spruce seed orchard designs. In: Stener, L.G., Werner, M. (Eds.) Norway spruce; provenances, breeding and genetic conservation. Proceedings of the IUFRO working party meeting, S2.02-11, in Sweden 1988. Institutet för skogsförbättring. Rapport nr. 11:189-206

Lindgren, D., 1993. Quantitative comparison between truncation selection and a better procedure. *Hereditas* 118:289-292

Lindgren, D., Wei, R.P., 1994. Gain versus effective number. Ed. Lee S. Proceedings – Nordic group for tree breeding, Edinburgh 6.-10. října 1993. Dostupné v dizertační práci R.P. Wei

Lindgren, D., Gea, L.D., Jefferson, P.A., 1996. Loss of genetic diversity monitored by status number. *Silvae Genet.* 45:52-59

- Lindgren, D., Gea, L.D., Jefferson, P.A., 1997. Status number for measuring genetic diversity. *Forest Genet.* 4:69-76.
- Lindgren, D., Mullin, T.J., 1997. Balancing gain and relatedness in selection. *Silvae Genetica* 46:124-129
- Lindgren, D., 2005. Unbalances in tree breeding. In: Proceedings of the meeting Nordic tree breeders and forest geneticists: Status, monitoring and targets for breeding programs. 13.-15. září, 2005. Syktyvkar, Rusko
- Lstibůrek, M., El-Kassaby, Y.A., 2008. Advanced generations minimum-inbreeding seed orchard design (v tisku *Forest Science*)
- Lu, P., White, T.L., 2004. Determining test and block numbers in consideration of progeny testing quality and cost: An example of half-sib families with RCB design and single tree plots. *Forest genetics* 11:29-44
- Magnussen, S., Yanchuk, A.D., 1993. Selection age and risk: Finding the kompromise. *Silvae Genetica* 42(1):25-40
- Malecot, G., 1948. *Les Mathématiques de l'Hérédité*. Masson et Cie, Paris.
- Maruyama, E., Hosoi, Y., Ishii, K., 2003. Somatic embryo culture for propagation, artificial seed production and conservation of sawara cypress (*Chamaecyparis pisifera* Sieb. et Zucc). *J.For.Res.*8: 1-8
- McKeand, E.S., Beineke, F., 1980. Sublining for half-sib breeding populations of forest trees. *Silvae Genet.* 29: 14-17
- McKeand, E.S., Bridgwater, F., 1998. A strategy for the third breeding cycle of loblolly pine in the southeastern U.S. *Silvae Genet.* 47: 223-234
- Mikkola, L., 1969. Observations on interspecific sterility in *Picea*. *Ann.Bot.Fenn.* 6: 285-339
- Mikola, J. 1993. Breeding of Norway spruce in Finland: problems and remedies. In: Rhone, V. (ed.),. *Norway spruce provenances and breeding*. Proceedings of

the IUFRO S2.2-11 symposium Latvia. Latvian forestry research institute Salaspils

Mullin, T.J., Park, Y.S., 1992. Estimating genetic gains from alternative breeding strategies for clonal forestry. *Can.J.For.Res.* 22: 14-23

Musil, I., 2003: *Lesnická dendrologie 1: Jehličnaté dřeviny*. ČZU Praha. ISBN 80-213-0992-X, pp. 177

Namkoong, G., 1988. *Tree breeding: Principles and strategies*. Springer-Verlag, New York.

Olsson, T., Ericsson, T., 2002. Genetic parameters estimates of growth and survival of *Pinus sylvestris* with mixed model multiple-trait restricted maximum likelihood analysis. *Scand.J.For.Res.* 17:103-110

Park, Y.S., Barrett, J.D., Bonga, J.M., 1998. Application of somatic embryogenesis in high-value clonal forestry: Deployment, genetic control, and stability of cryopreserved clones. *In vitro cell. dev. biol., Plant* 34: 231-239

Paule, L., 1992: *Genetika a šľachtenie lesných dřevín*. Príroda, Bratislava, ISBN 80-07-00409-2, 304 s.

Plíva, K., Průša, E., 1969. *Typologické podklady pěstování lesů*. SZN 1969, 401s.

Plomion, C., LeProvost, G., Pot, D., Vendramin, G., Gerber, S., Decroocq, S., Brach, J., Raffin, A., Pastuzska, P., 2001. Pollen contamination in a maritime pine polycross seed orchard and certification of improved seeds using chloroplast microsatellites. *Can.J.For.Res.* 31: 1816-1825

Pospíšil, J., Koblíha, J., 1988. *Šľechtění lesných dřevín*. Vysoká škola zeměděľská, Brno, 135 s.

Prescher, F., Lindgren, D., El-Kassaby Y.A., 2006. Is linear deployment of clones optimal under different clonal outcrossing contribution in seed orchards? *Tree genetics & genomes* (2006) 2: 25-29

- Quinton, M., Smith, C., Goddard, M.E., 1992. Comparison of selection methods at the same level of inbreeding. *J. Anim. Sci.* 70:1060 – 1067
- Rosvall, O. 1999. *Enhancing gain from long-term forest tree breeding while conserving genetic diversity*. Doctor's dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Ruotsalainen, S., Lindgren, D., 1998. Predicting genetic gain of backward and forward selection in forest tree breeding. *Silvae genetica* 47:42-50
- Ruotsalainen, S., Lindgren, D., 2000. Stratified sublining: a new option for structuring breeding populations. *Can.J.For.Res.* 30: 596-604
- Ruotsalainen, S. 2002. *Managing breeding stock in the initiation of a long-term tree breeding program*. Doctor's dissertation. Finnish Forest Research Institute
- Řezáč, J., 2004. Smrk dřevina budoucnosti. *Lesu zdar* 5(2004): 15-17
- Sánchez Rodríguez, L., 2000. Balanced vs. slightly unbalanced selection. *Heredity* (2000) 84: 685-691
- Schmidt, P.A., 1991. Beitrag zur Kenntnis der in Deutschland anbaufähigen Fichten (Gattung *Picea* A. Dietr.) *Mitt. Dtsch. Dendrol. Ges.*, 80: 7-72
- Skrøppa, T., 1982. Breeding strategies with Norway spruce in south-eastern Norway. In: Proceedings of the IUFRO joint meeting of working parties on genetics about breeding strategies including multiclinal varieties. Sensenstein, Germany. Lower Saxony Forest Research Institute, Staufenberg – Escherode, 1 – 9
- Skrøppa, T., 1996. Diallel crosses in Norway spruce II. Performance and inbreeding depression of selfed families. *Forest Genetics* 3:69-79
- Skrøppa, T., 2003. EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use for Norway spruce (*Picea abies*). IPGRI, Rome, Italy
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G., 1967. *Statistical methods*. 6th edit. The Iowa state univ. Press, Ames, Iowa.

- Stoehr, M., Mehl, H., Nicholson, G., Pieper, G., Newton, C., 2005. Evaluating supplemental mass pollination efficacy in a lodgepole pine orchard in British Columbia using chloroplast DNA markers. *New Forests* 31(1):83-90
- Šindelář, J., 1968. Kriteria pro selekci výběrových stromů hlavních lesních dřevin. UZPI Praha. 43 str.
- Šindelář, J., 1992. Základní principy šlechtitelských programů pro hospodářsky významné lesní dřeviny jehličnaté., ODIS VÚLHM, Lesnický průvodce 1/1992, 78 s.
- Vacek, S., Simon, J., Kacálek, J., 2005. Strategie zalesňování nelesních půd. *Lesnická práce* 84:13 - 15
- van Buijtenen, J.P., 1971. Seed orchard design, theory and practice. In: *Proceedings of the 11th Southern Forest Tree Improvement Conference*.15.-16. June 1971, Atlanta, Georgia
- Villanueva, B., Kennedy, B.W., 1993. Index versus tandem selection after repeated generations of selection. *Theor. Appl.Genet.*85:706-712
- Wei, R.-P., Lindgren, D., 1995. Optimal family contributions and a linear approximation. *Theor. Pop. Biol.* 48: 318-332
- Wray, N.R., Goddard, M.E., 1994. Increasing long-term selection response. *Genet. Sel. Evol.*26:431-451
- Wright, J.W., 1955. Species crossability in Spruce in Relation to Distribution and Taxonomy. *Forest Sci.* 1: 319-350
- Wu, H.X., 2002. Study of early selection in tree breeding 4: Efficiency of Marker-Aided Early Selection (MAES). *Silvae Genetica* 51:261-269
- Yanchuk, A.D., 2001. A quantitative framework for breeding and conservation of forest genetic resources in British Columbia. *Can.J.For.Res.* 31: 566-576

Zheng, Y.Q., Lindgren, D., Rosvall, O., Westin, J., 1997. Combining genetic gain and diversity by considering average coancestry in clonal selection of Norway spruce. *Theor.Appl.Genet.* 95:1312-1319

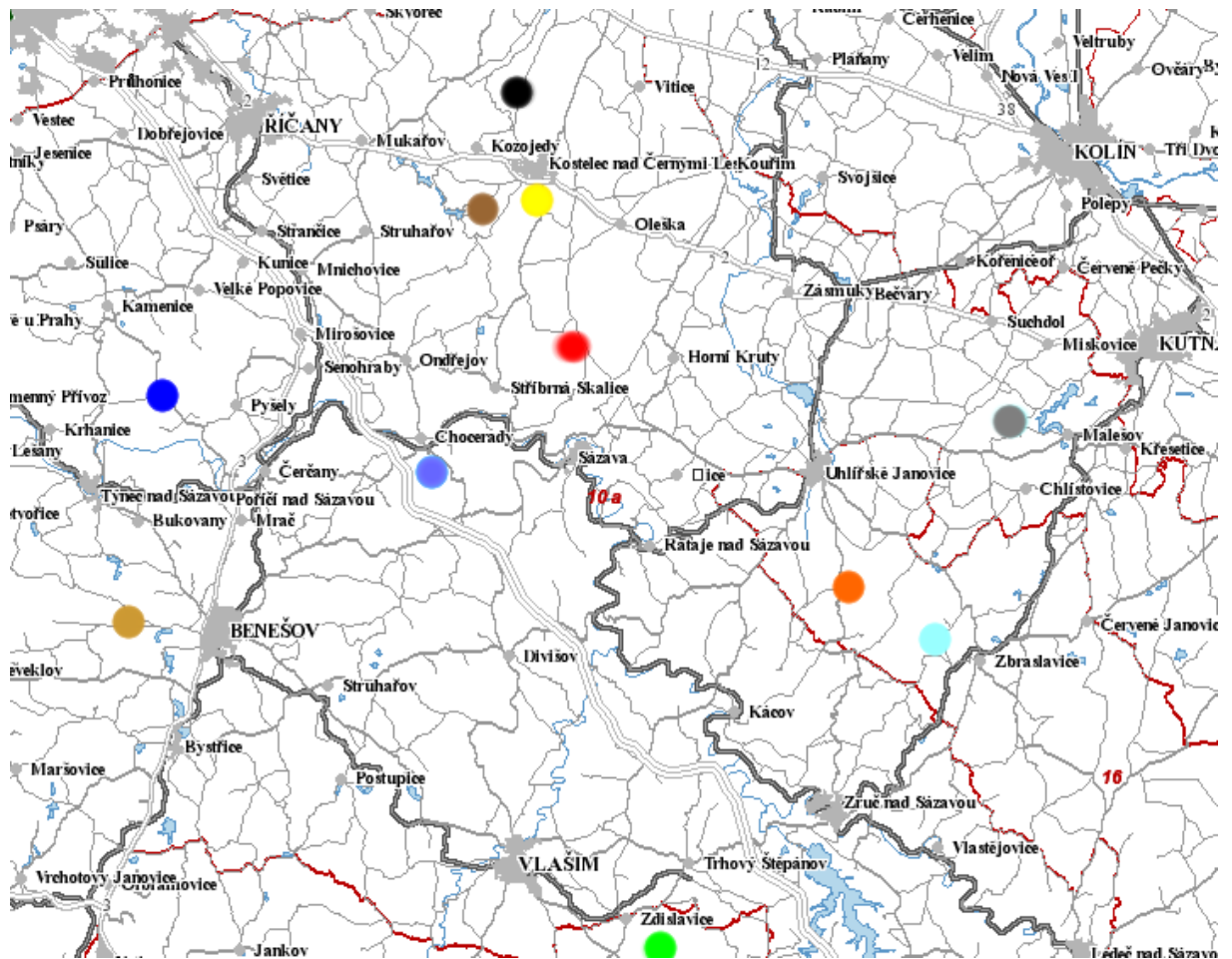
Zobel, B., Talbert, J., 1984. *Applied forest tree improvement.* John Wiley and sons.

Žďárská, D., 1975. Dílčí závěrečná zpráva k výzkumnému úkolu VI-5-2/7 c Biologie a šlechtění smrku se zvláštním zřetelem na využití populací středočeských. VLU Kostelec n.Č.l.

Žďárská, D., 1990. Závěrečná zpráva výzkumného úkolu VI-06-06/02-6 Hodnocení růstu potomstev stromů smrku ztepilého (*Picea abies*/L./ Karst.). VLU Kostelec n.Č.l.

11 Přílohy

Příloha č.1: rozmístění lokalit výběru „šlechtitelských stromů“



Příloha č.2: charakteristika sleketovaných stromů vzhledem k lokalitě

Lokalita			počet ověřovaných stromů	Věk k roku 1980	Průměrné hodnoty		
Číslo	Název	Nadmořská výška v m			výšek v m	výčetních tloušťek v cm	objem kmenů v m ³
1 2 3 4	ŠLP Kostelec n.Č.l.						
	Dolánka	280	2	85	36.9	56	3.8
	Jevanské údolí	360	39	146	40.9	74	7.1
	Pod Aldašínem	380	3	97	37.3	68.7	5.4
4	Komorce	370	13	125	38.5	64.5	5.2
5 6 7	LZ Konopiště Údolí Čakovického potoka	330	17	172	44.3	91.6	11.3
	Šiberna	340	3	153	41	82.7	8.5
	Komorní Hrádek	400	9	147	40.1	80.8	8.4
8 9 10 11	LZ Kácov						
	Český Šternberk	385	8	148	41.8	82.5	8.6
	Stará Huť	430	4	128	36.5	62.8	4.8
	Hodkovské údolí	425	26	127	37.2	60.9	4.5
11	Roztěž	385	9	145	39.1	79	7.7

Zdroj: Žďárská, 1990

Příloha č.3: odhady genetických zisků ze selekce v potomstvech (forward) a v generaci rodičovských stromů (backward) při různých selekčních intentách

selint (n/146)	backward	forward
1	117.18	114.99
2	116.17	114.42
3	115.4	113.98
4	114.79	113.62
5	114.29	113.33
6	113.85	113.08
7	113.47	112.86
8	113.12	112.66
9	112.81	112.48
10	112.53	112.32
11	112.26	112.17
12	112.01	112.02
13	111.78	111.89
14	111.56	111.77
15	111.36	111.65
16	111.16	111.53
17	110.97	111.43
18	110.79	111.32
19	110.62	111.23
20	110.46	111.13
21	110.3	111.04
22	110.14	110.95
23	110	110.87
24	109.85	110.78
25	109.71	110.7

selint (n/146)	backward	forward
26	109.58	110.62
27	109.44	110.55
28	109.32	110.47
29	109.19	110.4
30	109.07	110.33
31	108.95	110.26
32	108.83	110.2
33	108.72	110.13
34	108.61	110.07
35	108.5	110
36	108.39	109.94
37	108.28	109.88
38	108.18	109.82
39	108.08	109.79
40	107.98	109.71
41	107.88	109.65
42	107.78	109.59
43	107.69	109.54
44	107.59	109.48
45	107.5	109.43
46	107.41	109.38
47	107.32	109.33
48	107.23	109.28
49	107.14	109.22
50	107.06	109.17

Příloha č.4: článek Funda et al.; verze připravená k oponentskému řízení

**DEPLOYMENT STRATEGIES IN ADVANCED-GENERATIONS SEED
ORCHARDS**

T. Funda¹, M. Lstiburek², P. Lachout^{3,4}, J. Klapste², Y.A. El-Kassaby^{1,5}

¹Department of Forest Sciences, Faculty of Forestry, University of British Columbia,
2424 Main Mall, V6T 1Z4 Vancouver, B.C., Canada

²Department of Dendrology and Forest Tree Breeding, Faculty of Forestry and Wood
Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamycka 129, 165 21 Praha 6, Czech
Republic

³Department of Probability and Statistics, Faculty of Mathematics and Physics, Charles
University in Prague, Sokolovska 83, 186 75 Praha 8, Czech Republic

⁴Institute of Information Theory and Automation, Czech Academy of Sciences, Pod
vodarenskou vezí 4, 182 08 Praha 8, Czech Republic.

⁵Corresponding author

e-mail: y.el-kassaby@ubc.ca

Tel.: +1 (604) 822-1821

Fax.: +1 (604) 822-9102

Abstract

Genetic gain and diversity of seed orchards' crops are determined by the number of parents selected and their breeding value, pollination efficiency, and gene flow. Gain and diversity can be manipulated: 1) at establishment by varying clonal size (e.g., linear deployment), 2) during orchard development by genetic thinning, or 3) by selective harvest. Clonal fertility is known to vary within and among years thus yearly crops are unique and therefore should be treated individually. Here we present an optimization protocol that allows maximizing crops' genetic gain at any preset/desired genetic diversity level. This is accomplished through the selection of a subset of the seed-cone crop that meets both optimization parameters; namely, maximum gain and the desired diversity. The optimization algorithm allows maximizing the genetic gain within the biological limit set by each clone's seed-cone production (i.e., multiple levels of gain maximization can be attained at various diversity levels). It uses effective population size as a proxy to genetic diversity and is extended to account for relatedness among orchard's parents. The model was demonstrated using three years reproductive output data from a western larch (*Larix occidentalis* Nutt) seed orchard and was tested under various scenarios including actual (variable) male and female reproductive output and male reproductive output assumed to be equal to that of female or as a function of clone size. The developed algorithm has proven effective in creating custom seedlots with different gain and diversity levels and also provided the capacity to derive the genetic property of a composite seedlot encompassing the remaining "unused" seed-cones from a number of years.

Keywords: Seed orchard, optimization, genetic gain and diversity, western larch.

Introduction

Seed orchards are the main delivery vehicle for coniferous species' genetic improvement programs where balancing gain and diversity is a main concern. The level of genetic gain (genetic worth) of a seed orchard's crop depends primarily on the genetic superiority of the selected parents, their actual gametic contribution to the resultant seed crop, and the level of gene flow (pollen contamination) from extraneous pollen sources and their respective genetic quality (Stoehr et al. 1998; Lindgren et al. 2004). The genetic diversity of a seed crop is greatly influenced by the magnitude of parental fertility variation (unequal parental contribution to the resulting seed crops) (Xie et al. 1994; Kjær 1996; Burczyk and Chalupka 1997) as well as by the level of kinship among the orchard's parental population (Lindgren and Mullin 1998). Theoretically, maximum genetic diversity is attained when all genotypes contribute equally to the seed crop while maximum gain depends on the proportionate contribution of high breeding value parents.

The reproductive choreography – the time, duration and extent of reproductive activity of orchard's parents – is of great importance because it affects the magnitude and direction of gene exchange among parents within the seed orchard as well as extraneous gene flow and ultimately the genetic composition of the resulting seed crop (El-Kassaby et al. 1984; El-Kassaby and Ritland 1986; Matziris 1994, Burczyk and Chalupka 1997). Variation in gametic contribution among orchard's parents may lead to over-representation of the most productive genotypes (Kjaer 1996) and accumulation of co-ancestry and thus leading to loss of genetic diversity (Lindgren et al. 1996). Fertility variation among orchards' parents should therefore be taken into consideration when genetic gain and diversity are estimated (Kang and El-Kassaby 2002).

In reality, fertility variation is very common in seed orchards and is caused by: 1- unequal parental representation during orchards' establishment (e.g., linear deployment where parents are linearly presented in the orchard population proportional to their breeding values) (Lindgren and Matheson 1986), 2- mortality during orchards' development (El-Kassaby and Cook 1994), and 3- simple differences in parental reproductive output (Sitka

spruce: El-Kassaby and Reynolds (1990); Douglas-fir: El-Kassaby and Askew (1991) and El-Kassaby et al. (1990); loblolly pine: Askew (1988); radiata pine: Griffin (1982); Japanese red pine (Kang 2000) and black pine (Kang et al. (2004)). Parental gametic contributions can be estimated using different methods ranging from low-cost/low-accuracy to relatively high-cost/high-accuracy. The former includes phenotypic assessment of reproductive strobili output variability and seed production (Woods 2005), while the latter utilize variation revealed at isozymes or DNA markers (Roberds et al. 1991; Xie and Knowles 1992; Moriguchi 2004; Slavov 2005).

Genetic gain (response) and diversity of seed orchards' crops can be manipulated at orchard establishment by varying parental representation following linear deployment (Lindgren and Matheson 1986), during genetic thinning of existing orchards (i.e., reverse proportionate removal of low breeding value parents) (Bondesson and Lindgren 1993), or by practicing selective seed-cone harvest (i.e., seed-cones are collected from parents with higher breeding values) (Lindgren and El-Kassaby 1989; Kang et al. 2001). Seed crops' genetic diversity is at maximum under equal parental gametic output; however, the magnitude of female and male fertility variation, their direction as well as the strength of their correlation strongly affect these practices (Kang and El-Kassaby 2002). Most seed orchards' fertility variation studies have shown that male and female reproductive output is either weakly correlated (Nikkanen and Velling 1987; Caron and Powell 1989; Kjær 1996; Kang 2000) or independent (Savolainen et al. 1993; Kang and Lindgren 1998, 1999; Kang et al. 2004). Therefore, the common practice of estimating the genetic diversity based on one gender alone (e.g., seed production) is often inaccurate (Kang and Lindgren 1999).

The above-mentioned review implies that genetic gain and diversity of a seed orchard's crop are unique within any given year, thus orchard's reproductive output assessment and their manipulation are better done on a yearly basis. Furthermore, seed utilization is also variable among years, thus providing an opportunity for maximizing gain through selective harvest. The objective of this study is to develop a model which maximizes the genetic value of a selected portion of an existing orchard crop, through the optimization of parental contributions. Three different models are tested: a- equal male and female fertilities (i.e.,

presence of a perfect correlation between female and male reproductive output (see Lindgren et al. 2004; Prescher et al. 2006)); b- male contribution is proportional to the parental representation in the orchard (number of ramets per clone); and c- actual reproductive output data (Stoehr et al. 2004). Further, an extension to the model was made to include relatedness among clones, a situation likely to occur in advanced generations' seed orchards. The model is unique as it combines the above mentioned elements in a single-optimization step and leads to optimum clonal proportions, considering all variables; namely, male and female reproductive outputs, parental breeding values, presence of co-ancestry, and the desired level of genetic diversity.

Materials and methods

Seed orchard and fertility assessment

Total male and female reproductive output records were collected over three consecutive years (2004 – 2006) in a western larch (*Larix occidentalis* Nutt) seed orchard (57 clones) and were used to illustrate the presented method. The orchard's parental population were selected from natural stands within south-eastern British Columbia. All parents were assumed to be unrelated and non-inbred. The orchard is located near Vernon, B.C., Canada (Kalamalka Forestry Centre: altitude 480 m, latitude 50°14'N, longitude 119°16'E) and was established in 1989 prior to any genetic evaluation of the parental population. However, the genetic constitution of the orchard's population maintained a dynamic state as a result of replacing low breeding value parents by higher-ranking ones based on subsequent progeny test evaluation. The orchard's parental breeding values (height at age 60) were predicted based on two series of 10-year-old progeny test trials located within the parental natural range (East Kootenay, B.C.). Maternal (female) and paternal (male) contributions to the orchard's total crop were estimated based on the number of seed-cones and volume of pollen-cones produced by each ramet within every clone, respectively, following the methods by Woods (2005).

Pearson's product-moment correlation coefficients were calculated for male and female fertilities within and among years after excluding some parents due to changes in the orchard's population structure over time and in some cases due to large differences in the parental representation (i.e., very small number of ramets per clone). Correlation analysis was based on 27 parents (with the average of 35.6 ramets per clone) that were present over the three study years.

Model development

Let N be the number of parents (clones) in a seed orchard with corresponding breeding values provided in a vector \mathbf{X} , thus the average breeding value (genetic response) is:

$$\Delta G = \sum_{i=1}^N X_i p_i \quad (1)$$

where p_i denotes the contribution of clone i to the orchard crop, and $0 \leq p_i \leq 1$, and $\sum_{i=1}^N p_i = 1$.

Genetic diversity of a seed orchard crop can be expressed as the effective number of parents (effective population size, N_E). N_E describes what proportion of parents is involved in the production of the seed crop and, provided that individuals in the orchard are unrelated and non-inbred, it is defined solely by their gametic contribution (Kang and Lindgren 1999):

$$N_E = \frac{1}{\sum_{i=1}^N p_i^2} \quad (2)$$

Considering related and/or inbred individuals, we used the concept of group co-ancestry (Θ) as a measure to calculate the effective number of parents. Group co-ancestry can be calculated as the average co-ancestry of all pairs of population members including individuals with themselves (Cockerham 1967), where co-ancestry is the probability that any two alleles sampled at random (one from each individual) are identical copies of an ancestral allele (i.e., that they are identical by descent, Malécot 1948). Group co-ancestry is related to the effective population size as:

$$\Theta = \frac{1}{2N_S} \quad (3)$$

where N_S is the status number (Lindgren et al. 1996). Status number is a measure of effective population size that is based on current relatedness among seed orchard parents and it can also describe the accumulated genetic drift from the reference population to which the concepts of inbreeding and co-ancestry refer (Lindgren and Mullin 1998). When individuals in a seed orchard are unrelated and non-inbred, the status number is equivalent to the actual (census) number of parents.

The objective in a given seed orchard is to maximize genetic gain in the orchard's crop (i.e., the maximization of the function given in Eq. 1). Obviously, the maximum would be reached if seed from only one or a few parents with the highest breeding values were collected. However, in such a case, N_E of the resulting mixture would be unreasonably low and the seed crop could not be utilized due to its genetic vulnerability. Therefore, the minimum level of N_E was set as a constraint. The constraint was derived from Eqs. 2 and 3 as follows:

$$\frac{1}{\sum_{i=1}^N p_i^2} \geq N_{E \min} \Leftrightarrow \sum_{i=1}^N p_i^2 \leq \frac{1}{N_{E \min}} \quad (4)$$

where $N_{E \min}$ stands for the minimum desired effective population size. This value is provided as an input to the optimization.

We find it crucial to consider in detail the actual seed orchard reproductive output in a given year, due to its significant variation. We therefore split the gametic contribution of clone i into respective female (f_i) and male (m_i) contributions:

$$p_i = \left(\frac{f_i + m_i}{2} \right) \quad (5)$$

where $\sum_{i=1}^N m_i = 1$. Male gametic contributions are estimated per each clone based on respective male fertility.

Let s be a fraction of the total amount of seed crop collected in a given year (reflecting the actual seed need and the minimum desired level of diversity in such a subset), where $0 \leq s \leq 1$ (value of 1 represent situation where the entire seed crop is selected). This new optimized seedlot is then supplied to the operational reforestation program. We therefore set the upper bound of the female gametic contribution (i.e., cone harvest) of clone i as the total amount of seed collected from the same clone (denoted as g_i) relative to the total amount of seed available in the entire orchard in a given year ($\sum_{i=1}^N g_i$):

$$0 \leq f_i \leq \min\left(1, \frac{g_i}{s \sum_{i=1}^N g_i}\right) \quad (6)$$

This study is conducted on first generation seed orchard data, thus all parents were assumed unrelated and non-inbred. However, since differences in fertility among individuals increase relatedness and inbreeding (Gilpin and Soulé 1986; Lindgren et al. 1996), then advanced generation seed orchards are expected to harbour related and inbred clones.

Let us assume N parents contributing to the resulting gametic pool (seed orchard crop). Selecting alleles randomly from the gametic pool, with replacement, the probability that the first allele originates from genotype i is r_i , and the probability that the second originates from genotype j is r_j . The likelihood that these two alleles are identical by descent is c_{ij} , which is the co-ancestry between genotypes i and j . The probability that a pair of alleles sampled from the gamete pool is identical by descent (IBD) is given by adding over all possible probabilities (Lindgren and Mullin 1998), thus

$$\Theta = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N r_i r_j c_{ij} \quad (7)$$

Let us assume that all individuals are known starting from the founder population. Matrix \mathbf{C} can then be calculated recursively from a given pedigree (e.g., Emik and Terrill 1949). The proof that \mathbf{C} is a positive definite matrix with diagonal elements lower than 1, which is a prerequisite for its inclusion to the optimization in the current study, is presented in Appendix 1. Thus, when relatedness among individuals in a population is taken into consideration, a constraint to the objective function (Eq. 4) can be replaced by:

$$\Theta \leq \frac{1}{2N_{S \min}} \Leftrightarrow \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N p_i p_j c_{i,j} \leq \frac{1}{2N_{S \min}} \quad (8)$$

If male contributions differ from those of females, Eq. 8 can be adjusted correspondingly (using Eq. 5):

$$\Theta \leq \frac{1}{2N_{Smin}} \Leftrightarrow \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N (m_i + f_i) \sum_{j=1}^N (m_j + f_j) c_{i,j} \leq \frac{1}{N_{Smin}} \quad (9)$$

Optimization

Mathematical programming model was developed based on equations derived in the previous section. We used the optimization software MOSEK[®] ApS (Anonymous 2002) to search for optimum solutions. Throughout the study, we used the default optimality level, meaning that the solutions presented here and the actual optima can be considered identical.

The objective function is defined by Eq. 1, and it was subjected to two constraints: (1) Eq. 4 or 8 or 9 (based on assumptions made) and (2) $\sum_{i=1}^N p_i = 1$.

To assess the vulnerability of various assumptions that are often used in similar studies (e.g. Kang et al. 2001; Kang et al. 2003; Lindgren et al. 2004; Prescher et al. 2006), we compared three models. In the first model (Model (a)), both the male and female contributions were assumed equal (i.e., perfect correlation between male and female reproductive outputs) based on the actual female seed-cone count. In this case, the male component cancels out and p_i equals to the seed production of the i^{th} clone. Note that this model is mathematically identical to the concept of “genetic thinning” implemented by Bondesson and Lindgren (1993), extending the theory of linear deployment (Lindgren and Matheson 1986). Next, under Model (b), male contributions were considered to be a function of the clonal size (the total number of ramets per clone) while the female contributions were based on the seed-cone count. Finally, under Model (c), actual estimates of male and female gametic contribution obtained from the orchard’s fertility assessment were used.

N_{Emin} was set either equal to the original value of the entire seed orchard crop (Scenario I), or N_{Emin} was set to a value of 10 (Scenario II; minimum effective population size that is required to capture the majority of genetic diversity; e.g. Yanchuk 2001; Woods 2005).

The latter scenario was extended by including relatedness among several clones in a hypothetical advanced generation seed orchard with the aim of demonstrating the difference between the resulting optimum clonal contributions (and the decline in the effective population size) when relatedness is present. Since no breeding value estimates are currently available for hypothetical advanced generation seed orchard clones, the original first generation values were assigned to the orchard's parents for simplicity. Two examples with the total number of 44, 40, and 47 parents were tested (the seed orchard's census numbers in 2004, 2005, and 2006, respectively), 30 of which were related (various levels of co-ancestry) and the remaining ones were unrelated. The first example consisted of 26 half-sibs and 5 full-sibs (moderate relatedness) while the second consisted of 13 half-sibs, 7 full-sibs and 15 parent-offspring (strong relatedness).

Results

Correlation

With the exception of female (2005 - 2006), all correlation coefficients between male, female, and male-female fertilities over the three years were positive and significant (Table 1). Correlations between male fertility (Table 1, above diagonal) were, on average, slightly higher than those observed for female fertility (Table 1, below diagonal). These values imply that yearly male and female reproductive output is similar; however, close observation of the data on the individual ramet level indicated the presence of greater variability (data not shown). In fact, the clonal total reproductive output is the main factor affecting the genetic constitution and quality of the seedlots and not the clonal size (i.e., number of ramets/clone). Male-female reproductive output correlation varied among years (Table 1), indicating that yearly crops are unique and should be evaluated on a year-by-year basis. If clonal male reproductive output assessment (pollen-cone and/or pollen production) is an indication of reproductive success, then it is appropriate to consider male contribution as well during genetic gain and diversity calculations.

Generally, the genetic gain estimates of the entire orchard's crops (100% sampling) are either under- or over-estimated if only the female component is considered (i.e., assuming perfect and positive correlation between male and female gametic contribution) (Fig 1). Additionally, when selective seed-cone is implemented (<100% seed crop, see optimization below), the average genetic gain of the three models (Models (a), (b) and (c)) produced different estimates which are mainly caused by including Model (b) in the comparisons (Fig. 1). Close inspection indicated that the observed genetic gain differences are caused by the relatively higher production of pollen from high and low breeding value parents, respectively.

Optimization

In this illustration, optimization was performed after excluding a 10% increment from the crop with the lowest breeding value within the constant of the preset diversity in a stepwise

manner (Figs. 1 and 2). In Scenario I, which holds N_E constant and equal to that of the entire crop (100% sampling), the resulting N_E of Model (b) (male reproductive output set as a function of clone size) was the highest among the three models used (range: 27.26 – 33.84 for 2004 – 2006 (Fig. 1)). However, this approach is unrealistic because it assumes male reproductive output equality among ramets within clones which inflates N_E . Using Kang and Lindgren's (1998; 1999) method for estimating male fertility variation among clones (the concept of sibling coefficient), Model (b) produced estimates of 1.23, 1.24, and 1.51 while Model (c) produced estimates of 2.50, 2.36 and 2.84 for 2004, 2005 and 2006, respectively. These estimates are high and are indicative of extensive male reproductive output variability. As expected, the three models within Scenario I produced steady increase in genetic gain estimates as seed from lower breeding value clones were excluded (Fig. 1). Optimization results from Models (a) and (c) produced comparable genetic gain estimates, at least for this orchard, indicating that Model (a) represents a good approximation of the actual male reproductive output.

Scenario II allows sacrificing some genetic diversity for appreciable increase in gain (Fig. 2). Under Scenario I, genetic gain increase was limited by the stringent genetic diversity constraint (equal to that of the entire seed crop). However, the diversity constraint of Scenario II which was more relaxed ($N_E = 10$) allowed the capture of greater gain (Figs. 1 and 2). For example, while both scenarios start with the same genetic gain estimates (i.e., that of the entire crop), the maximum genetic gain that could be attained through Scenario II is higher depending on which model is used as well as the proportion of seed selected (Fig. 1 and 2). It is noteworthy to state that the stringent diversity constraint under Scenario I amplified the differences among the three models used; namely, between Model (b) on one side and Models (a) and (c) on the other. However, when diversity constraint is relaxed under Scenario II, these differences were reduced, indicating that the optimization is effective in capturing higher gain regardless of which reproductive output model is used, notwithstanding the slight differences shown by Model (a) (Fig. 2). The steeper gains attained by Model (a) relative to Models (b) and (c) is the fact that genetic gain calculation for the former is restricted to the subset of clones from which seed is selected while

ignoring male contribution from the remaining clones (Fig. 2). It is important to note that N_E of 10 is attained with fewer seed parents in Scenario II under Models (b) and (c) due to the inclusion of all pollen contributors into account. That means the genetic diversity reduction associated with focusing on fewer females is counteracted by the inclusion of many parents as males. For instance, for 2006 crop, seed from as few as seven parents would secure the attainment of $N_E = 10$ when 20% of the crop was selected; thus demonstrating the benefits of including male reproductive output in the genetic diversity calculations.

Relatedness among the orchard's parents drastically affected the genetic gain and diversity (Fig. 3). As expected, the higher was the genetic relatedness among parents the greater was the reduction in the expected diversity estimates (N_E). This reduction was also associated with the crop proportion selected by the optimization (Fig. 3). Conversely, the genetic gain estimates increased with the decrease in the crop proportion selected (i.e., the inclusion of seed from fewer parents); however, the genetic gain estimates were similar under the three genetic relatedness (Fig. 3).

Discussion

Efforts have been made to simultaneously optimize the genetic gain and diversity of seed orchards' crops (Son et al. 2003; Lindgren et al. 2004). These efforts include linear deployment of parents proportionate to their breeding value in newly established orchards (Lindgren and Mathesson 1986) or the application of genetic rouging/thinning of lower value parents from established orchards in a manner that approximate linear deployment (Bondesson and Lindgren 1993). It is interesting to note that the expected increase in gain and diversity under linear deployment can only be attained if parents' reproductive output proportions mimic their deployment representation. Prescher et al. (2008) point out, however, that the implementation of genetic thinning is somewhat constrained by the orchard's existing parental population and its structure (i.e., number of ramets/clone) and that, in some cases, any additional thinning would not result into higher gain and undoubtedly would lead to reduced diversity. The commonly observed parental imbalance among orchard's parents (Eriksson et al. 1973; Griffin et al. 1982; Askew 1988; El-Kassaby et al. 1989; El-Kassaby and Reynolds 1990; El-Kassaby and Cook 1994; Bila et al. 1998; Kjær and Wellendorf 1998; Bilir et al. 2002; Kang et al. 2004; Kang et al. 2005) which was dubbed as the 20/80 rule (Anonymous 1976: asserting that 80% of the seed-cone crop is produced by as little as 20% of the parents), coupled with the observed fertility variation over the orchard's developmental stage, environmental conditions and management practices (Lindgren et al. 2004) lead to the conclusion that the genetic composition of any orchard's crop is genetically unique. The observed among years' reproductive output correlations and their variation over time in the present study are consistent with Kang's (2000) findings in a Japanese red pine seed orchard where correlation between years substantially varied (ranging from 0.096 to 0.947 and 0.161 to 0.893 for female and male strobili production, respectively). This scenario demonstrates that reproductive output assessments made on existing orchard for any particular year or even over multiple years are unreliable in predicting the genetic composition of future seed crops.

Another option to balance genetic gain and diversity is the practicing of selective seed-cone harvesting where seeds are collected from higher breeding value clones (Lindgren and El-Kassaby 1989; Kang et al. 2001). This approach has a positive impact on the level of genetic gain of the resulting seed crops due to the fact that seed collection was restricted to high breeding value clones, diversity is also expected to increase since no control is imposed on pollen donors; however, the genetic gain may be negatively affected if contamination from background pollen sources is substantial. Bila et al. (1999) and Kang and El-Kassaby (2002) suggested keeping the female contribution equal to maximize the genetic diversity. This specific case of selective seed harvesting is an option that considerably reduces relatedness in the orchard crop and thus effectively maintains high genetic diversity; however, it leaves substantial amounts of seed to be left unused and also faces some constraints set by the least fertile clones, thus it seems to be inappropriate in some situations (Kang et al. 2003). The optimization approach developed in this study offers a situation whereby a specific year's cone crop can be stratified by selecting certain proportions of seeds and thus creating new optimal mixtures from the original crop. These created seedlots are expected to be optimal in terms of maximum possible genetic gain at a specified minimum desired level of genetic diversity.

To demonstrate the conceptual idea of the developed optimization mode and its features, we used data from one western larch seed orchard. Scenarios I and II have been chosen to highlight the fact that in orchards with large parental population, meeting preset minimum N_E requirements is easily achieved even when selective harvest is utilized for capturing higher gains. Figs. 1 & 2 show multiple models corresponding to various combinations of maximized genetic gain at a given N_E . It should be pointed out that while the optimization produces various proportional contributions on the female parents (i.e., the amount of seed from a particular clone entering the seedlot); the male component is also simultaneously considered. Furthermore, although the proposed approach results in the utilization of only a subset of the seed crop based on a preset selection criterion, the unused portion of the seed crop is still usable and its properties in terms of the genetic gain and diversity are known. For instance, in 2006, the remaining seed after selective seed harvest attained

$N_{E\ min}$ of 10 in nearly all possible portions (Fig. 4). If seed selection is done to attain high genetic gain differential relative to the original crop, then the remaining seed portion will be substantial and its genetic diversity will be high due to its large number of contributing female and male parents.

As to the comparison among the three approaches tested in the present study, there seems to be a substantial difference between Model (a) on one side and Models (b) and (c) on the other (see Fig. 2 for details). Notwithstanding the significant male-female reproductive output correlation, it appears that consideration of the male and female gametic contribution into the optimization is relevant for obtaining more reliable estimates of genetic gain and diversity. The observed small differences between Models (b) and (c) in 2005 and 2006 may suggest that estimating pollen production solely based on clone size seems to be sufficient and relatively accurate for these two years; however, this approach can be misleading in other years such as 2004 (Fig. 2). Moreover, the estimates of genetic diversity will nearly always be overestimated.

Most studies concerned with estimating genetic gain and diversity of seed orchards' crops have been limited to first generations seed orchards. However, it has recently become obvious that omitting genetic relatedness among clones is no longer sustainable in seed orchards management and that an improvement of the theory of handling advanced generation material is needed (Prescher 2007). For instance, in a teak stand Bila et al. (1998) demonstrated rapid increase in group co-ancestry over 10 generations when the population size and fertility variation (as observed in the stand) were kept constant over generations. The steepest increase in group co-ancestry was observed with male-female fertilities variation while reduced variation was observed under equal fertility yielding effective population size decline to only ca 6 and 12% of the original population size, respectively.

We expect that this optimization approach will be particularly advantageous in situations where seed crops exceed need, which offers an opportunity to create seedlots with various gain levels to matching specific sites productivity. In the former instance, the increase in

the genetic response is secured by using seed produced from the higher breeding value clones while the latter would offer a tool to more extensive site management. The surplus unused seed can still be utilized if it meets the established minimum genetic diversity and in situations where mixing of surpluses from multiple years is possible. In these cases, the same optimization protocol could be used to design crops with desired genetic gain and diversity. We believe that the optimization protocol is suitable for maximizing the genetic gain at any preset diversity considering the level of relatedness between clones. As presented in Fig. 3, even a moderate level of relatedness may have a considerable effect on the genetic constitution (gain and diversity) of the resulting seed crops. This situation should be therefore taken into consideration specifically in advanced generation orchards where the build-up of co-ancestry is expected. Finally, this optimization could extend the lifespan of older orchards through the formation of seed crops with genetic gain exceeding orchards' averages.

Appendix

Theorem 1: Any matrix \mathbf{C} , composed based on any pedigree, is a positive definite matrix with diagonal elements lower than 1.

Proof: Let us show this attribute using mathematical induction over the dimension of the matrix \mathbf{C} . Offspring will be added gradually.

1. The upper-left submatrix of the matrix \mathbf{C} corresponding to the parental generation has $\frac{1}{2}$ on diagonal and 0 off diagonal. It is thus positive definite and its diagonal elements are less than 1.
2. Suppose we know that the upper-left submatrix of order “ $d \times d$ ” of the matrix \mathbf{C} is positive definite and its diagonal elements are lower than 1. Let us denote this submatrix as \mathbf{D} and a submatrix, which has one more row and one more column (thus it is of order “ $d+1 \times d+1$ ”), as \mathbf{Q} . An individual i appears, the parents of which are g and h .

(a) The new diagonal element is

$$\mathbf{Q}_{d+1,d+1} = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \mathbf{D}_{g,h} < \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1.$$

(b) The matrix \mathbf{Q} is unambiguously derived from the matrix \mathbf{D} . The derivation can be expressed as follows:

$$\mathbf{Q} = \mathbf{M}^T \mathbf{D} \mathbf{M} + \mathbf{\Delta},$$

where

$$\mathbf{M} = \left(\mathbf{I} \mid \frac{1}{2} \delta_g + \frac{1}{2} \delta_h \right);$$

\mathbf{I} is the identity matrix, i.e., it has 1 on diagonal and 0 off diagonal;

δ_j is a column vector, the j^{th} element of which is 1 and all other elements are 0;

$\mathbf{\Delta}$ is a null matrix except for the last diagonal element which equals

$$\Delta_{d+1,d+1} = \frac{1}{2} + \frac{1}{2}\mathbf{D}_{g,h} - \frac{1}{4}(\mathbf{D}_{g,g} + 2\mathbf{D}_{g,h} + \mathbf{D}_{h,h}) = \frac{1}{2} - \frac{1}{4}(\mathbf{D}_{g,g} + \mathbf{D}_{h,h}).$$

Diagonal elements of the matrix \mathbf{D} are lower than 1, thus $\Delta_{d+1,d+1} > 0$. Now we will prove the positive definiteness of the matrix \mathbf{Q} . Let us consider a non-zero column vector $\eta = \begin{pmatrix} \xi \\ c \end{pmatrix}$ where ξ is a vector consisting of d elements and c is a number.

- If $c = 0$ then $\xi \neq 0$ and

$$\eta^T \mathbf{Q} \eta = \xi^T \mathbf{D} \xi > 0.$$

- If $c \neq 0$ then

$$\begin{aligned} \eta^T \mathbf{Q} \eta &= \eta^T (\mathbf{M}^T \mathbf{D} \mathbf{M} + \Delta) \eta \\ &= \eta^T \mathbf{M}^T \mathbf{D} \mathbf{M} \eta + c^2 \Delta_{d+1,d+1} \\ &\geq c^2 \Delta_{d+1,d+1} > 0 \end{aligned}$$

The matrix \mathbf{Q} is therefore positive definite.

Using mathematical induction we have proved that \mathbf{C} is a positive definite matrix with diagonal elements lower than 1.

Q.E.D

Acknowledgement

This work is partially funded by the Grant Agency of the Czech Republic #521/07/P337 (M.L) and #201/08/0486 (P.L.), the Ministry of Education Youth and Sports of the Czech Republic #MSM0021620839) (P.L.), the National Science and Engineering Research Council of Canada (Y.A.E.), and the Forest Genetics Council of British Columbia (Y.A.E.).

Literature cited

- Anonymous (2002) The MOSEK.NET API manual. Version 4.0 (Revision 60). Mosek ApS. Denmark, 341 pp.
- Anonymous (1976) Twentieth annual report on cooperative tree improvement and hardwood research program. North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- Askew GR (1988) Estimation of gamete pool compositions in clonal seed orchards. *Silvae Genet* 37:227–232.
- Bila AD, Lindgren D, and Mullin TJ (1999) Fertility variation and its effect on diversity over generations in a teak plantation (*Tectona grandis* L.f.). *Silvae Genet* 48:109–114.
- Bilir N, Kang KS, and Ozturk H (2002) Fertility variation and gene diversity in clonal seed orchards of *Pinus brutia*, *Pinus nigra* and *Pinus sylvestris* in Turkey. *Silvae Genet* 51:112–115.
- Bondesson FL and Lindgren D (1993) Optimal utilization of clones and genetic thinning of seed orchards. *Silvae Genet* 42:157–163.
- Burczyk J. and Chalupka V (1997) Flowering and cone production variability and its effect on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Ann Sci For* 54:128–144.
- Caron GE and Powell GD (1989) Patterns of seed-cone and pollen-cone production in young *Picea mariana* trees. *Can J For Res* 19:359–364.
- Cockerham C (1967) Group inbreeding and coancestry. *Genetics* 56:89–104.
- El-Kassaby YA and Askew GR (1991) The relation between reproductive phenology and output in determining the gametic pool profile in a Douglas-fir seed orchard. *For Sci* 37:827–835.
- El-Kassaby YA, Fashler AMK, and Sziklai O (1984) Reproductive phenology and its impact on genetically improved seed production in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genet* 33:120–125.

- El-Kassaby YA and Ritland K (1986) The relation of outcrossing and contamination to reproductive phenology and supplemental mass pollination in a Douglas-fir seed orchard. *Silvae Genet* 35:240–244.
- El-Kassaby YA and Cook C (1994) Female reproductive energy and reproductive success in a Douglas-fir seed orchard and its impact on genetic diversity. *Silvae Genet* 43:243–246.
- El-Kassaby YA, Fashler AMK and Crown M (1990) Variation in fruitfulness in a Douglas-fir seed orchard and its effect on crop-management decisions. *Silvae Genet* 38:113–121.
- El-Kassaby YA and Reynolds S (1990) Reproductive phenology, parental balance and supplemental mass pollination in a Sitka spruce seed orchard. *Forest Ecol Manag* 31:45–54.
- Emik LO and Terrill CE (1949) Systematic procedures for calculating inbreeding coefficients. *J Heredity* 40:51–55.
- Eriksson G, Johnsson A and Lindgren D (1973) Flowering in a cone trial of *Picea abies* Karst. *Studia Forestalia Suecica* 110, 45pp.
- Gilpin ME and Soulé ME (1986) Minimum viable populations: processes of species extinction. In Soulé ME (ed.) *Conservation biology: the science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Griffin AR (1982) Clonal variation in radiata pine. I. Some flowering, cone and seed production traits. *Australian Forest Research* 12:295–302.
- Kang KS (2000) Clonal and annual variation of flower production and composition of gamete gene pool in a clonal seed orchard of *Pinus densiflora*. *Can J For Res* 30:1275–1280.
- Kang KS and El-Kassaby YA (2002) Considerations of correlated fertility between genders on genetic diversity: the *Pinus densiflora* seed orchard as a model. *Theor Appl Genet* 105:1183–1189.

- Kang KS, Kjær ED and Lindgren D (2003) Balancing gene diversity and nut production in *Corylus avellana* collections. *Scand J For Res* 18:118–126.
- Kang KS and Lindgren D (1998) Fertility variation and its effect on the relatedness of seeds in *Pinus densiflora*, *Pinus thunbergii* and *Pinus koraiensis* clonal seed orchards. *Silvae Genet* 47:196–201.
- Kang KS and Lindgren D (1999) Fertility variation among clones of Korean pine (*Pinus koraiensis* S. et Z.) and its implications on seed orchard management. *For Genet* 6:191–200.
- Kang KS, Lindgren D, and Mullin, TJ (2001) Prediction of genetic gain and gene diversity in seed orchard crops under alternative management strategies. *Theor Appl Genet* 103:1099–1107.
- Kang KS, Lindgren D, and Mullin TJ (2004) Fertility variation, genetic relatedness, and their impacts on gene diversity of seeds from a seed orchard of *Pinus thunbergii*. *Silvae Genet* 53:202–206.
- Kjær ED (1996) Estimation of effective population number in a *Picea abies* (Karst.) seed orchard based on flower assessment. *Scand J For Res* 11:111–121.
- Kjær ED and Wellendorf H (1998) Studies on the effect of unequal flowering on the effective population number in Danish seed orchard crops. *Forest Tree Improvement* 26:1–9.
- Lindgren D, Cui J, Son SG and Sonesson J (2004) Balancing seed yield and breeding value in clonal seed orchards. *New Forests* 28:11–22.
- Lindgren D and El-Kassaby YA (1989) Genetic consequences of combining selective cone harvesting and genetic thinning in clonal seed orchards. *Silvae Genet* 38:65–70.
- Lindgren D, Gea LD and Jefferson PA (1996) Loss of genetic diversity monitored by status number. *Silvae Genet* 45:52–59.
- Lindgren D and Matheson AC (1986) An algorithm for increasing the genetic quality of seed from seed orchards by using the better clones in higher proportions. *Silvae Genet* 35:173–177.

- Lindgren D and Mullin TJ (1998) Relatedness and status number in seed orchard crops. *Can J For Res* 28:276–283.
- Malécot G (1948) *Les mathématiques de l'hérédité*. Masson, Paris. 65pp.
- Matziris D (1994) Genetic variation in the phenology of flowering in black pine. *Silvae Genet* 43:321–328.
- Moriguchi Y, Taira H, Tani N and Tsumura Y (2004) Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomeria japonica* determined using microsatellite markers. *Can J For Res* 34:1683–1690.
- Nikkanen T and Velling P (1987) Correlations between flowering and some vegetative characteristics of grafts of *Pinus sylvestris*. *Forest Ecol Manag* 19:35–40.
- Prescher F (2007) Seed orchards - genetic considerations on function, management and seed procurement. Doctoral Dissertation No. 2007:75. Swedish University of Agricultural Sciences, Umeå.
- Prescher F, Lindgren D and El-Kassaby YA (2006) Is linear deployment of clones optimal under different clonal outcrossing contributions in seed orchards? *Tree Genetics & Genomes* 2:25–29.
- Prescher F, Lindgren D and Karlsson B (2008) Genetic thinning of clonal seed orchards using linear deployment may improve both gain and diversity. *Forest Ecol Manag* 254:188–192.
- Roberds JH, Friedman ST and El-Kassaby YA (1991) Effective number of pollen parents in clonal seed orchards. *Theor Appl Genet* 82:313–320.
- Savolainen O, Karkkainen K, Harju A, Nikkanen T and Rusanen M (1993) Fertility variation in *Pinus sylvestris*: a test of sexual allocation theory. *Am J Bot* 80:1016–1020.
- Slavov GT, Howe GT and Adams WT (2005) Pollen contamination and mating patterns in a Douglas-fir seed orchard as measured by simple sequence repeat markers. *Can J For Res* 35:1592–1603.

- Son SG, Kang KS, Lindgren D and Hyun JO (2003) Qualification for the value of seed orchard considering breeding value and seed productivity. *J Korean Forest Assoc* 91:601–608.
- Stoehr M, Webber J and Woods J (2004) Protocol for rating seed orchard seedlots in British Columbia: quantifying genetic gain and diversity. *Forestry* 77:297–303.
- Woods JH (2005) Methods for estimating gamete contributions to orchard seed crops and vegetative lots in British Columbia. B.C. Ministry of Forests and Range, Technical report 025. 17pp.
- Xie CY and Knowles P (1992) Male fertility variation in an open-pollinated plantation of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Can J For Res* 22:1463–1468.
- Xie CY, Woods J and Stoehr M (1994) Effects of seed orchard inputs on estimating effective population size of seedlots – a computer simulation. *Silvae Genet* 43:145–154.
- Yanchuk, AD (2001) A quantitative framework for breeding and conservation of forest tree genetic resources in British Columbia. *Can J For Res* 31:566-576.

Table 1. Pearson's correlation coefficients between female (below diagonal), male (above diagonal), and between male and female fertilities (diagonal). (N= 27, r critical value = 0.330 ($\alpha = 0.05$) and 0.453 ($\alpha = 0.01$)) (^{ns}not significant, *significant, **highly significant).

Year	2004	2005	2006
2004	0.62**	0.50**	0.60**
2005	0.36*	0.48**	0.77**
2006	0.83**	0.28 ^{ns}	0.62**

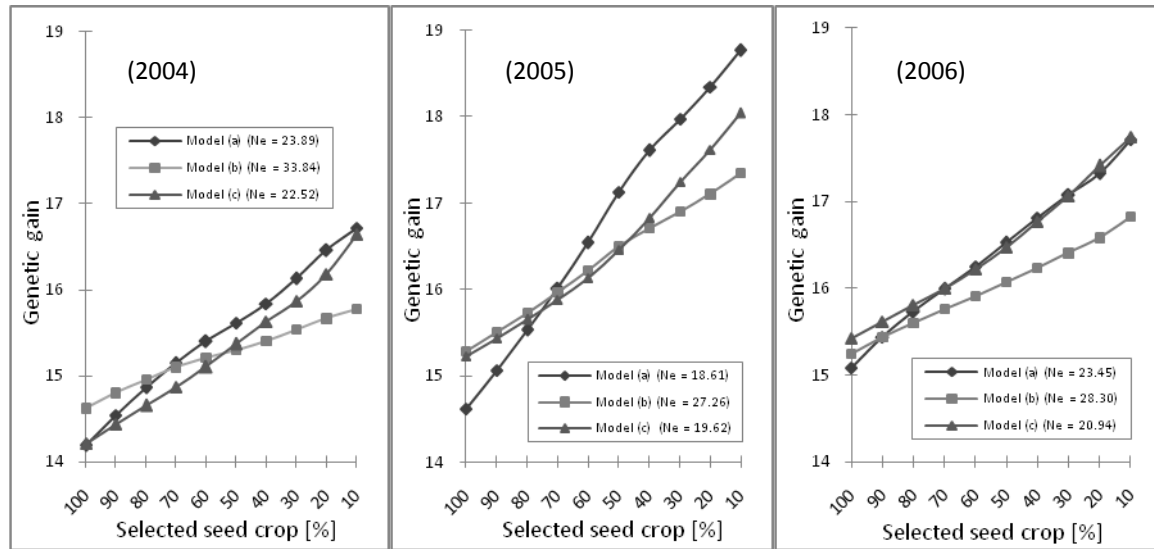


Figure 1. Genetic gain estimates for western larch seed orchard over three years (2004 - 2006) after a stepwise exclusion of low breeding value seed following Scenario I (effective population size equals to that of the original seed crop). Curves represent results from the three different models applied (a- male and female reproductive equality, b- male as a function of clone size, and c- actual data).

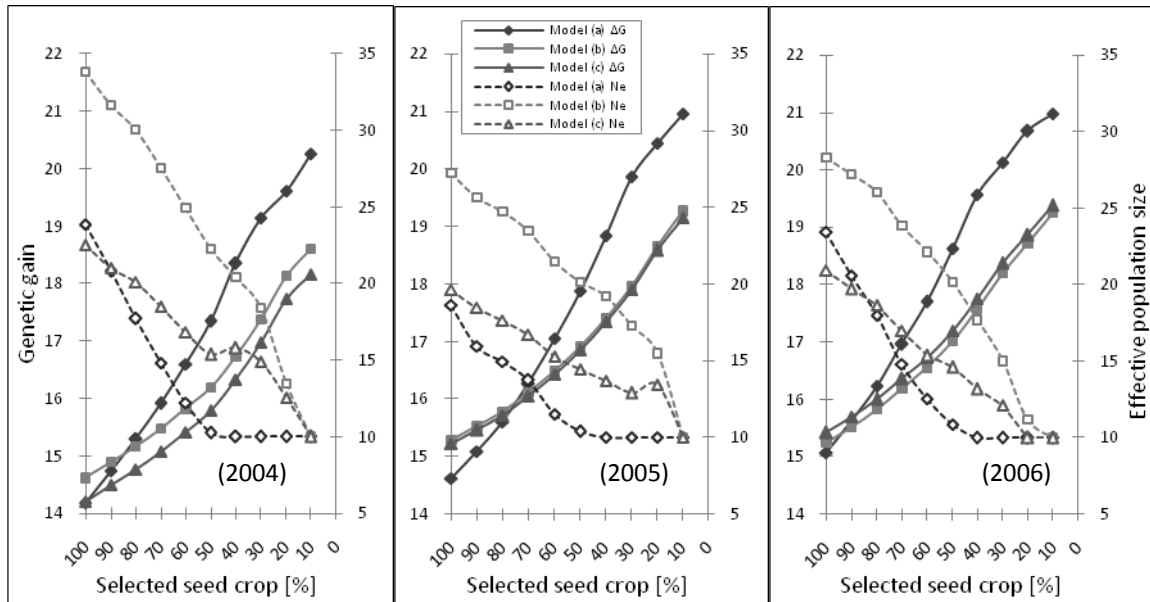


Figure 2. Genetic gain (left axes, solid markers) and corresponding effective population sizes (right axes, open markers) in a western larch seed orchard over three years (2004 - 2006) after a stepwise exclusion of low breeding value of seed following Scenario II (minimum effective population size of 10). The three pairs of curves in each year represent results from the three different models applied (a- male and female reproductive equality, b- male as a function of clone size, and c- actual data).

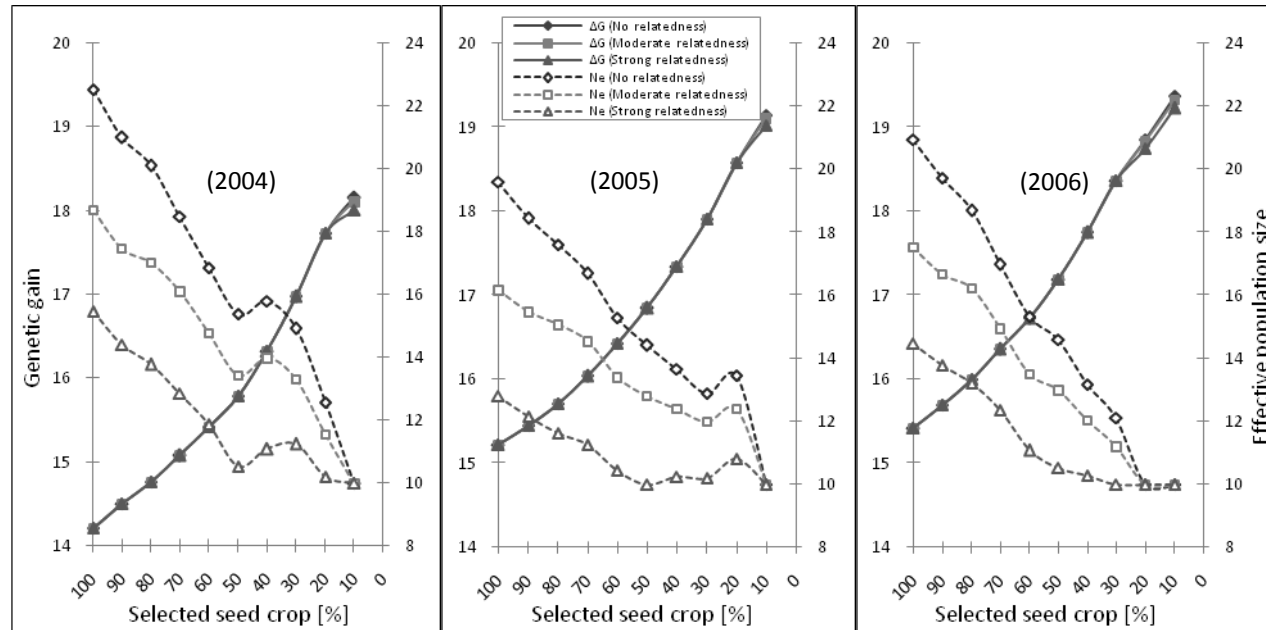


Figure 3. Genetic gain (left axes, solid markers) and corresponding effective population size (right axes, open markers) in a western larch seed orchard over three years (2004 - 2006) after a stepwise selection following Model (c). The three pairs of curves represent no, moderate and strong relatedness among clones as specified in the Materials and Methods (hypothetical scenario).

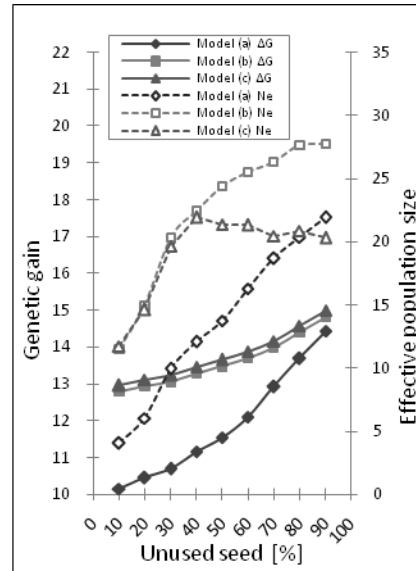


Figure 4. Genetic gain (left axis, solid markers) and corresponding effective population sizes (right axis, open markers) of the 2006 unused seed generated from the optimization in a western larch seed orchard following Scenario II. The three pairs of curves represent results from the three different models applied (a- male and female reproductive equality, b- male as a function of clone size, and c- actual data).