

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH  
INFORMACÍ

**GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ**  
**GENETICS AND PLANT BREEDING**

**4**

ROČNÍK 29 (LXVI)  
PRAHA 1993  
ISSN 0862-8629

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD  
SLOVENSKÁ AKADÉMIA PŮDOHOSPODÁRSKYCH VIED

# GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ

## GENETICS AND PLANT BREEDING

---

### REDAKČNÍ RADA – EDITORIAL BOARD

#### Předseda – Head of the Editorial Board

Ing. Martin Užík, CSc.

#### Členové redakční rady – Members of the Editorial Board

doc. ing. Jiří F o l t ý n, DrSc.

prof. ing. Oldřich C h l o u p e k, DrSc.

ing. Alois J i r s á k, CSc.

ing. Josef P e š e k, DrSc.

ing. Marie R a s o c h o v á, CSc.

prof. ing. Jan R o d, DrSc.

ing. Václav Š í p, CSc.

ing. Jaroslav Š p u n a r, CSc.

RNDr. Dana Š u b o v á, CSc.

ing. Jaroslav T u p ý, DrSc.

ing. Alžběta Ž o f a j o v á, CSc.

#### Vedoucí redaktorka – Editor-in-chief

MVDr. Eva M a c h e j o v á

© Institute of Agricultural and Food Information, Prague 1993

Contact address: Slezská 7, CS-120 56 Prague 2, Czech Republic, tel. 251 098

Genet. a šlecht., 29, 1993 (4) : 245-320

## HODNOCENÍ MEXICKÝCH ODRŮD PŠENIC JARNÍCH Z HLEDISKA JAKOSTI ZRNA, JEHO VÝNOSU A VÝŠKY ROSTLIN

*Evženie KOSTKANOVÁ, Zdeněk STEHNO, Martin MANEV*

*Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně*

Mexické odrůdy a novošlechtění pšenice jarní (55 odrůd) a jedna československá kontrolní odrůda Sandra byly sledovány v letech 1990 a 1991 v pokusu v řepařské výrobní oblasti se subtypem řepařsko-pšeničným. V příspěvku jsou uvedeny výsledky obsahu hrubých bílkovin v sušině zrna, mikrosedimentační hodnoty šrotu (SDS-test), mokrého lepku v mouce, jeho bobtnavosti a tažnosti, pekařské hodnoty doplněné o výnosy zrna, hmotnost 1000 zrn a výšku rostlin, získané podle obvyklých metod a postupů. V hodnotách všech zjišťovaných charakteristik se projevil vliv ročníků. Nejmenší variabilita v souboru byla zjištěna u obsahu hrubých bílkovin a největší u bobtnavosti a tažnosti mokrého lepku. Nejvyšších průměrných hodnot za oba roky dosáhly u hrubých bílkovin odrůda Calidad 18,7 g ve 100 g suš. zrna, u mikrosedimentační hodnoty šrotu rovněž odrůda Calidad 8,7 ml, u obsahu mokrého lepku v mouce odrůda Thornbird „S“ 45,0 g ve 100 g, u bobtnavosti mokrého lepku odrůda Chiroca „S“ 16,0 ml, u pekařské hodnoty nšl. K (ML)7406(BITHOOR)//Maya „S“ 76,5 bodů, nejtažnější byl lepek u nšl. TSI/VEE 5 „S“ 21 cm, výnos sušiny zrna u československé odrůdy Sandra 6,5 t/ha, hmotnost 1000 zrn u nšl. JUP/BJY „S“/PRL „S“ 50,2 g a u výšky rostlin odrůda Ani „S“ 111,0 cm. Kromě výnosu zrna se naše odrůda Sandra v souboru svými hodnotami projevila jako průměrná.

pšenice jarní; zrno; jakost nutriční a technologická; hrubé bílkoviny; mikro-SDS-test; mokřý lepek; pekařská hodnota; výnos zrna; hmotnost 1000 zrn; výška rostlin

Ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v oddělení genové banky se hodnotí vybrané soubory odrůd a novošlechtění našeho a světového sortimentu pšeníc pro zjištění jejich vlastností a případné následné využití ve šlechtitelských programech.

Odrůdy pšenice vyšlechtěné v Mezinárodním centru pro šlechtění kukuřice a pšenice (CIMMYT) v Mexiku tvoří velice významnou skupinu genetických zdrojů této plodiny. Byly vyšlechtěny ne pro konkrétní klimatické podmínky té které země, ale naopak s cílem jejich využití v co nejširším spektru klimatických podmínek různých zeměpisných oblastí. Splnění tohoto cíle umožnilo především cílevědomé vnášení genů necitlivosti k fotoperiodě do nově vytvářených genotypů, do kterých byly dále zabudovány geny podmiňující odolnosti ke stresům (biotickým a abiotickým) a další cenné hospodářské vlastnosti.

Mexické odrůdy pšenice jarní jsme proto vyčlenili do zvláštního souboru a jako československou kontrolní odrůdu jsme zvolili odrůdu Sandra, k jejímuž vyšlechtění byly mexické pšenice využity, a která svým typem těmto odrůdám velice dobře odpovídá.

V předkládaném příspěvku hodnotíme tento soubor po stránce nutriční a technologické jakosti zrna doplněné o jeho výnos, hmotnost 1000 zrn a výšku rostlin. Navazujeme na naše předcházející práce zabývající se metodami stanovení ukazatelů kvality zrna (K o s t k a n o v á et al., 1989), přímým hodnocením různých vybraných souborů jarních pšenic (K o s t k a n o v á, S t e h n o, 1989; K o s t k a n o v á et al., 1992) a hodnocení odrůd pro vydání jejich katalogu (Š k o r p í k et al., 1991).

### MATERIÁL a METODY

Pokus s 55 mexickými odrůdami a novošlechtěními pšenice jarní a s jednou československou kontrolní odrůdou Sandra byl založen na pokusných polích VÚRV v Praze-Ruzyni v letech 1990 a 1991. Jedná se o výrobní oblast řepařskou se subttypem řepařsko-pšeničným. Půda je hlinito-jílovitá a klima mírně teplé a mírně vlhké. Základní meteorologické údaje jsou uvedeny v tab. I. Agrotechnika byla obvyklá pro danou plodinu v zkoušené oblasti a pro všechny odrůdy a novošlechtění jednotná. Předplodinami byly v obou letech luskovino-obilné směsky. Předsetově bylo hnojeno N - 65, P - 48, K - 90 kg č. ž. /ha a produkčně N - 20 kg č. ž./ha. Byly aplikovány herbicidy Glean 75 DF (10 g/ha) a Syncuran (1 kg/ha). Výsevy byly uskutečněny 14. 3. 1990 a 19. - 25. 3. 1991 a sklizně I. Základní meteorologické údaje v pokusných letech 1990 a 1991 (leden až srpen) – Basic meteorological data in the experimental years 1990 and 1991 (January to August)

Rok <sup>1</sup>	Měsíc <sup>2</sup>	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	1. - 8.
1990	$\Sigma$ srážky <sup>3</sup> (mm)	9,2	14,3	14,3	41,3	38,2	50,6	2,6	58,2	228,7
	$\bar{x}$ teplota <sup>4</sup> (°C)	0,5	3,9	5,8	5,5	13,7	15,6	16,9	19,3	10,2
1991	$\Sigma$ srážky (mm)	2,0	14,9	16,8	47,3	55,0	81,6	52,6	29,8	300,0
	$\bar{x}$ teplota (°C)	1,5	-4,3	5,7	7,4	9,1	15,7	21,2	20,5	9,6
Ø 50 let <sup>5</sup>	$\Sigma$ srážky (mm)	20,0	18,0	24,0	40,0	53,0	61,0	69,0	78,0	363,0
	$\bar{x}$ teplota (°C)	-1,0	0	3,9	8,5	14,0	17,0	18,9	17,8	9,9

<sup>1</sup>year; <sup>2</sup>month; <sup>3</sup>precipitations; <sup>4</sup>temperature; <sup>5</sup>50-year average

provedeny 3. - 4. 8. 1990 a 17. - 19. 8. 1991. Rozměry sklizňových parcelek byly 4 m<sup>2</sup>.

### Použité metody:

- obsah hrubých bílkovin dle Kjeldahla na přístrojové lince Kjeltec Auto System II. švédské firmy Tecator, přepočítávací faktor pro hrubé bílkoviny 5,7; výsledky uvedeny v sušině zrna;
- mikrosedimentační hodnota šrotu (mikro-SDS-test) za použití dodecylsulfátu sodného (H ý ž a, 1986);
- obsah mokrého lepku v mouce za použití Glutomatic Systemu firmy Falling Number ze Švédska (ICC norma č. 137);
- bobtnavost lepku podle Berlinera v Horelově úpravě (H o r e l, 1956);
- pekařská hodnota podle Prugara (P r u g a r, 1959; P r u g a r et al., 1959);
- tažnost mokrého lepku za pomoci pravítka;
- výnos zrna, hmotnost 1000 zrn a výška rostlin zjišťovány podle obvyklých postupů. Výnos zrna je uveden v sušině (pro možný propočet výnosů hrubých bílkovin z jednotky plochy).

### VÝSLEDKY a DISKUSE

Výsledky zjištěné u sledovaného souboru jsou uvedeny v tab. II (ukazatelé nutriční a pekařské technologické jakosti) a v tab. III (výnos zrna, hmotnost 1000 zrn a výška rostlin) se základním statistickým hodnocením podle Škorpíka (Š k o r p í k, 1965). Pro rozsáhlost materiálu není možno se vyjadřovat ke všem odrůdám a novošlechtěním a budeme se zmiňovat pouze o některých.

Na celkových průměrných hodnotách jednotlivých let se projevil vliv ročníků. Tento fakt lze zdůvodnit podmínkami pěstování, které během vegetačního období rostliny měly. V roce 1990 po mírné zimě bylo možno provést raný výsev. Porosty dobře vzešly, odnožily a chladnější počasí v květnu a červnu zajistilo jejich dobrý růst a vývoj. Chladněji bylo i v červenci, a tím bylo dozrávání zrna pozvolnější. Výnosy sušiny zrna i výšky rostlin byly v tomto roce vyšší, ale ukazatele kvality zrna dosahovaly převážně nižších hodnot (zředřovací efekt). Zřetelněji vyšší byly pouze výsledky bobtnavosti mokrého lepku, která je však hlavně odrůdovou vlastností, méně ovlivnitelnou podmínkami prostředí. Rok 1991 se lišil od předcházejícího hlavně vyššími teplotami v měsíci červenci. Vlivem těchto teplot, ve srovnání s předcházejícím rokem, se urychlilo dozrávání, a to mělo nejpravděpodobněji za následek snížení výnosů sušiny zrna, výšek rostlin a zvýšení většiny hodnot ukazatelů jeho jakosti. Hmotnost 1000 zrn však byla v průměru vyšší (to znamená, vzhledem k výnosům, nasazení nižšího počtu zrna, které dosáhlo větších velikostí). Uvedené ovlivněných hodnotách ročníkem

II. Nutriční a technologická jakost zrna odrůd a novošlechtění pšeníc jarních původem  
technological quality of grain of spring wheats native to Mexico and of the control Czecho-

Pořadové číslo	Odrůda <sup>1</sup> /novošlechtění <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Hrubé bílkoviny v sušině zrna <sup>4</sup> (g ve 100 g)			Mikrosedimentační hodnota šrotu <sup>5</sup> (ml)		
			1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
1.	Ani „S“	MEX	16,7	16,5	16,6	8,4	7,4	7,9
2.	Antbird „S“	MEX	15,2	17,6	16,4	6,0	6,9	6,5
3.	Baya „S“	MEX	15,2	18,5	16,9	7,9	7,4	7,7
4.	Bluejay	MEX	14,1	17,6	15,9	7,7	7,1	7,4
5.	Bluetit „S“	MEX	13,8	14,5	14,2	6,5	5,5	6,0
6.	Bobito „S“	MEX	14,1	15,1	14,6	6,6	7,0	6,8
7.	Bobolink	MEX	14,4	16,4	15,4	7,2	7,2	7,2
8.	Bollilo „S“	MEX	13,6	15,1	14,4	6,2	6,2	6,2
9.	Bolsena „S“	MEX	14,3	17,1	15,7	7,5	7,2	7,4
10.	BOW/YD „S“/ZZ „S“	MEX	15,2	18,2	16,7	8,2	7,4	7,8
11.	Calidad	MEX	16,4	20,9	18,7	8,9	8,4	8,7
12.	Ciano T 79	MEX	13,6	14,0	13,8	6,5	5,9	6,2
13.	CNO 79/PRL „S“	MEX	14,9	17,9	16,4	7,7	6,6	7,2
14.	Complex	MEX	14,2	16,2	15,2	6,9	7,4	7,2
15.	Crow „S“	MEX	14,0	15,8	14,9	7,4	6,3	6,9
16.	Dove „S“/BUC „S“ (1)	MEX	16,6	19,2	17,9	7,2	7,0	7,1
17.	Dove „S“/BUC „S“ (2)	MEX	15,6	18,9	17,3	7,8	7,2	7,5
18.	Flycatcher	MEX	13,3	16,4	14,9	8,8	7,7	8,3
19.	Gavilan	MEX	13,4	15,4	14,4	7,3	7,1	7,2
20.	Gim „S“	MEX	13,3	15,1	14,2	5,1	5,3	5,2
21.	Guasave F 81	MEX	13,8	14,9	14,4	6,0	5,3	5,7
22.	Hoopoe	MEX	15,4	15,2	15,3	5,7	4,6	5,2
23.	Huasteco M 81	MEX	14,3	14,9	14,6	7,7	6,7	7,2
24.	Chapingo 74	MEX	13,8	16,3	15,1	8,1	6,5	7,3
25.	Chiroca „S“	MEX	12,9	14,8	13,9	7,1	7,2	7,2
26.	JUP/BJY „S“/PRL „S“	MEX	15,8	18,0	16,9	7,5	6,9	7,2
27.	Kauz „S“ (34)	MEX	12,8	16,6	14,7	4,9	5,5	5,2
28.	Kauz „S“ (54)	MEX	13,1	16,7	14,9	5,2	5,2	5,2
29.	Kea	MEX	14,1	15,7	14,9	5,7	5,4	5,6
30.	K(ML)7406(BITHOOR)/Maya „S“	MEX	15,8	19,4	17,6	8,0	7,3	7,7
31.	K134(60)/4/TOB/BMAN/BB/3/CAL	MEX	15,2	17,1	16,2	7,4	6,6	7,0
32.	Lira	MEX	14,3	17,6	16,0	6,0	5,2	5,6
33.	Lira „S“	MEX	13,7	16,6	15,2	5,4	5,5	5,5
34.	Mor „S“	MEX	13,5	15,0	14,3	6,8	7,3	7,1

z Mexika a kontrolní československé odrůdy Sandra v letech 1990 a 1991 – Nutritive and slovak variety Sandra in 1990 and 1991

Mokrý lepek v mouce <sup>6</sup> (g ve 100 g)			Bobtnavost mokrého lepku <sup>7</sup> (ml)			Pekařská hodnota <sup>8</sup> (body)			Tažnost mokrého lepku <sup>9</sup> (cm)		
1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
37,0	40,0	38,5	2	3	3,0	42,5	49,0	45,8	14	20	17,0
29,0	39,0	34,0	11	11	11,0	64,0	75,1	69,6	7	7	7,0
32,0	42,0	37,0	11	7	9,0	68,0	65,0	66,5	6	9	8,0
32,0	42,0	37,0	4	4	4,0	44,0	54,7	49,4	13	8	11,0
31,0	40,0	35,5	6	1	4,0	50,0	41,0	45,5	12	18	15,0
29,0	33,0	31,0	11	10	11,0	64,0	67,0	65,5	8	8	8,0
31,0	38,0	34,5	11	8	10,0	68,0	66,5	67,3	8	10	9,0
24,0	33,0	28,5	11	8	10,0	52,0	61,0	56,5	7	9	8,0
25,0	35,0	30,0	12	12	12,0	56,0	73,5	64,8	8	9	9,0
28,0	40,0	34,0	10	7	9,0	59,5	63,8	61,7	8	12	10,0
34,0	49,0	41,5	10	11	11,0	69,0	81,1	75,1	7	7	7,0
29,5	31,5	30,5	5	7	6,0	41,5	59,3	50,4	9	9	9,0
29,0	45,0	37,0	5	1	3,0	41,5	43,9	42,7	13	22	18,0
31,0	38,0	34,5	9	6	8,0	61,0	59,5	60,3	13	9	11,0
31,0	38,0	34,5	4	5	5,0	42,0	56,5	49,3	9	16	13,0
38,0	48,0	43,0	8	6	7,0	66,8	65,3	66,1	15	8	12,0
34,0	49,0	41,5	9	4	7,0	66,0	58,6	62,3	11	20	16,0
26,0	37,0	31,5	13	10	12,0	58,0	71,5	64,8	5	9	7,0
25,0	36,0	30,5	14	10	12,0	60,0	70,5	65,3	5	8	7,0
30,0	39,0	34,5	4	8	6,0	40,5	67,1	53,8	10	14	12,0
29,0	33,0	31,0	7	9	8,0	50,5	64,0	57,3	15	8	12,0
38,0	39,0	38,5	4	4	4,0	52,0	52,5	52,3	14	26	20,0
31,0	37,0	34,0	11	11	11,0	66,0	73,5	69,8	8	7	8,0
25,0	34,0	29,5	14	8	11,0	60,0	62,5	61,3	6	8	7,0
24,0	35,0	29,5	15	16	16,0	60,0	82,0	71,0	9	6	8,0
38,0	47,0	42,5	6	3	5,0	59,5	53,1	56,3	11	11	11,0
30,0	44,0	37,0	5	5	5,0	44,5	62,2	53,4	13	18	16,0
30,0	43,0	36,5	4	4	4,0	40,5	55,3	47,9	13	9	11,0
32,0	38,0	35,0	8	5	7,0	60,0	56,5	58,3	14	18	16,0
34,0	47,0	40,5	13	10	12,0	75,0	77,9	76,5	8	9	9,0
34,0	46,0	40,0	7	2	5,0	58,0	48,5	53,3	13	14	14,0
32,0	42,0	37,0	5	4	5,0	48,0	54,7	51,4	12	17	15,0
30,0	40,0	35,0	10	7	9,0	64,0	63,8	63,9	12	16	14,0
23,0	33,0	28,0	18	11	15,0	61,0	69,0	65,0	5	7	6,0

Pokračování tabulky II – Table II continue

Pořadové číslo	Odrůda <sup>1</sup> /novošlechtění <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Hrubé bílkoviny v sušině zrna <sup>4</sup> (g ve 100 g)			Mikrosedimentační hodnota šrotu <sup>5</sup> (ml)		
			1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
35.	Myna „S“/VUL „S“	MEX	13,3	14,3	13,8	7,1	7,6	7,4
36.	NAC/TRM	MEX	13,3	14,7	14,0	6,6	5,9	6,3
37.	Neelkant	MEX	15,2	16,6	15,9	7,5	7,3	7,4
38.	Pajonal	MEX	13,7	15,9	14,8	6,7	6,3	6,5
39.	Parula „S“	MEX	14,4	15,0	14,7	6,2	4,5	5,4
40.	PEA „S“	MEX	15,8	19,3	17,5	5,7	5,2	5,5
41.	PF 70354/ALD „S“/MES „S“	MEX	14,2	20,5	17,4	6,8	6,1	6,5
42.	PF 7619/Dove „S“/CEP 7670	MEX	14,3	17,0	15,7	8,1	6,7	7,4
43.	Pheasant „S“	MEX	14,2	16,9	15,6	5,4	5,9	5,7
44.	Pima/Saka//AN „S“	MEX	14,2	16,5	15,4	6,8	5,9	6,4
45.	R 37/GHL 121//KAL//BB/3/KLT,S“	MEX	14,7	17,5	16,1	8,2	7,2	7,7
46.	Sarhad 83	MEX	14,4	15,2	14,8	6,5	5,8	6,2
47.	Spinetail	MEX	15,1	17,2	16,2	5,2	5,3	5,3
48.	SW 55	MEX	14,6	17,0	15,8	6,6	6,0	6,3
49.	Thornbird „S“	MEX	17,4	17,4	17,4	6,6	6,1	6,4
50.	Tonichi „S“ 81	MEX	13,2	14,9	14,1	6,9	6,5	6,7
51.	TSI/VEE 5 „S“	MEX	13,7	15,3	14,5	5,3	4,7	5,0
52.	Tyrant „S“	MEX	15,8	18,7	17,3	7,3	7,2	7,3
53.	VEE 5 „S“/TRAP 1	MEX	13,7	16,2	15,0	7,8	7,5	7,7
54.	VEE „S“/BOW „S“	MEX	14,5	17,4	16,0	5,8	5,3	5,6
55.	Victoria M 81	MEX	13,9	15,5	14,7	8,9	6,8	7,9
56.	Sandra	CSK	14,4	14,5	14,5	7,3	6,4	6,9
	$\bar{x}$		14,4	16,6	15,5	6,9	6,4	6,7
	S		1,0	1,6	1,2	1,0	0,9	0,9
	$\bar{x} \pm S$		13,4- 15,4	15,0- 18,2	14,3- 16,7	5,9- 7,9	5,5- 7,3	5,8- 7,6
	v		6,9	9,6	7,7	14,5	14,1	13,4

<sup>1</sup>variety; <sup>2</sup>advanced line; <sup>3</sup>origin; <sup>4</sup>crude protein in grain dry matter; <sup>5</sup>meal microsedimentation value; <sup>6</sup>wet gluten in flour; <sup>7</sup>wet gluten swelling; <sup>8</sup>baking quality (scores); <sup>9</sup>wet gluten extensibility

Mokrý lepek v mouce <sup>6</sup> (g ve 100 g)			Bobtnavost mokrého lepku <sup>7</sup> (ml)			Pekařská hodnota <sup>8</sup> (body)			Tažnost mokrého lepku <sup>9</sup> (cm)		
1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
26,0	38,0	32,0	14	8	11,0	62,0	66,5	64,3	6	7	7,0
31,0	38,0	34,5	5	2	4,0	46,0	43,0	44,5	14	14	14,0
35,0	40,0	37,5	9	6	8,0	67,0	60,8	63,9	8	12	10,0
28,0	43,0	35,5	13	9	11,0	65,5	72,5	69,0	6	10	8,0
34,0	38,0	36,0	5	3	4,0	53,0	47,0	50,0	14	17	16,0
36,0	47,0	41,5	8	5	7,0	64,5	62,0	63,3	9	14	12,0
36,0	50,0	43,0	7	4	6,0	60,5	59,2	59,9	10	20	15,0
31,0	43,0	37,0	7	4	6,0	53,0	55,3	54,2	16	15	16,0
31,0	39,0	35,0	9	7	8,0	61,0	63,5	62,3	9	16	13,0
32,0	43,0	37,5	6	4	5,0	51,0	55,3	53,2	12	12	12,0
30,0	33,0	31,5	15	10	13,0	74,0	67,0	70,5	10	8	9,0
29,0	34,0	31,5	10	8	9,0	62,0	62,5	62,3	10	14	12,0
37,0	43,0	40,0	2	1	2,0	42,5	42,7	42,6	15	16	16,0
29,0	41,0	35,0	14	9	12,0	70,0	71,3	70,7	7	11	9,0
44,0	46,0	45,0	3	4	4,0	51,6	56,8	54,2	19	14	16,0
26,0	32,0	29,0	10	9	10,0	45,0	62,0	53,5	9	9	9,0
32,0	44,0	38,0	4	2	3,0	43,0	47,3	45,2	15	26	21,0
37,0	48,0	42,5	6	5	6,0	58,5	62,6	60,6	13	17	15,0
23,0	33,0	28,0	15	14	15,0	57,0	76,5	66,8	6	7	7,0
32,0	46,0	39,0	8	4	6,0	59,0	56,8	57,9	12	12	12,0
27,0	35,0	31,0	11	10	11,0	58,5	72,5	65,5	10	20	15,0
31,3	31,5	31,4	11	8	10,0	66,5	55,5	61,0	9	10	10,0
30,9	39,9	35,4	8,7	6,7	8,0	56,9	61,5	59,2	10,4	12,6	11,6
4,3	5,2	4,3	3,9	3,4	3,5	9,4	9,7	8,5	3,3	5,0	3,6
26,6-	34,7-	31,1-	4,8-	3,3-	4,5-	47,5-	51,8-	50,7-	7,1-	7,6-	8,0-
35,2	45,1	39,7	12,6	10,1	11,5	66,3	71,2	67,7	13,7	17,6	15,2
13,9	13,0	12,3	44,8	50,7	43,8	16,5	15,8	14,5	31,7	39,7	31,0

$\bar{x}$  = vážený průměr – weighed mean;  $S$  = směrodatná odchylka – standard deviation;  $\bar{x} \pm S$  = mezní hodnoty – limit values;  $V$  = koeficient variability – coefficient of variability

nebylo však vždy u všech odrůd a nšl. pravidlem, ale značně převažovalo, o čemž svědčí i dosažené mezní hodnoty.

U obsahu hrubých bílkovin bylo rozmezí hodnot od 12,8 g ve 100 g v roce 1990 u odrůdy Kauz „S“ (34) do 20,9 g ve 100 g u odrůdy Calidad v roce 1991. Mikrosedimentační hodnoty se pohybovaly v rozpětí od 4,5 ml u odrůdy Parula „S“ v roce 1991 k nejvyššímu zjištěnému sedimentu 8,9 ml u odrůdy Victoria M 81 v roce 1990. Mokrý lepek byl stanoven v rozmezí od 23,0 g ve 100 g u odrůdy Mor „S“ a VEE 5 „S“/TRAP 1 v roce 1990 k obzvláště vysoké hodnotě 50,0 g ve 100 g u nšl. odrůdy PF 70354/ALD „S“/MES „S“ v roce 1991. Hodnoty bobtnavosti lepku se pohybovaly od 1,0 ml u nšl. CNO 79/PRL „S“ a odrůdy Spinetail v roce 1991 do 18,0 ml u odrůdy Mor „S“ v roce 1990. Pekařská hodnota měla celkové rozmezí od 40,5 bodů u odrůdy Gim „S“ a Kauz „S“ (54) v roce 1990 do 82,0 bodů u odrůdy Chiroca „S“ v roce 1991. Tažnost mokrého lepku kolísala od 5,0 cm u odrůd Gavilan, Flycatcher, Mor „S“ v roce 1990 k 26,0 cm u odrůd Hoopoe a TSI/VEE 5 „S“ v roce 1991. Nejnižší výnos sušiny zrna 2,2 t/ha byl zjištěn v roce 1991 u odrůdy Tyrant „S“ a nejvyšší 6,8 t/ha u kontrolní československé odrůdy Sandra v tomtéž roce. Rozmezí hmotnosti 1000 zrn se pohybovalo od 31,6 g v roce 1990 u odrůdy Guasave F 81 k hodnotě 53,2 g v roce 1991 u odrůdy Bluetit „S“. Výška rostlin byla nejnižší u odrůdy Calidad v roce 1991 63,0 cm a nejvyšší 118,0 cm u odrůdy Ani „S“ v roce 1990.

V následujícím přehledu uvádíme v sestupném pořadí odrůdy a novošlechtění, které dosáhly ve zkoušeném souboru u jednotlivých ukazatelů jakosti zrna, jeho výnosu, hmotnosti 1000 zrn a výšky rostlin nadprůměrných hodnot získaných jako průměr z obou let.

#### **Hrubé bílkoviny (g ve 100 g suš. zrna):**

Calidad 18,7; Dove „S“/BUC „S“ (1) 17,9; K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“ 17,6; PEA „S“ 17,6; PF 70354/ALD „S“/MES „S“ 17,4; Thornbird „S“ 17,4; Tyrant „S“ 17,3; Dove „S“/BUC „S“ (2) 17,3; Baya „S“ 16,9; JUP/BJY „S“/PRL „S“ 16,9; BOW/YD „S“/ZZ „S“ 16,7 (spodní hranice nadprůměrnosti 16,7).

#### **Mikrosedimentační hodnota šrotu (ml):**

Calidad 8,7; Flycatcher 8,3; Ani „S“ 7,9; Victoria M 81 7,9; BOW/YD „S“/ZZ „S“ 7,8; K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“ 7,7; Baya „S“ 7,7; R 37/GHL 121//KAL/BB/3/KLT „S“ 7,7; VEE 5 „S“/TRAP 1 7,7 (spodní hranice nadprůměrnosti 7,6).

#### **Mokrý lepek v mouce (g ve 100 g):**

Thornbird „S“ 45,0; Dove „S“/BUC „S“ (1) 43,0; PF 70354/ALD „S“/MES „S“ 43,0; JUP/BJY „S“/PRL „S“ 42,5; Tyrant „S“ 42,5; Calidad 41,5; Dove „S“/BUC „S“ (2) 41,5; PEA „S“ 41,5; K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“ 40,5; K 134 (60)/4/TOB//BMAN//BB/3/CAL 40,0; Spinetail 40,0 (spodní hranice nadprůměrnosti 39,7).

III. Výnos zrna, hmotnost 1000 zrn a výška rostlin u odrůd a novošlechtění pšeníc jarních původem z Mexika a kontrolní československé odrůdy Sandra v letech 1990 a 1991 – Grain yield, 1.000 grain weight and plant height in spring wheats native to Mexico and in the control Czechoslovak variety Sandra in 1990 and 1991

Pořadové číslo	Odrůda <sup>1</sup> /novošlechtění <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Výnos sušiny zrna <sup>4</sup> (t.ha <sup>-1</sup> )			Hmotnost 1000 zrn <sup>5</sup> (g)			Výška rostlin <sup>6</sup> (cm)		
			1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
1.	Ani „S“	MEX	4,2	4,7	4,5	38,1	44,9	41,5	118	103	111,0
2.	Antbird „S“	MEX	5,9	4,7	5,3	33,5	35,3	34,4	75	71	73,0
3.	Baya „S“	MEX	5,5	3,8	4,7	42,0	49,9	46,0	83	83	83,0
4.	Bluejay	MEX	5,9	3,6	4,8	37,2	42,3	39,8	85	83	84,0
5.	Bluetit „S“	MEX	4,7	3,8	4,3	37,9	53,2	45,6	80	78	79,0
6.	Bobito „S“	MEX	5,3	5,1	5,2	37,1	47,3	42,2	85	78	82,0
7.	Bobolink	MEX	5,9	4,7	5,3	38,1	41,1	39,6	100	81	91,0
8.	Bollilo „S“	MEX	5,5	4,8	5,2	36,3	52,1	44,2	100	91	96,0
9.	Bolsena „S“	MEX	5,7	4,4	5,1	44,7	50,5	47,6	80	88	84,0
10.	BOW/YD „S“/ZZ „S“	MEX	5,4	3,9	4,7	44,6	48,2	46,4	93	82	88,0
11.	Calidad	MEX	4,9	3,2	4,1	37,5	37,7	37,6	75	63	69,0
12.	Ciano T 79	MEX	4,7	5,1	4,9	36,6	45,1	40,9	82	79	81,0
13.	CNO 79/PRL „S“	MEX	5,1	3,4	4,3	45,4	47,7	46,6	80	75	78,0
14.	Complex	MEX	5,1	5,1	5,1	35,2	42,3	38,8	100	95	98,0
15.	Crow „S“	MEX	5,5	4,1	4,8	36,3	39,1	37,7	83	81	82,0
16.	Dove „S“/BUC „S“ (1)	MEX	4,0	2,8	3,4	43,4	48,1	45,8	85	82	84,0
17.	Dove „S“/BUC „S“ (2)	MEX	4,4	3,5	4,0	42,2	47,1	44,7	83	75	79,0
18.	Flycatcher	MEX	6,0	4,5	5,3	43,6	49,9	46,8	90	82	86,0
19.	Gavilan	MEX	5,3	5,7	5,5	40,2	45,3	42,8	98	90	94,0
20.	Gim „S“	MEX	4,9	4,2	4,6	35,6	44,2	39,9	85	66	76,0
21.	Guasave F 81	MEX	5,2	4,4	4,8	31,6	32,0	31,8	80	82	81,0

Pořadové číslo	Odrůda <sup>1</sup> /novošlechtění <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Výnos sušiny zrna <sup>4</sup> (t.ha <sup>-1</sup> )			Hmotnost 1000 zrn <sup>5</sup> (g)			Výška rostlin <sup>6</sup> (cm)		
			1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
22.	Hoopoe	MEX	5,6	5,6	5,6	42,4	46,1	44,3	83	88	86,0
23.	Huasteco M 81	MEX	5,2	5,2	5,2	32,6	38,3	35,5	90	84	87,0
24.	Chapingo 74	MEX	4,9	4,8	4,9	39,0	49,1	44,1	83	75	79,0
25.	Chiroca „S“	MEX	6,2	5,1	5,7	44,5	38,2	41,4	90	94	92,0
26.	JUP/BJY „S“/PRL „S“	MEX	5,6	2,9	4,3	49,3	51,1	50,2	93	95	94,0
27.	Kauz „S“ (34)	MEX	6,2	4,2	5,2	36,1	38,9	37,5	70	65	68,0
28.	Kauz „S“ (54)	MEX	5,4	4,0	4,7	34,0	39,6	36,8	73	66	70,0
29.	Kea	MEX	5,1	4,1	4,6	42,6	41,4	42,0	82	85	84,0
30.	K(ML)7406(BITHOOR)//Maya „S“	MEX	4,9	2,9	3,9	35,5	44,7	40,1	98	86	92,0
31.	K134(60)4/TOB/BMAN//BB/3/CAL	MEX	4,7	4,2	4,5	37,7	49,3	43,5	85	76	81,0
32.	Lira	MEX	5,8	3,3	4,6	44,1	44,8	44,5	75	65	70,0
33.	Lira „S“	MEX	5,3	4,5	4,9	40,3	43,3	41,8	85	75	80,0
34.	Mor „S“	MEX	6,2	4,5	5,4	39,8	42,7	41,3	70	64	67,0
35.	Myna „S“/VUL „S“	MEX	6,3	5,4	5,9	36,6	38,1	37,4	85	95	90,0
36.	NAC/TRM	MEX	5,0	5,3	5,2	34,2	44,1	39,2	85	80	83,0
37.	Neelkant	MEX	4,6	4,1	4,4	42,0	50,3	46,2	90	85	88,0
38.	Pajonal	MEX	5,4	5,5	5,5	33,1	45,8	39,5	83	76	80,0
39.	Parula „S“	MEX	5,0	6,3	5,7	38,5	40,7	39,6	83	70	77,0
40.	Pea „S“	MEX	4,2	3,0	3,6	35,0	41,7	38,4	75	72	74,0
41.	PF 70354/ALD „S“/MES „S“	MEX	4,4	3,4	3,9	41,6	46,5	44,1	93	91	92,0
42.	PF 7619/Dove „S“/CEP7670	MEX	5,6	4,2	4,9	41,1	44,0	42,6	85	81	83,0
43.	Pheasant „S“	MEX	5,0	4,4	4,7	40,3	52,9	46,6	73	66	70,0
44.	Pima/Saka//AN „S“	MEX	4,4	4,0	4,2	44,7	42,0	43,4	103	97	100,0
45.	R 37/GHL-121//KAL/BB/3/KLT „S“	MEX	5,5	3,8	4,7	33,1	40,4	36,8	85	78	82,0

Pořadové číslo	Odrůda <sup>1</sup> /novošlechtění <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Výnos sušiny zrna <sup>4</sup> (t.ha <sup>-1</sup> )			Hmotnost 1000 zrn <sup>5</sup> (g)			Výška rostlin <sup>6</sup> (cm)		
			1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$	1990	1991	$\bar{x}$
46.	Sarhad 83	MEX	4,5	5,9	5,2	31,7	32,6	32,2	90	79	85,0
47.	Spinetail	MEX	5,3	3,3	4,3	46,3	46,8	46,6	83	85	84,0
48.	SW 55	MEX	4,6	3,2	3,9	41,4	49,3	45,4	98	83	91,0
49.	Thornbird „S“	MEX	4,4	3,0	3,7	35,4	43,1	39,3	103	94	99,0
50.	Tonichi „S“ 81	MEX	5,2	5,1	5,2	32,9	47,2	40,1	80	80	80,0
51.	TSI/VEE 5 „S“	MEX	6,3	5,5	5,9	33,5	41,2	37,4	85	80	83,0
52.	Tyrant „S“	MEX	4,3	2,2	3,3	39,8	41,3	40,6	85	91	88,0
53.	VEE 5 „S“/TRAP 1	MEX	5,6	4,8	5,2	32,8	44,2	38,5	88	88	88,0
54.	VEE „S“/BOW „S“	MEX	6,0	4,2	5,1	33,8	35,6	34,7	83	76	80,0
55.	Victoria M 81	MEX	3,8	5,8	4,8	36,8	44,7	40,8	75	75	75,0
56.	Sandra	CSK	6,2	6,8	6,5	34,8	39,2	37,0	88	78	83,0
	$\bar{x}$		5,2	4,4	4,8	38,5	44,0	41,3	86,0	80,8	83,6
	S		0,6	1,0	0,7	4,3	5,0	4,1	9,2	9,2	8,7
	$\bar{x} \pm S$		4,6-	3,4-	4,1-	34,2-	39,0-	37,2-	76,8-	71,6-	74,9-
	V		5,8	5,4	5,5	42,8	49,0	45,4	95,2	90,0	92,3
			11,5	22,7	14,6	11,2	11,4	9,9	10,7	11,4	10,4

<sup>1</sup>variety; <sup>2</sup>advanced line; <sup>3</sup>origin; <sup>4</sup>yield of grain dry matter; <sup>5</sup>1,000 grain weight; <sup>6</sup>plant height

**Bobtnavost mokrého lepku (ml):**

Chiroca „S“ 16,0; Mor „S“ 15,0; VEE 5 „S“/TRAP 1 15,0; R 37/GHL-121//KAL//BB/3/KLT „S“ 13,0; Bolsena „S“ 12,0; Flycatcher 12,0; Gavilan 12,0; K (ML) 7406 (BITHOOR)// Maya „S“ 12,0; SW 55 12,0 (spodní hranice nadprůměrnosti 11,5).

**Pekařská hodnota (body):**

K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“ 76,5; Calidad 75,1; Chiroca „S“ 71,0; SW 55 70,7; R 37/GHL-121//KAL//BB/3/KLT „S“ 70,5; Huasteco M 81 69,8; Antbird „S“ 69,6; Pajonal 69,0 (spodní hranice nadprůměrnosti 67,7).

**Tažnost mokrého lepku (cm):**

TSI/VEE 5 „S“ 21,0; Hoopoe 20,0 CNO 79/PRL „S“ 18,0; Ani „S“ 17,0; Dove „S“/BUC „S“ (2) 16,0; Kaus „S“ (34) 16,0; Kea 16,0; Parula „S“ 16,0; PF 7619/Dove „S“/CEP 7670 16,0; Spinetail 16,0; Thornbird „S“ 16,0 (spodní hranice nadprůměrnosti 15,2).

**Výnos sušiny zrna (t/ha):**

Sandra 6,5; Myna „S“/VUL „S“ 5,9; TSI VEE 5 „S“ 5,9; Chiroca „S“ 5,7; Parula „S“ 5,7; Hoopoe 5,6; Pajonal 5,5 (spodní hranice nadprůměrnosti 5,5).

**Hmotnost 1000 zrn (g):**

JUP/BJY „S“/PRL „S“ 50,2; Bolsena 47,6; Flycatcher 46,8; CNO 79/PRL „S“ 46,6; Pheasant „S“ 46,6; Spinetail 46,6; BOW/YD „S“/ZZ „S“ 46,4; Neelkant 46,2; Baya „S“ 46,0; Dove „S“/BUC „S“ (1) 45,8; Bluetit „S“ 45,6; SW 55 45,4 (spodní hranice nadprůměrnosti 45,4).

**Výška rostlin (cm):**

Ani „S“ 111,0; Pima/Saka//AN „S“ 100,0; Thornbird „S“ 99,0; Complex 98,0; Bollilo „S“ 96,0; Gavilan 94,0; JUP/BJY „S“/PRL „S“ 94,0 (spodní hranice nadprůměrnosti 92,3).

Hodnoty odrůd a nšl. v uvedeném přehledu vyhodnocené jako nadprůměrné v daném souboru lze podle Klasifikátoru genus *Triticum* L. autorů B a r e š et al. (1985), vydaného pro potřeby hodnocení genetických zdrojů (dále uváděn jako Klasifikátor), hodnotit následovně:

- za velmi vysoký považovat obsah hrubých bílkovin odrůdy Calidad;
- za velmi dobré všechny hodnoty mikrosedimentačního testu;
- za vysoké výsledky stanovení obsahu hrubých bílkovin kromě již výše uvedené odrůdy Calidad, cca všechny hodnoty obsahu mokrého lepku, u bobtnavosti mokrého lepku u odrůd Chiroca „S“, Mor „S“, nšl. VEE 5 „S“/TRAP 1, u pekařské hodnoty nšl. K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“, R 37/GHL-121//KAL//BB/3/KLT „S“, odrůd Calidad, Chiroca „S“, SW 55;
- za vyšší střední u bobtnavosti mokrého lepku u nšl. R 37/GHL-121//KAL//BB/3/KLT „S“, K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“, odrůd Bolsena „S“,

Flycatcher, Gavilan, SW 55 a u pekařské hodnoty u odrůd Antbird „S“, Huasteco M 81 a Pajonal.

Pokud se zaměříme na přehled nadprůměrných hodnot v souboru, lze si z tab. II a III doplnit i získané údaje o dalších charakteristikách uváděných odrůd a nšl. U jednotlivých ukazatelů podle průměrů za oba sledované roky zjistíme, že např. odrůda Calidad dosáhla nejvyššího nadprůměrného obsahu hrubých bílkovin (18,7 g ve 100 g), nadprůměrné a rovněž nejvyšší mikrosedimentační hodnoty šrotu (8,7 ml), obsahu mokrého lepku (41,5 g ve 100 g), pekařské hodnoty (75,1 bodů, podle Klasifikátoru vysoká, podle Prugara velmi dobrá), ale kvalita lepku, vyjádřená jako jeho bobtnavost, byla jen průměrná (11,0 ml). Podprůměrná byla tažnost lepku (7,0 cm) a na hranici průměrnosti a podprůměrnosti byl výnos sušiny zrna (4,1 t/ha). Hmotnost 1000 zrn se udržela v rozmezí průměrnosti (37,6 g) a výška rostlin byla jedna z nejnižších (69,0 cm). Obdobným způsobem lze hodnotit i další odrůdy a nšl.

U odrůdy Flycatcher, u které je z celého souboru druhá nejvyšší mikrosedimentační hodnota šrotu (8,3 ml), která předpovídá pekařsky silnou (kvalitní) odrůdu, což potvrzuje i dobrá nadprůměrná bobtnavost lepku (12,0 ml), je množství lepku však už pouze průměrné (31,5 g ve 100 g), stejně jako obsah hrubých bílkovin (14,9 g ve 100 g) a pekařská hodnota (64,8 bodů, podle Klasifikátoru vyšší střední, podle Prugara dobrá). Výnos sušiny zrna (5,3 t/ha) značí lepší průměr.

Odrůda Thornbird „S“ s nejvyšším obsahem mokrého lepku v hodnoceném souboru (45,0 g ve 100 g) dosáhla též nadprůměrného obsahu hrubých bílkovin (17,4 g ve 100 g), ale už jen průměrné mikrosedimentační hodnoty (6,4 ml), podprůměrné bobtnavosti lepku (4,0 ml) a předpokládanou nadprůměrnou jeho tažnost (16 cm), což se projevilo již jen průměrnou pekařskou hodnotou (54,2 bodů). Z těchto důvodů není možno doporučit podle našich výsledků odrůdu Thornbird „S“ za případného donora dobré kvality, ale i její výnos (3,7 t/ha) lze hodnotit v daném souboru jako podprůměrný.

Nejlepší bobtnavost lepku byla zjištěna u odrůdy Chiroca „S“ (16,0 ml). Hlavně vzhledem k této skutečnosti u ní byla vyčíslena v pořadí třetí nejvyšší pekařská hodnota (71,0 bodů, podle Klasifikátoru vysoká, podle Prugara velmi dobrá), i když obsah mokrého lepku byl podprůměrný (29,5 g ve 100 g). Podprůměrný byl též obsah hrubých bílkovin (13,9 g ve 100 g), průměrná byla mikrosedimentační hodnota (7,2 ml), stejně jako i tažnost mokrého lepku (8,0 cm), výnos sušiny zrna byl však v pořadí třetí nejvyšší (5,7 t/ha), nadprůměrný.

Pokud sledujeme další odrůdy a nšl. s nadprůměrnou bobtnavostí lepku, konstatujeme, že odrůda Mor „S“ a nšl. VEE 5 „S“/TRP 1, obě s 15,0 ml, mají v souboru podprůměrný obsah lepku (28,0 g ve 100 g), čímž je pekařská hodnota jen průměrná (65,0 a 66,8 bodů, podle Klasifikátoru vyšší střední a podle Prugara dobrá). Jejich výnos sušiny zrna je rovněž průměrný (5,4 a 5,2 t/ha), ale se značnými rozdíly v jednotlivých letech. Třetí nejvyšší bobtnavost mokrého lepku mělo nšl. R 37/GHL 121//KAL/BB/3/KLT „S“ 13,0 ml. Z tab. II zjistíme, že je

jeho obsah hrubých bílkovin v souboru průměrný (16,1 g ve 100 g, podle Klasifikátoru vysoký), nadprůměrná je mikrosedimentační hodnota šrotu (7,7 ml), obsah mokrého lepku je však nižší průměr (31,5 g ve 100 g) a pekařská hodnota nadprůměrná (70,5 bodů, podle Klasifikátoru na hranici střední a vysoké, podle Prugara na hranici dobré a velmi dobré). Výnosově je však toto nšl. pouze průměrné (4,7 t/ha) s rozdíly v letech. Odrůdy Bolsena „S“ a Gavilan s bobtnavostí mokrého lepku 12,0 ml lze zařadit podle našich výsledků v pekařské jakosti mezi hodnotově průměrné (64,8 a 65,3 bodů, podle Klasifikátoru střední pekařská hodnota, podle Prugara dobrá). Odrůda SW 55 s toutéž bobtnavostí lepku (12,0 ml) byla v pekařské hodnotě (70,7 bodů) podle Klasifikátoru ohodnocená na rozhraní střední a vysoké a podle Prugara na rozhraní dobré a velmi dobré jakosti. Obsah lepku je průměrný (35,0 g ve 100 g) a výnos (3,9 t/ha) nižší průměr. Obsah hrubých bílkovin je u této odrůdy 15,8 g ve 100 g, což značí v našem souboru střední hodnotu a podle Klasifikátoru vysoký obsah.

Bodové ohodnocení pekařské hodnoty bylo nejvyšší u nšl. K (ML) 7406 (BITHOOR)//Maya „S“ (76,5 bodů, podle Klasifikátoru vysoké, podle Prugara velmi dobré). U tohoto nšl. byly ještě nadprůměrné bobtnavost lepku (12,0 ml), jeho obsah (40,5 g ve 100 g), obsah hrubých bílkovin v znu (17,6 g ve 100 g, třetí v pořadí nejvyšší) a mikrosedimentační hodnota šrotu (7,7 ml, čtvrtá v pořadí nejvyšší). Ve výnosu sušiny zrna se však toto nšl. umístilo v souboru jako podprůměrné (3,9 t/ha).

Je třeba se zmínit o dosud nediskutovaných odrůdách Antbird „S“ a Huasteco M 81. Obě v obou letech sledování měly vyrovnané výsledky bobtnavosti mokrého lepku (11,0 ml), což v našem souboru značí vyšší průměrnou bobtnavost i průměrný obsah mokrého lepku (34,0 g ve 100 g), ale pekařská hodnota byla nadprůměrná (69,6 a 69,8 bodů, dle Klasifikátoru vyšší střední, podle Prugara dobrá). Co se týče výnosů sušiny zrna (5,3 a 5,2 t/ha), lze je v našem souboru zařadit mezi vyšší průměrné.

Nejtažnější mokrá lepek byl zjištěn u nšl. TSI/VEE 5 „S“ (21,0 cm). Odpovídaly mu i podprůměrná bobtnavost (3,0 ml), mikrosedimentační hodnota (5,0 ml) a pekařská hodnota (45,2 bodů). Obsahy mokrého lepku (38,0 g ve 100 g) a hrubých bílkovin (14,5 g ve 100 g) byly průměrné, ale toto nšl. se vyznačovalo vysokým výnosem sušiny zrna (5,9 t/ha, druhý nejvyšší).

Naše kontrolní odrůda Sandra se projevila v souboru v ukazatelích jakosti zrna jako průměrná a lze ji takto hodnotit i podle Klasifikátoru (obsah hrubých bílkovin v znu 14,5 g ve 100 g, mikrosedimentační hodnota šrotu 6,9 ml, obsah mokrého lepku 31,4 g ve 100 g, bobtnavost lepku 10 ml, pekařská hodnota 61,0 bodů - podle Prugara dobrá, tažnost mokrého lepku 10 cm). Zcela však vynikla ve výnosu sušiny zrna. Umístila se v pořadí na prvním místě s výnosem 6,5 t/ha. Hmotnost 1000 zrn byla u ní zjištěna podprůměrná (37,0 g) a výška rostlin průměrná (83,0 cm).

Výnosově se k odrůdě Sandra nejvíce přibližují nšl. Myna „S“/VUL „S“ a odrůda TSI VEE 5 „S“, obě s výnosem 5,9 t/ha a dvě další odrůdy Parula

„S“ a Chiroca „S“ s výnosem 5,7 t/ha. O odrůdě Chiroca „S“ s vysokou bobtnavostí mokrého lepku, jsme pojednávali již dříve. U nšl. Myna „S“/VUL „S“ je obsah hrubých bílkovin jeden z nejnižších v souboru (13,8 g ve 100 g), obsah mokrého lepku nižší průměr souboru (32,0 g ve 100 g) s velkými ročníkovými rozdíly. Jeho bobtnavost 11,0 ml lze hodnotit v souboru jako lepší průměr stejně jako i pekařskou jakost (64,3 bodů, podle Klasifikátoru vyšší střední a podle Prugara dobrá). S ohledem k ročníkovým rozdílům i u bobtnavosti mokrého lepku (v roce 1990 např. 14,0 ml) je zapotřebí tomuto nšl. ještě věnovat pozornost. Odrůdy TSI VEE 5 „S“ s bobtnavostí lepku 3,0 ml a Parula „S“ s 4,0 ml po stránce pekařské jakosti zrna nelze doporučit za dobré. Obě měly v našem souboru i podprůměrné mikrosedimentační hodnoty šrotu (5,0 a 5,4 ml). Obsahy hrubých bílkovin 14,5 a 14,7 g ve 100 g lze zařadit mezi průměrné (podle Klasifikátoru mezi vyšší střední). Odrůda Hoopoe s nadprůměrným výnosem sušiny zrna (5,6 t/ha) po stránce jeho pekařské jakosti dosáhla nižších hodnot. Toto nelze však říci o odrůdě Pajonal s výnosem 5,5 t/ha. Tato odrůda u ukazatelů jakosti zrna měla většinou hodnoty průměrné.

Největší a nejtěžší zrno v souboru mělo nšl. JUP/BJY „S“/PRL „S“ (50,2 g), které mělo nadprůměrnou hodnotu obsahu hrubých bílkovin (16,9 g ve 100 g) a nadprůměrný byl i obsah mokrého lepku (42,5 g ve 100 g), ale jeho bobtnavost byla nižší (5,0 ml, podle Klasifikátoru nízká). Průměrné byly mikrosedimentační hodnota šrotu (7,2 ml), pekařská hodnota (56,3 bodů), tažnost mokrého lepku (11,0 cm) a výnos zrna (4,3 t/ha). Rostliny u tohoto nšl. byly nadprůměrně vysoké (94,0 cm).

Nejvariabilnější v souboru u ukazatelů jakosti jsou hodnoty bobtnavosti lepku (koef. var. 43,8) a jeho tažnosti (koef. var. 31,0). Nejméně kolísají hodnoty obsahu hrubých bílkovin (koef. var. 7,7). Ostatní koeficienty se pohybují cca od 12,3 do 14,5. U ukazatelů mechanických rozborů je u hmotnosti 1000 zrn koeficient variability 9,9; u výšky rostlin 10,4 a u výnosu zrna 14,6, u kterého se projeví i značné rozdíly v jednotlivých letech (1990 - 11,5; 1991 - 22,7). Na všechny jmenované ukazatele působí celý komplex vlivů (nejvýrazněji odrůda, stanoviště, ročník, jejich interakce a další), jejich podíly jsme však v této práci nezjišťovali. Některým těmto otázkám jsme se věnovali v předcházejících letech u jiných souborů pšenic, při jinak organizovaných pokusech (K o s t k a n o v á et al., 1987, 1989).

Naší snahou bylo, aby předložené výsledky týkající se některých charakteristik pšenic jarních původem z Mexika, přispěly k jejich poznání v podmínkách našeho státu. Avšak vzhledem k jejich jen dvouletému sledování na jednom stanovišti ve výrobní oblasti řepařské, je třeba uvedené údaje posuzovat jako relativní a informativní. Důkladné poznání těchto zdá se hodnotných materiálů by přineslo víceleté sledování a použití dalších případně i přesnějších metod, např. pro poznání pekařské technologické jakosti provedení přímého pekařského pokusu, který z technických důvodů byl pro nás neproveditelný (nevlastníme potřebné přístrojové zařízení).

### Literatura

- BAREŠ, I. - SEHNALOVÁ, J. - VLACH, M. - KRYŠTOF, Z. - AMLER, P. - MALÝ, J. - BERÁNEK, V.: Klasifikátor genus *Triticum* L., Praha-Ruzyně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Kroměříž, Výzkumný a šlechtitelský ústav obilnářský 1985 : 78 s.
- HOREL, J.: Chemicko-technologické rozborů zemědělských plodin, Praha, ČAZV, SZN 1956 : 130-131.
- HÝŽA, V.: Mikrosedimentační metoda na hodnocení šlechtitelských materiálů pšenice. Genet. a Šlecht. 22, 1986 : 117-122.
- KOSTKANOVÁ, E. - ROGALEWICZ, V. - DOTLAČIL, L.: Zhodnocení metod stanovení technologické kvality genetických zdrojů pšenice. Rostl. Vyr., 35, 1989 : 1049-1055.
- KOSTKANOVÁ, E. - STEHNO, Z.: Hodnocení pekařské kvality zrna genetických zdrojů jarní pšenice. Kvalita zrna pšenice. In: Sbor. ref. z III. věd. semináře, Nitra 1989 : 79-83.
- KOSTKANOVÁ, E. - STEHNO, Z. - MANEV, M.: Technologická jakost zrna souboru genetických zdrojů jarní pšenice. Rostl. Vyr., 38, 1992 : 793-806.
- PRUGAR, J.: Hodnocení technologické jakosti pšenice II. Výpočet obsahu suchého lepku z lepku mokrého s uvážením jeho fyzikálních vlastností (bobtnavosti). Rostl. Vyr., 5, 1959 : 1145-1150.
- PRUGAR, J. - HOREL, J. - HÝŽA, V.: Hodnocení technologické jakosti pšenice I. Nový způsob bonitace pšeničného zrna po stránce pekařské hodnoty. Rostl. Vyr., 5, 1959 : 1137-1144.
- ŠKORPÍK, M.: Biometrická příručka. Praha-Ruzyně, VÚRV sektor genetiky a šlechtění, září 1965 : 128 s.
- ŠKORPÍK, M. - BARTOŠ, P. - KOSTKANOVÁ, E. - MICHALOVÁ, A. - NÁTROVÁ, Z. - PRÁŠIL, I. - STEHNO, Z. - ŠÍP, V. - VLASÁK, M.: Katalog odrůd pšenice s charakteristikou důležitých vlastností. Československá rada genetických zdrojů kulturních rostlin, Praha-Ruzyně, VÚRV 1991 : 107 s.

Došlo dne 2. 7. 1993

*E. Kostkanová, Z. Stehno, M. Manev (Research Institute for Crop Production,  
Praha-Ruzyně, Czech Republic)*

#### **Evaluation of Mexican spring wheat in view of grain quality, its yield and the plant height**

Mexican cultivars and new selection of spring wheat (55 cultivars) with one Czechoslovak cultivar Sandra were studied in the years 1990 and 1991 in the trial in the sugar beet growing region with sugar beet-wheat subtype. The contribution presents the results of the crude protein content in the grain dry matter by the method

after Kjeldahl, microsedimentary values of ground wheat (SDS-test) after H ý ž a (1986), wet gluten in flour according to the standard ICC 137, swelling capacity of wet gluten after Berliner in Horel's modification (H o r e l, 1956), gluten ductility by means of ruler and in compliance with ordinary approaches, grain dry matter yield per ha, 1.000 grain weight and the height of plants. The effect of the years was manifested in values of all determining characteristics. The lowest variability in the set was found in the crude protein content and the highest in swelling capacity and ductibility of wet gluten. The following highest average values for both the years were acquired : crude proteins - the Calidad cultivar - 18.7 g in 100 g, microsedimentary value of ground wheat - also the Calidad cultivar - 8.7 ml, in wet gluten content in flour - the Thornbird „S“ cultivar - 45 g in 100 g, in swelling capacity of wet gluten - the Chiroca „S“ cultivar - 16 ml, in baking quality the advanced line K (ML) 7406 (BI-THOOR)//Maya „S“ 76.5 points, the most extensible (21 cm) was gluten in the advanced line TSI/VEE „S“, grain yield was highest in Czechoslovak cultivar Sandra 6.5 t/ha, 1.000 grain weight in the advanced line JUP/BJY „S“/PRL „S“ 50.2 g and in the height of plants in the cultivar Ani „S“ - 111 cm. Apart from the grain yield, our cultivar Sandra was manifested in the set by its values as average.

spring wheat; grain; nutritive and technological quality; crude proteins; micro-SDS-test; wet gluten; baking quality; grain yield; 1.000 grain weight; plant height

## UPOZORNĚNÍ PRO ŠLECHTITELE

Redakční rada vědeckého časopisu GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ rozhodla z důvodů evidence v genbankách, ochrany autorství a z důvodů vzdělávacích a osvětových publikovat stručné popisy nově registrovaných odrůd v České a Slovenské republice.

Název příspěvku musí obsahovat jméno odrůdy, český (slovenský) a latinský název druhu. Dále bude uvedena šlechtitelská stanice, šlechtitel, výchozí materiál, metoda šlechtění, popis odrůdy včetně velmi stručných výsledků a oficiálních zkoušek a doporučená oblast pěstování. Metoda musí být popsána v mezinárodně obvyklé terminologii.

Popis má sloužit k odlišení od jiných registrovaných odrůd nejen v České a Slovenské republice, ale i v zemích Evropského společenství. Výsledky zkoušek doporučujeme uvést ve srovnání s odrůdou registrovanou v Evropském společenství. Popis odrůdy bude ukončen adresou udržovatele odrůdy a adresou distributora certifikovaného osiva.

Celý příspěvek nesmí přesáhnout 15 řádek českého či slovenského textu a 15 řádek textu anglického (celkem na jednu stránku). Jako vzor lze použít popisy v Crop Science nebo Canadian Journal of Plant Science (1991, s. 1289).

Popisy odrůd je možno zasílat na adresu :

Prof. O. Chloupek, DrSc.  
Vysoká škola zemědělská,  
613 00 Brno

## NUTRIČNÍ A VÝNOSOVÉ UKAZATELE ODLIŠNÝCH GENOTYPŮ JARNÍHO KRMNÉHO JEČMENE A VZTAHY MEZI NIMI

Jaroslava EHRENBERGEROVÁ

Vysoká škola zemědělská, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Skupina bezpluchých genotypů jarního krmného ječmene vykazala neprůkazně vyšší obsah esenciálních aminokyselin (3,83 %) a lyzinu (0,495 %), vyšší podíl lyzinu v bílkovinách (3,50 %) i vyšší výnos bílkovin (0,59 t/ha) a lyzinu (22,5 kg/ha), než genotypy pluchaté a černožrné i než sladovnická odrůda Zenit. Pluchatá světložrná linie 5 vynikla podílem lyzinu v bílkovinách (4,34 %). Genotypy černožrné se vyznačovaly nejvyšším obsahem bílkovin, avšak výnos bílkovin a lyzinu i podíl lyzinu v bílkovinách měly ze sledovaných skupin nejnižší. Záporný, statisticky vysoce významný vztah mezi obsahem bílkovin (13,60 - 14,11 %) a podílem lyzinu v bílkovinách (až 3,81 %) byl nejsilnější u bezpluchých genotypů. Toto zjištění podporuje názor odborníků z oblasti výživy zvířat, že pro požadovaný podíl lyzinu v bílkovinách (3,8 - 4,3 %) není žádoucí další zvyšování obsahu bílkovin v zrna, neboť by klesal podíl lyzinu v bílkovinách. O negativním vztahu obsahu bílkovin či lyzinu a výnosu bílkovin či lyzinu černožrných genotypů svědčí vypočtené záporné korelační koeficienty. U pluchatých světložrných genotypů byly tyto korelační koeficienty kladné, středně silné; u bezpluchých genotypů silné, kladné -  $r$  pro obsah a výnos lyzinu činil 0,955<sup>\*\*</sup>. Pro bezpluché genotypy byl rovněž stanoven silný kladný vztah mezi obsahem lyzinu a výnosem zrna. Zjištěné skutečnosti jsou předpokladem pro další šlechtění bezpluchých genotypů.

jarní krmný ječmen; *Hordeum*; šlechtění; bílkoviny; lyzin; esenciální aminokyseliny

Negativní vztah mezi výnosem zrna a obsahem bílkovin i lyzinu (H a g b e r g, K a r l s o n, 1970; M u n c k et al., 1970; O l s e n, 1978) byl hlavním důvodem dosavadního neúspěchu ve šlechtění nutričně kvalitnějších jarních krmných ječmenů. Avšak potřeba odrůd se zlepšenými nutričními parametry (tj. s vyšším obsahem bílkovin, esenciálních aminokyselin, zejména lyzinu a tryptofanu, a s nízkým obsahem antinutričních látek typu beta-glukanů, taninů aj.) je žádoucí pro výživu zejména monogastrických zvířat. Podle údajů, které uvádí R j a d ě i k o v (1978), ječmen se zvýšenou nutriční hodnotou snižuje potřebu energie na jednotku živočišné produkce. Rovněž V a c u l o v á (1988) potvrdila, že vysoký obsah a podíl lyzinu v bílkovinách snižuje spotřebu krmiva. N e w m a n et al. (1990) uvádějí, že odrůdy s vysokým obsahem lyzinu v zrna

mají vyšší biologickou hodnotu bílkovin a prasata jimi krmená spotřebovala méně sóje v krmné dávce než když byla krmená tradičními odrůdami.

Z některých novějších prací je patrné, že vhodnými šlechtitelskými postupy lze dosáhnout linií nejen nutričně vhodnějších, ale i výnosných. Například *Heinrichs* (1980 - nepublikováno) nepotvrdil významnou zápornou korelaci mezi výnosem zrna a obsahem lyzinu v bílkovinách. *Welch et al.* (1981) udávají kladný vztah mezi výnosem zrna a výnosem bílkovin z jednotky plochy. *Muncik* (1972) vyslovil přesvědčení, že nutričně hodnotnější ječmeny i přes problémy, které dosud při jejich šlechtění existují, mají budoucnost. *Prybylska* (1975) a *Kudla et al.* (1988) našli genotypy s vysokým obsahem proteinu i s vysokým výnosem zrna. *Talberg a Eggum* (1986) podporují ve své práci šlechtění a využívání ječmenů s vyšší biologickou hodnotou i přes jejich nižší výnos a doporučují je k využití i v humánní výživě. *Bach Knudsen et al.* (1987) stanovili vyšší biologickou hodnotu u jarních krmných ječmenů než u ozimých dánských krmných ječmenů.

Záměr této práce spočíval v určení nutriční kvality dvaceti linií jarního krmného ječmene a stanovení jejího vztahu k výnosovým ukazatelům. Zkoušené linie příslušely podle barvy zrna a pluchatosti či bezpluchosti ke třem genotypům:

1. světlozrným pluchatým,
2. světlozrným bezpluchým,
3. černo zrným.

Cílem práce bylo zjistit, které ze sledovaných genotypů budou po stránce nutriční i výnosové vhodné pro šlechtění odrůd jarního krmného ječmene. Bezpluché odrůdy jarního ječmene jsou šlechtěny zejména v USA, Japonsku, Dánsku a Švédsku.

## MATERIÁL a METODY

V tříletém polním pokusu (1988 až 1990) bylo na Šlechtitelské stanici v Branišovicích zkoušeno 20 linií jarního krmného ječmene, které náležely do třech skupin :

- I. genotypy světlozrné pluchaté,
- II. genotypy světlozrné bezpluché,
- III. genotypy černo zrné pluchaté i bezpluché.

Jako kontroly byly zařazeny sladovnická odrůda Zenit a krmná bezpluchá linie KM 280 (autorka ing. Vaculová). Linie pocházející z vlastního křížení jsou označeny písmenem B, linie označené BR poskytl ing. Růžička ze ŠS Branišovice a linie označené M pocházely od doc. Uhlíka z VŠZ Praha (tab. I). Pokus byl založen ve čtyřech opakováních o velikosti parcel 10 m<sup>2</sup>, šířka řádků činila 12,5 cm.

Obsah aminokyselin v zrně byl stanoven na automatickém analyzátoru AAA 339N (mimo tryptofan), obsah bílkovin vypočtený z obsahu dusíkatých látek, stanovených na přístroji Kjeltac AUTO analyzátor 1030 na Ústavu výživy zvířat Vysoké školy zemědělské v Brně. Esenciální aminokyseliny pro monogastrička zvířata byly stanoveny podle Zemana a Šimečka (Z e m a n, Š i m e č e k, 1991). Dále byl vypočten podíl lyzinu v 16 g dusíku.

Výsledky byly vyhodnoceny *t*-testem a vztahy mezi výnosovými a nutričními ukazateli byly vypočteny Pearsonovými korelačními koeficienty.

### VÝSLEDKY a DISKUSE

Nejvyšší průměrný obsah esenciálních aminokyselin (EAK) za sledované období (tab. I) vykázala skupina světlozrnných bezpluchých genotypů, čímž současně překonala nejen průměrnou hodnotu kontrolní odrůdy Zenit, ale i krmmou kontrolu KM 280. Odrůda Zenit byla překonána v průměrném obsahu EAK většinou sledovaných linií, ne však statisticky významně, protože se lišil ve sledovaných letech. Nejvyšší hodnoty obsahu EAK v rámci celého sledovaného souboru patřily liniím 18 a 20, náležejícím k černožrnným genotypům. U těchto linií je patrný dominantní účinek genů kontrolujících zvýšený obsah EAK apocházející od donorů *Hordeum nudimelanocrithum* a *H. nigrinudum*. Podobná zjištění uvádí O l s e n (1980) pro hodnotu bazických aminokyselin v kříženích s donorem Riso 1508. Jmenované linie měly i nejvyšší obsah bílkovin v sušině zrna, avšak nelze je považovat za nutričně nejvhodnější, neboť obsah lyzinu a zejména pak jeho podíl v bílkovinách neodpovídá požadavkům a jsou také málo výnosné (E h r e n b e r g e r o v á, nepublikováno). Tomu odpovídá i velmi nízký výnos lyzinu a bílkovin z jednotky plochy při porovnání s ostatními sledovanými liniemi. Z bezpluchých genotypů vynikla vysokým obsahem EAK linie 11, což mohlo být způsobeno mutací, poněvadž vznikla mutagenézí, jak uvádějí její autoři U h l í k a M a r e k (1988). Tato linie se vyznačovala vysokým obsahem a výnosem lyzinu i podílem lyzinu v bílkovinách; výnosem zrna po zohlednění bezpluchosti mírně převyšuje kontrolní odrůda Zenit. Obsah lyzinu statisticky významně převyšoval sladovnickou odrůdu Zenit u bezpluchých linií 9 a 14. Celá skupina bezpluchých genotypů pak vykázala nejvyšší obsah lyzinu, vyšší než měla odrůda Zenit. Toto zjištění souhlasí s výsledky, které uvádějí T a l l b e r g a E g g u m (1986) a ze kterých vyplývá, že hladina threoninu a lyzinu a biologická hodnota proteinu byla u bezpluchých mutantů vyšší než u pluchatých sladovnických kontrol.

Podíl lyzinu v bílkovinách převážně většiny bezpluchých genotypů odpovídá požadovaným hodnotám pro dietu monogastričských zvířat (3,8 - 4,3 %). Podílem 2,89 % neodpovídá pouze linie 10 s nejvyšším obsahem bílkovin v této skupině genotypů, což je potvrzeno korelačním koeficientem - 0,975\*\* pro obsah bílkovin a podíl lyzinu v bílkovinách v rámci bezpluchých genotypů. Toto zjištění potvrzuje názor odborníků z oblasti výživy zvířat, že není nutný vysoký obsah bílkovin v zrně, neboť by v nich klesal podíl lyzinu (Š i m e č e k, M i n a ř í k, 1982).

I. Ukazatele nutriční a výnosové kvality ( $\bar{x}$  za období 1988 až 1990) – Nutritional and yield values (averages 1988 to 1990)

Linie č. <sup>1</sup>	Původ <sup>2</sup>	EAK <sup>3</sup> obsah (%)	Bílkoviny <sup>4</sup>		Lyzin <sup>7</sup>			Výnos zrna <sup>9</sup> (t/ha)
			obsah <sup>5</sup> (%)	výnos <sup>6</sup> (t/ha)	obsah (%)	výnos (kg/ha)	podíl g <sup>8</sup> v 16 g N	
1	M 16	2,89	11,56	0,609	0,413	24,3	3,57	5,92
2	M 22	3,22	11,48	0,616	0,428	26,6	3,78	5,98
3	M 32	2,66	11,38	0,511	0,358	18,3	3,16	5,11
4	B 5,3	2,99	11,88	0,518	0,388	18,7	3,27	4,81
5	B 7,3	3,51	12,25	0,543	0,511*	26,0	4,34	5,09
6	B 8B,2H	3,26	13,80*	0,561	0,426	18,8	3,11	4,41
7	B 9,3	3,21	12,36	0,503	0,416	18,5	3,39	4,45
8	BR 30414	3,80	14,41**	0,647	0,416	20,2	2,83	4,85
$\bar{x}$ světlozrnných pluchatých <sup>10</sup>		3,19	12,39	0,564	0,420	21,5	3,44	5,08
9	B 6,4	3,75	13,65*	0,609	0,538**	25,8	3,81	4,79
10	B 9,4	3,78	15,81**	0,632	0,458	19,9	2,89	4,35
11	M 24	4,11	13,60	0,575	0,503	23,5	3,68	4,67
12	M 33	3,79	14,08	0,598	0,491	23,0	3,52	4,68
13	M 86	3,82	14,11*	0,566	0,479	20,9	3,41	4,37
14	B 2H,9H	3,73	13,67*	0,560	0,501*	22,0	3,68	4,41
$\bar{x}$ světlozrnných bezpluchých <sup>11</sup>		3,83	14,15	0,590	0,495	22,5	3,50	4,54
15	B 5,1	3,34	14,04	0,556	0,420	17,6	3,02	4,20
16	BR 664	3,13	11,14	0,427	0,409	17,7	3,71	4,33
17	BR 881	4,00	14,83**	0,432	0,468	14,6	3,16	3,13
18	B 2K,9H	4,28	17,07**	0,393	0,482	12,6	2,93	2,52
19	BR 30133	3,24	13,22	0,631	0,362	18,5	2,68	5,11
20	B 7,1	4,20	14,88*	0,452	0,527	17,2	3,38	3,26
$\bar{x}$ černožrnných <sup>12</sup>		3,70	14,20	0,482	0,445	16,4	3,15	3,75
Kontroly <sup>13</sup>								
1	Zenit	3,08	10,99	0,515	0,362	17,8	3,28	4,97
2	KM 280	3,77	14,01	0,551	0,655	27,4	4,67	4,18

\* P &lt; 0,05 k odrůdě Zenit – compared to Zenit cv.

\*\* P &lt; 0,01 k odrůdě Zenit – compared to Zenit cv.

<sup>1</sup>lines No.; <sup>2</sup>origin; <sup>3</sup>content of essential aminoacids; <sup>4</sup>protein; <sup>5</sup>content; <sup>6</sup>yield; <sup>7</sup>lysine; <sup>8</sup>ratio of lysine to protein; <sup>9</sup>yield of grain; <sup>10</sup>light-grain hulled; <sup>11</sup>light-grain hull-less; <sup>12</sup>black-grain; <sup>13</sup>control cultivars

Tento názor vyjadřují i odborníci zabývající se využitím ječmene v humánní výživě (Newman et al., 1990). Průměrná hodnota podílu lyzinu v bílkovinách u genotypů bezpluchých (i když snižená linií 10), je však stále neprůkazně vyšší než u skupiny černožrných i světložrných pluchatých genotypů. Z pluchatých genotypů v podílu i obsahu lyzinu vynikla výnosná linie 5 s nižším obsahem EAK a bílkovin, a tedy i s nižším výnosem bílkovin. Výnosem lyzinu vynikla z celého souboru linie 2, rovněž pluchatá, která má však rovněž jako linie 5 nižší obsah bílkovin a lyzinu. Také její biologická hodnota bílkovin je nízká (Ehrenberger -

II. Vztahy mezi nutričními a výnosovými ukazateli (průměrné hodnoty z let 1988 až 1990) – Correlations between nutritional and yield values (averages 1988 to 1990)

Ukazatel <sup>1</sup>	Typ zrna <sup>2</sup>	Obsah <sup>3</sup> (%)			Lyzin <sup>7</sup>		Výnos bílkovin <sup>10</sup> (t/ha)
		EAK <sup>4</sup>	lyzinu <sup>5</sup>	bílkovin <sup>6</sup>	podíl v 16 g N <sup>8</sup>	výnos <sup>9</sup> (kg/ha)	
Zrno výnos <sup>11</sup> (t/ha)	<i>p</i>	0,262	0,046	-0,596	0,449	0,790*	0,514
	<i>b</i>	-0,260	0,793	-0,565	0,676	0,937**	0,148
	<i>č</i>	-0,918**	0,872*	-0,792	-0,129	0,883*	0,824*
Bílkoviny výnos (t/ha)	<i>p</i>	0,499	0,171	0,374	-0,101	0,503	
	<i>b</i>	-0,250	-0,183	0,709	-0,556	-0,014	
	<i>č</i>	-0,612	-0,707	-0,328	-0,593	0,705	
Lyzin výnos (kg/ha)	<i>p</i>	0,203	0,645	-0,335	0,795*		
	<i>b</i>	0,131	0,955	-0,712	0,832*		
	<i>č</i>	-0,761	-0,548	-0,790	0,143		
Lyzin podíl v 16 g N	<i>p</i>	0,031	0,746*	-0,512			
	<i>b</i>	0,165	0,902**	-0,975**			
	<i>č</i>	-0,070	0,310	-0,477			
Bílkoviny obsah (%)	<i>p</i>	0,762*	0,190				
	<i>b</i>	-0,246	-0,791				
	<i>č</i>	0,870*	0,639				
Lyzin obsah (%)	<i>p</i>	0,630					
	<i>b</i>	0,020					
	<i>č</i>	0,896*					

\*P < 0,05; \*\*P < 0,01

*p* = světložrné pluchaté – light grain hulled; *b* = světložrné bezpluché – light grain hull-less;

*č* = černožrné – black-grain

<sup>1</sup>indicator; <sup>2</sup>grain type; <sup>3</sup>content; <sup>4</sup>essential aminoacids; <sup>5</sup>content lysine; <sup>6</sup>content of protein; <sup>7</sup>lysine;

<sup>8</sup>ratio of lysine to protein; <sup>9</sup>yield of lysine; <sup>10</sup>yield of protein; <sup>11</sup>yield of grain

rová, 1991). Další linie ze skupiny pluchatých genotypů nevyhovovaly v nutričních ukazatelích, měly nízký obsah EAK, bílkovin, lyzinu a podíl lyzinu v bílkovinách; některé dávaly i nízký výnos bílkovin a lyzinu.

Porovnáme-li výnos bílkovin, výnos lyzinu i podíl lyzinu, zjistíme, že nejvyšších průměrných hodnot za tříleté období zkoušení dosahuje skupina genotypů bezpluchých.

Záporná korelace mezi obsahem bílkovin a výnosem zrna z jednotky plochy (Heger et al., 1989; Reck-Ciepla et al., 1985), byla zjištěna i v našich výsledcích (tab. II), i když korelační koeficienty nebyly statisticky významné. Tento záporný vztah byl silnější u genotypů černostrnných, které dosahovaly zároveň nejvyššího obsahu bílkovin v zrně. Z toho vyplývá, že není žádoucí, aby se obsah bílkovin v zrně zvyšoval nad hranici 15 %, což podporuje Price (1980) tvrzením, že nad tuto hranici stoupá obsah prolaminového dusíku, který dobytek nedokáže zužitkovat. O vhodnosti středního obsahu bílkovin (12 - 14 %) svědčí i vypočtený kladný vztah ( $r = 0,793$ ) u genotypů bezpluchých pro obsah lyzinu a výnos zrna, neboť u genotypů černostrnných byl tento vztah záporný, statisticky významný, což potvrdila i Vaculová (1988). Kladný vztah mezi výnosem zrna a obsahem lyzinu u bezpluchých genotypů koresponduje i s jejich statisticky významným korelačním koeficientem pro výnos zrna a lyzinu, nejvyšším ze srovnávaných skupin genotypů. Byla zjištěna vysoká záporná hodnota korelačního koeficientu ( $-0,975^{**}$ ) pro obsah bílkovin a podíl lyzinu v nich (Focke, 1977) u bezpluchých genotypů (tab. II), podporující rovněž názor, že není žádoucí zvyšovat obsah bílkovin, ale spíše zvyšovat podíl lyzinu v nich. Tento podíl je právě nejnižší u linie 10 s nejvyšším obsahem bílkovin ze skupiny genotypů bezpluchých (tab. I).

Korelační koeficient pro obsah lyzinu a bílkovin u genotypů černostrnných byl v souladu se zjištěním (Pomeranz, 1975), které nepotvrzuje jeho negativní hodnotu u materiálu s vyšším obsahem bílkovin; u bezpluchých genotypů se středním obsahem bílkovin jsme našli tento vztah záporný a silnější než uvádí Vaculová (1988) pro celou skupinu jarních a ozimých ječmenů. U genotypů pluchatých a bezpluchých byl podobně nalezen kladný vztah mezi výnosem zrna a podílem lyzinu v bílkovinách, přičemž silnější byl tento vztah u genotypů bezpluchých.

Ve prospěch bezpluchých genotypů svědčí silný (silnější než u genotypů pluchatých) kladný vztah mezi výnosem bílkovin z jednotky plochy a obsahem bílkovin v zrně na rozdíl od genotypů černostrnných. Kladný, statisticky významný byl vztah mezi výnosem lyzinu a jeho podílem v bílkovinách u genotypů bezpluchých i pluchatých, u genotypů černostrnných byl záporný. Výnos bílkovin byl v kladném vztahu k výnosu zrna, nejnižší hodnota korelace byla prokázána u bezpluchých genotypů, zatímco vysokou průkaznou hodnotou u černostrnných genotypů bylo potvrzeno, že vysoký výnos bílkovin by u nich musel být zabezpečen vysokým výnosem zrna, což se ukázalo podle výsledků v této práci dosažených

nerelativně. Výnos lyzinu byl jednoznačně kladně a průkazně spojen s výnosem zrna, nejsilněji u bezpluchých genotypů.

### Literatura

- BACH KNUDSEN, K. E. - EGGUM, B. O. - INGEBOG JACOBSEN, I.: Nutritive value of Danish - grown barley varieties, II. J. Cereal Sci., 6, 1987 : 188-195.
- EHRENBERGEROVÁ, J.: Studium a možnosti využití jarního krmného ječmene. [Disertační práce.] Brno, 1991. - Vysoká škola zemědělská.
- FOCKE, R. et al.: Weitere Untersuchungen zur Proteinqualität neuer Gersten - und Kornmaiszüchtungen aus der Sicht der Tierernährung. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 158, 1977 : 79-87.
- HAGBERG, A. K. - KARLSSON, K. E. - MUNCK, L.: Use of Hiproly in barley breeding. In: Improv. Plant Protein by Nuclear Techniq., Proc. Symp., IAEA, Vienna, 1970 : 121-132.
- HEGER, J. - ČERNÝ, J. - MALÝ, J.: Krmná hodnota některých odrůd ozimé pšenice a tritikale. Rostl. Vyr., 35, 1989 : 1189-1199.
- KUDLA, M. - KUDLA, M. M. - CZEMBOR, H. J.: Wartosc kombinacyj na odmian i efekty dzialania genow u mieszanow jeczmienia jarego. Biul. Inst. Hod. i Aklim. Rosl., 167, 1988 : 3-12.
- MUNCK, L.: Improvement of nutritional value in cereals. Hereditas, 72, 1972 : 1-128.
- MUNCK, L. - KARLSSON, K. E. - HAGBERG, A. - EGGUM, B. O.: Gene for improved nutritional value in barley seed proteins. Science, 168, 1970 : 985-987.
- NEWMAN, C. W. - OVERLAND, M. - NEWMAN, R. K. - BANG-OLSEN, K. - PEDERSEN, B.: Protein quality of a new high-lysine barley derived from Riso 1508. Can. J. anim. Sci., 70, 1990 : 279-285.
- OLSEN, O. A.: Diallel analysis of high lysine barley, *Hordeum vulgare* L. II. Parental lines and segregation for qualitative characters. Hereditas, 88, 1978 : 2.
- OLSEN, O. A.: Diallel analysis of high lysine barley, *Hordeum vulgare* L. IV. Selection for double recessive high lysine genotypes. Hereditas, 92, 1980 : 379-382.
- POMERANZ, Y.: Proteins and amino acids of barley. Barley Genet. II. Garching, 1975 : 620-632.
- PRICE, P. B.: Barley proteins. S. Dak. St. Univ. Ext. Circ., 1980 : FS 759.
- PRZYBYLSKA, J.: Problemy hodowli wysokolizynowych jeczmieni w swietle badan genetycznych, biochemycznych i zywnieniowych. Post. Nauk roln., 151, 1975 : 16-40.
- REK-CIEPLA, B. - CZEMBOR, H. J. - NEUMANN, M.: Ocena niektorych cech jakosciowych bialka ziarna jeczmienia. Biul. Inst. Hod. i Aklim. Rosl., 29, 1985 : 49-59.
- RJADČIKOV, V. G.: Ulučenie zernovych belkov i ich ocenka. Moskva, Kolos 1978 : 368s.
- ŠIMEČEK, K. - MINAŘÍK, F.: Bilanční stravitelnost živin a energie pluchatých a nahých ječmenů, stanovená na prasatech. In: Sbor. věd. Pr. VÚVZ Pohořelice, 16, 1982 : 23-26.
- TALLBERG, A. - EGGUM, B. O.: Grain yields and nutritional qualities of some high-lysine barley hybrids. J. Cereal Sci., 4, 1986 : 345-352.
- UHLÍK, J. - MAREK, V.: Obsah aminokyselin u kříženců vysoce bílkovinných mutantů se sladovnickými ječmeny. Genet. a Šlecht., 24, 1988 : 145-150.

VACULOVÁ, K.: Studium geneticko-šlechtitelských metod zlepšování nutriční hodnoty krmného ječmene. [Disertační práce.] Kromčříž, 1988. - Výzkumný a šlechtitelský ústav obilnářský.

WELCH, R. W. - NJOROGE, K. - HABGOOD, R. M.: Selection for Increased Grain Protein Production in Barley. Edinburgh, Univ. Press 1981 : 271-277.

ZEMAN, L. - ŠIMEČEK, K.: Výživa a technika krmení prasat. [Skripta pro postgraduální studium.] Brno, Vysoká škola zemědělská 1991.

Došlo dne 17. 9. 1993

*J. Ehrenbergerová (University of Agriculture, Brno, Czech Republic)*

### **Nutritional and yield value of different genotypes of spring feed barley and their correlations**

Twenty lines of spring feed barley were tested in experiments during 1988 -1990 at Breeding Station in Branišovice. These lines belonged to three groups of genotypes by the colour and the hull of grains. The first group included light grain hulled genotypes, the second light grain hull-less ones and the black grain ones were in the third group. The malting cultivar Zenit and feed hull-less line KM 280 were used as control cultivars (author ing. Vaculová).

The group of hull-less genotypes of spring feed barley proved insignificantly higher values of essential amino-acid and lysine content, higher average values of lysine in protein and higher yield of protein and lysine per unit area than the hulled and black-grain genotypes and also than the malting control cultivar Zenit (insignificant - tab. I). The hulled light grain line 5 excelled in the percentage value of lysine in protein (4.34 %). The black grain genotypes had the highest content of protein, however their protein and lysine yield and percentage value of lysine in protein were the lowest compared to the other groups of genotypes.

The negative correlation between the protein content and grain yield per unit area was found out for all genotype groups (tab. II). A positive strong correlation was determined in the content of lysine and grain yield, however only for hull-less genotypes. A stronger positive correlation for protein yield and protein content in grains, for lysine content and yield (statistically highly significant) was found in the hull-less genotypes compared with the hulled ones. As for the black grain genotypes, their correlations were negative. We determined the negative correlation between protein content and lysine content in protein in hull-less genotypes, which supports the opinion of dietetics that it is not good to increase protein content in grain because lysine content in protein decreases.

spring feed barley; *Hordeum*; breeding; protein; lysine; essential aminoacids

## GENETIKA REZISTENCE ODRŮD PŠENICE OZIMÉ SOFIA, SENTA, SIMONA, VLADA A VEGA KE RZI TRAVNÍ A RZI PŠENIČNÉ

Pavel BARTOŠ, Eva STUHLÍKOVÁ, Renata HANUŠOVÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně

V letech 1990 až 1992 byly kromě slovenských odrůd povoleny tři odrůdy pšenice ozimé, Sofia, Senta a Simona ze Šlechtitelské stanice Stupice, odrůda Vega ze Šlechtitelské stanice Hrubčice a odrůda Vlada ze Šlechtitelské stanice Branišovice. U těchto odrůd se zjišťoval jejich genetický základ rezistence ke rzi travní a rzi pšeničné, pokud k těmto rzím vykazovaly odolnost ve skleníkových testech. Srovnávaly se reakce těchto odrůd k pěti rasám rzi travní a k šesti rasám rzi pšeničné s liniemi nebo odrůdami se známými geny rezistence a zjišťovala se reakce kříženců těchto odrůd v  $F_1$ ,  $F_2$ , případně  $F_3$  generaci ve fázi jednoho až dvou listů ve skleníku. Tak bylo stanoveno, že odrůdy Sofia a Senta mají „žitnou rezistenci“ (translokace 1BL/1RS, geny *Sr31*, *Lr26*, *Yr9*, *Pm8*). Odrůda Simona má gen rezistence ke rzi travní totožný s odrůdou Zdar. Je však náchylná ke všem použitým rasám rzi pšeničné. U odrůdy Vlada štěpení kříženců odpovídalo třem recesivním genům rezistence ke rzi travní a dvěma genům rezistence ke rzi pšeničné. U odrůdy Vega byl prokázán gen rezistence ke rzi pšeničné *Lr3*, ke rzi travní byla odolná jen malá část rostlin této odrůdy. Kromě genů již dříve využitých v sortimentu povolených odrůd se s odrůdou Vlada dostávají na provozní plochy nové geny rezistence, což přispívá k žádoucí diverzifikaci genetického základu rezistence ke rzím našich povolených odrůd pšenice ozimé.

rez travní; rez pšeničná; odrůdová odolnost; povolené odrůdy pšenice

Údaje o genech rezistence k chorobám mají význam nejen pro šlechtitele, ale i pro pěstitelskou praxi, protože umožňují volbu vhodných kombinací odrůd snižujících riziko ztrát při epidemiích. Výsledky studia starších českých, moravských a slovenských odrůd pšenice ozimé jsou shrnuty v publikacích Bartoš et al. (1990), Stuhlíková et al. (1989) a Bartoš, Stuhlíková (1990). Údaje o českých a moravských odrůdách pšenice ozimé povolených v letech 1990 až 1992 jsou uvedeny v této práci.

### MATERIÁL a METODY

Osivo použité k pokusům pocházelo z ÚKZÚZ Sedlec, rasy rzí z rasových analýz, které se každoročně provádějí u vzorků z různých lokalit Čech, Moravy a Slovenska. Původ a rok povolení studovaných odrůd je uveden v tab. I.

I. Rok povolení, původ a *Lr* a *Sr* geny studovaných odrůd – Year of registration, pedigree and *Lr* and *Sr* genes of the studied cultivars

Odrůda <sup>1</sup>	Rok povolení <sup>2</sup>	Původ <sup>3</sup>	Geny rezistence <sup>4</sup>	
			<i>Lr</i>	<i>Sr</i>
Sofia	1990	(Mironovská 808 x Artois Desprez) x (Weihenstephan 378/57 x Maris Huntsman)	3, 26	31
Senta	1991	(Benno x Sava) x (Mironovská 808 x Artois Desprez)	3, 26	31
Simona	1990	(Weihenstephan 378/57 x Maris Huntsman) x Zdar	-	Zdar
Vlada	1990	Mironovská 808 x [(Kaštická osinatá x <i>T. timopheevi</i> x Harrachswitzen) x (Harrachswitzen x San Pastore x Kavkaz)]	+, +	+, +, +
Vega	1992	Hana x Selektá	3	-

<sup>1</sup>cultivar; <sup>2</sup>year of registration; <sup>3</sup>pedigree; <sup>4</sup>resistance genes

Testy probíhaly ve sklenku při teplotách 17 až 22 °C za dosvětlování zářivkovými rámy. Rostliny jsme inokulovali potíráním prvního listu suspenzí uredospor s následnou inkubací za vysoké vzdušné vlhkosti pod uzavřenými skleněnými válci po 24 až 48 hodin. Napadení jsme hodnotili infekčními typy, které popsali S t a k m a n et al. (1962).

## VÝSLEDKY

**Sofia a Senta:** Údaje v tab. II ukazují, že reakce odrůd Sofia a Senta jsou srovnatelné s reakcemi odrůdy Sparta, u níž byly již dříve prokázány geny *Sr31*, *Lr26* a *Lr3* (B a r t o š et al., 1990; S t u c h l í k o v á et al., 1989). Shodné reakce ke rzi travní má i linie s translokací 1BL/1RS (geny *Sr31*, *Lr26*, *Yr9* a *Pm8*). Reakce ke rzi pšeničné odpovídají kombinaci reakcí zmíněné linie s reakcemi linie s genem *Lr3*, což rovněž potvrzuje přítomnost genů *Sr31*, *Lr26* a *Lr3* v odrůdách Sofia a Senta. Štěpení F<sub>2</sub> generace křížení Sofia x Zdar k rase 11 (G 425) rzi travní (tab. III), jakož i štěpení F<sub>2</sub> generace křížení Senta x Regina k rase 21 (G 69) rzi travní, se blíží štěpnému poměru 3 rezistentní : 1 náchylná, charakteristickému pro jeden dominantní gen s nadbytkem náchylných rostlin (přes 30 %). Podobný vyšší podíl náchylných rostlin byl zjišťován u odrůd s translokací 1BL/1RS i v dřívějších pokusech (B a r t o š et al., 1990; S t u c h l í k o v á et al., 1989). Původ odrůdy Sofia, totožný s odrůdou Sparta, ukazuje, že translokace 1BL/1RS s geny rezistence *Sr31* a *Lr26* pochází zřejmě z kmene Weihenstephan 378/57, gen *Lr3* z odrůdy Mironovská 808. U odrůdy Senta se translokace 1BL/1RS odvozuje od odrůdy Benno, gen *Lr3* od odrůdy Mironovská 808.

**Simona:** Odrůda Simona měla podobné reakce ke rzi travní jako odrůda Zdar, nepřehlížíme-li k malému podílu odolných rostlin k rasám 102 a 11 vedle velké většiny náchylných rostlin. Štěpení 3 rezistentní : 1 náchylná v  $F_2$  generaci křížení Simona x Regina po inokulaci rasou 14 rzi travní potvrdilo přítomnost jednoho dominantního genu, neštěpení v  $F_2$  generaci křížení Simona x Zdar ukázalo, že obě odrůdy mají identický gen rezistence. Původ odrůdy Simona ukazuje, že gen, již dříve prozatímně označený symbolem *Sr Zdar*, je odvozen od odrůdy Zdar, což je od jednoho z rodičů. Přestože v původu odrůdy Simona je odrůda Weihestephan 378/57, translokace 1BL/1RS se ve výběrech neuplatnila, což mohlo souviset se snahou vyhnout se nižší pekařské kvalitě spojené s translokací 1BL/1RS.

**Vlada:** Odrůda Vlada byla náchylná k rase 102 a 11 rzi travní s malým podílem odolných rostlin, avšak odolná k rasám 14, 21 a 34. Náchylná reakce v  $F_1$  ukázala recesivní založení rezistence v křížení Vlada x Regina i Vlada x Zdar. Štěpení  $F_2$  generace těchto křížení ukázalo, že rezistenci řídí nejméně dva recesivní geny. Nicméně štěpný poměr pro dva recesivní geny (7 rezistentních : 9 náchylných) byl u křížení Vlada x Regina na hranici průkaznosti, u štěpení Vlada x Zdar pod hranicí průkaznosti (tab. III). V  $F_3$  generaci křížení Vlada x Regina bylo z 52 testovaných linií 18 odolných, 7 náchylných a 27 linií štěpilo. Předpokládaný štěpný poměr pro dva recesivní geny je 7 rezistentních : 1 náchylná : 8 štěpících; pro zjištěné štěpné poměry je  $\chi^2 = 5,52$ ,  $P = 0,2 - 0,05$ , tedy rovněž na hranici průkaznosti. Zjištěným štěpným poměrem lépe odpovídá hypotéza tří recesivních genů rezistence, z nichž dva jsou komplementární (štěpení 19 odolných : 45 náchylných). Zjištěné hodnoty  $P$  byly pro křížení Vlada x Regina 0,5 - 0,2 a pro křížení Vlada x Zdar 0,8 - 0,5. Velmi dobrá shoda byla i s předpokládaným štěpením v  $F_3$  generaci - 19 odolných : 7 náchylných : 38 štěpících, zjištěné  $\chi^2 = 1,203$ ,  $P = 0,8 - 0,5$ . K ověření této hypotézy by bylo třeba dalších křížení, protože ani jiné složitější genetické založení rezistence nelze vyloučit.

Ke rzi pšeničné měla odrůda Vlada s odolnou reakcí ke čtyřem ze šesti užitých ras značně široký rozsah rezistence, podobně jako odrůda Branka, pocházející z téže šlechtitelské stanice. Odrůda Vlada se však lišila od odrůdy Branka náchylnou reakcí k rase 77 (243). Tento rozdíl, podobně jako odlišný genetický základ rezistence ke rzi travní ukazuje, že odrůda Vlada, na rozdíl od odrůdy Branka, nemá rezistenci založenou na translokaci 1BL/1RS. Pravděpodobnou přítomnost dvou genů rezistence ke rzi pšeničné ukazuje štěpení v  $F_2$  generaci křížení Vlada x Regina a Vlada x Zdar. Zatímco k rase 53 SaBa (izolát 3015) štěpila uvedená křížení v poměru charakteristickém pro dva dominantní geny (15 odolných : 1 náchylná), k rase 61 SaBa (izolát 628) bylo možné interpretovat výsledky jako štěpení jednoho dominantního a jednoho recesivního genu. To lze vysvětlit tak, že u jednoho genu je jedna alela genu rezistence dostatečná k rezistentní reakci k oběma rasám; u druhého genu jen k jedné rase (53 SaBa), kdežto pro rezistentní reakci k druhé rase (61 SaBa) musí být přítomny obě alely tohoto genu. O které geny se jedná, lze jen těžko na základě reakcí a původu odrůdy usuzovat.

## II. Reakce odrůdy ke rzi travní a rzi pšeničné – Reactions of the varieties to stem and leaf rust of wheat

Odrůda <sup>1</sup>	Rez travní <sup>2</sup>					Rez pšeničná <sup>3</sup>					
	102 G964	14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	53SaB 2049	14SaBa 600	61 1887	61SaBa 628	77 243	77SaBa 1947
Sofia	;	;1	;1	;1	;1	;1	0;	0	3	0	3
Senta	;	;1	;1+	;1	;1+	0;	0;	0	3	0;	3
Simona	3 (;)	;1	3	3	3 (;)	3	3	3	3	3	3
Vlada	3	;1 (2+)	;1 - 2	0; 1-2	3 (;1)	0;	0	0	0;	3	3
Vega	3	3	3 (1-2)	3 (2)	3 (1-2)	0;	0;	3	3	3	3
1BL/1RS	;	;1	;1	;1	;1	3	3	0	3	0	3
Lr3	-	-	-	-	-	0;	;	3	3	3	3
Zdar	3	;1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Branka	;	;	;	;	;	0	0	0	0	0	3
Sparta	;	;1	;1	;1	;1	;1	0;	0	3	0;	3

<sup>1</sup>cultivar; <sup>2</sup>stem rust; <sup>3</sup>leaf rust

III. Štěpení reakcí ke rzi travní a rzi pšeničné v F<sub>2</sub> generaci kříženců – Segregation of reactions to stem and leaf rust of wheat in F<sub>2</sub> generation of crosses

Křížení <sup>1</sup>	Rez <sup>2</sup>	Rasa / izolát <sup>3</sup>	Počet rostlin <sup>4</sup>			Předpokládané štěpení <sup>8</sup>	$\chi^2$	P
			celkem <sup>5</sup>	odolné <sup>6</sup>	náchylné <sup>7</sup>			
Sofia x <u>Zdar</u>	P. gr.	11 / G425	189	126	63	3 : 1	7,25	<0,01
Senta x <u>Regina</u>	P. gr.	21 / G69	171	110	61	3 : 1	10,11	<0,01
Simona x <u>Regina</u>	P. gr.	14 / G530	299	220	79	3 : 1	0,32	0,8 - 0,5
Simona x Zdar	P. gr.	14 / G530	343	341	2*	-	-	-
Vlada x <u>Regina</u>	P. gr.	34 / G334	91	31	60	7 : 9 19 : 45	3,45 0,84	0,2 - 0,05 0,5 - 0,2
Vlada x <u>Zdar</u>	P. gr.	34 / G334	87	28	59	7 : 9 19 : 45	4,72 0,27	0,05 - 0,01 0,8 - 0,5
Vlada x <u>Regina</u>	P. rec.	61SaBa / 628	111	90	21	13 : 3	0,02	0,99 - 0,95
	P. rec.	53SaBa / 3015	107	98	9	15 : 1	0,84	0,5 - 0,2
Vlada x <u>Zdar</u>	P. rec.	61SaBa / 628	115	91	24	13 : 3	0,34	0,8 - 0,5
	P. rec.	53SaBa / 3015	116	106	10	15 : 3	1,11	0,5 - 0,2
Vega x Hana	P. rec.	53SaBa / 3015	117	117	0	-	-	-

Odrůdy náchylné k dané rase jsou podtrženy – Cultivars susceptible to the given race are underlined

P. gr. = *Puccinia graminis* subsp. *graminis* - rez travní – stem rust

P. rec. = *Puccinia persistens* Plow. var. *tritricina* (Eriks.) Urban et Marková (= *P. recondita*) - rez pšeničná – leaf rust

\* pravděpodobně příměs – probably admixture

<sup>1</sup>cross; <sup>2</sup>rust; <sup>3</sup>race / isolate; <sup>4</sup>number of plants; <sup>5</sup>total; <sup>6</sup>resistant; <sup>7</sup>susceptible; <sup>8</sup>expected segregation

**Vega:** Odrůda Vega má jen menší podíl rostlin odolných ke třem z pěti ras rzi travní, použitých k testům. Převládají rostliny náchylné. Reakce ke rzi pšeničné je shodná s linií s genem *Lr3*. Identita genů rezistence ke rzi pšeničné v odrůdách Vega a Hana, u níž byl již dříve prokázán gen *Lr3*, byla potvrzena v  $F_2$  generaci křížení uvedených odrůd tím, že nevyštěpila žádná náchylná rostlina. Odrůda Vega má tedy gen rezistence ke rzi pšeničné *Lr3*.

#### DISKUSE

Z českých odrůd pšenice ozimé, povolených v letech 1990 až 1992, mají dvě odrůdy ze Šlechtitelské stanice Stupice, a to Sofia a Senta, translokaci 1BL/1RS, tedy nejrozšířenější zdroj rezistence i v dříve povolených odrůdách. Z genů *Sr31*, *Lr26*, *Yr9* a *Pm8*, které tato translokace nese, zůstává zcela účinný jenom gen rezistence ke rzi travní *Sr31*, další geny jsou účinné jen k méně významným rasám. Translokace 1BL/1RS má pozitivní vliv na výnos a na regeneraci rostlin z explantátových kultur využívaných v dihaploidním šlechtění, avšak negativní vliv na pekařskou jakost. Třetí česká povolená odrůda ze Šlechtitelské stanice Stupice je odolná jen k méně významné rase 14 rzi travní (gen předběžně označen symbolem *Sr Zdar*) a je náchylná ke rzi pšeničné. Moravská odrůda Vega ze Šlechtitelské stanice Hrubčice má jen menší část rostlin odolných k významným rasám rzi travní 34, 11 a 21. Její rezistence ke rzi pšeničné je podmiňovaná genem *Lr3*, častým ve starších odrůdách. Tento gen je účinný jen k méně významným rasám této rzi. Druhá moravská odrůda Vlada ze Šlechtitelské stanice Branišovice rozšiřuje genetický základ rezistence genofondu povolených odrůd jak ke rzi travní, tak ke rzi pšeničné. Její rezistence se liší od rezistence dříve povolených odrůd.

Hodnotíme-li rezistenci z hlediska rizika výskytu dosud převládajících ras rzi travní, pak lze předpokládat dostatečnou genetickou ochranu u odrůdy Vlada, jen slabou, částečnou u odrůdy Vega a dobrou ochranu u odrůd Sofia a Senta. Odrůda Simona není k převládajícím rasám odolná, ale není také určena pro oblasti potenciálně ohrožené rzi travní.

Proti nejrozšířenějším rasám rzi pšeničné poskytuje genetickou ochranu rezistence odrůda Vlada, při rozšíření odrůdy je však pravděpodobné i rozšíření virulentních ras. Stupeň napadení dalších studovaných odrůd bude záviset spíše na jejich polní horizontální rezistenci než na jejich specifických genech rezistence, neúčinných k převládajícím rasám.

#### Literatura

BARTOŠ, P. - STUHLÍKOVÁ, E.: Genetika rezistence odrůd pšenice ozimé Hana, Mara, Odra, Košútka, Viginta a Zdar ke rzi travní a rzi pšeničné. Genet. a Šlecht., 26, 1990 : 109-118.

BARTOŠ, P. - STUHLÍKOVÁ, E. - NEUHÄUSLOVÁ, Z.: Genetika rezistence československých odrůd pšenice s translokací 1B/1R ke rzi travní (*Puccinia graminis* Pers. subsp. *graminis*). Genet. a Šlecht., 26, 1990 : 23-30.

STAKMAN, E. C. - STEWART, D. M. - LOEGERING, W. C.: Identification of physiological races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. U.S. Dep. Agr., ARS Bull., E 617, 1962.

STUHLÍKOVÁ, E. - BARTOŠ, P. - NEUHÄUSLOVÁ, Z.: Genetika rezistence ke rzi pšeničné [*Puccinia persistens* Plow. var. *triticina* (Eriks.) Urban et Marková] československých odrůd pšenice s translokací 1B/1R. Genet. a Šlecht., 25, 1989 : 309-315.

Došlo dne 16. 6. 1993

*P. Bartoš, E. Stuchlíková, R. Hanušová (Research Institute for Crop Production, Praha-Ruzyně, Czech Republic)*

### **Genetics of stem and leaf rust resistance of winter wheat cultivars Sofia, Senta, Simona, Vlada and Vega**

In the years 1990-1992 three winter wheat cultivars Sofia, Senta and Simona from the Plant Breeding Station Stupice, cultivar Vega from the Plant Breeding Station Hrubčice and cultivar Vlada from the Plant Breeding Station Branišovice were registered in the former Czechoslovakia in addition to two Slovak winter wheats. Genes for stem and leaf rust resistance were studied in the above - mentioned cultivars from the Czech Republic. Reactions to five stem rust races and six leaf rust races were compared with the reactions of cultivars or lines possessing known resistance genes. Progenies of the crosses with the studied cultivars were inoculated with avirulent races and rust reactions were determined in  $F_1$ ,  $F_2$  and  $F_3$  generations at the 1-2 leaf stage in the greenhouse. Cultivars Sofia and Senta were found to have the "rye resistance" (1BL/1RS translocation, genes *Sr31*, *Lr26*, *Yr9* and *Pm8*). The stem rust resistance gene of the cultivar Simona is identical with that one of the cultivar Zdar. Simona was susceptible to all leaf rust races used in the test. The cultivar Vlada possesses probably three unidentified recessive genes for stem rust resistance and two unidentified genes for leaf rust resistance. In the cultivar Vega the gene *Lr3* for leaf rust resistance was identified. Only a small part of the plants of Vega were also resistant to stem rust. Rust resistance genes of the cultivars Sofia, Senta, Simona and Vega were used in the cultivars registered in the former Czechoslovakia already earlier. Rust resistance genes in the cultivar Vlada seem to be new in the assortment of the registered winter wheat cultivars. This is favourable for the desirable diversification of disease resistance genes in the grown cultivars.

stem rust; leaf rust; variety resistance; registered wheat varieties

**AD** *eko*  
A.S.

VÝHODNÝ LEASING  
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ  
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ  
PODNIKATELE

**ADEKO a. s. Vám nabízí**

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

**ADEKO a. s.**  
**Slezská 7**  
**120 56 Praha 2**  
**tel.: 258 342 fax.: 207 229**



## ODOLNOST SLOVENSKÝCH ODRŮD A NOVOŠLECHTĚNÍ PŠENICE OZIMÉ K PADLÍ TRAVNÍMU (*ERYSIPHE GRAMINIS* DC. F. SP. *TRITICI* MARCHAL)

Renata HANUŠOVÁ, Pavel BARTOŠ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně

Slovenské povolené odrůdy a novošlechtění pšenice ozimé ze státních odrůdových zkoušek ÚKZÚZ byly v letech 1989 až 1992 testovány více izoláty patogena za účelem stanovení genetického základu jejich rezistence k padlí travnímu ve fázi prvního listu. Přítomnost známých major genů rezistence pak byla ověřována hybridologickou analýzou, tj. testováním kříženců studovaných odrůd v F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> a F<sub>3</sub> generaci rovněž ve fázi prvního listu. Kromě známých major genů rezistence *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8* byl zjištěn účinek dosud neurčených genů rezistence k padlí travnímu u odrůdy Soldur a novošlechtění pšenice tvrdé SO-D-94. V odrůdě Agra byla prokázána přítomnost genu - inhibitoru se specifickým účinkem ke genu *Pm8*. V polních pokusech při přirozeném výskytu padlí travního byla zjištěna u některých odrůd a linií bez major genů rezistence polní odolnost v dospělosti.

*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*; pšenice ozimá; specifická rezistence; major geny

Padlí travní *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* je závažným patogenem na pšenici, vyskytující se pravidelně především ve střední a severní části Evropy. Škody, které padlí travní způsobuje, mohou v některých případech přesáhnout 25 % výnosu (F e l s e n s t e i n , 1991). Kromě agrotechnických opatření, jako je přiměřené hnojení dusíkem a vhodná doba setí, lze napadení padlím redukovat hlavně pěstováním odolných odrůd nebo aplikací fungicidů. Vhodnou kombinací uvedených přístupů mohou být ztráty sníženy na minimum. Geneticky podmíněná odolnost je navíc způsob ochrany rostlin, který nezatěžuje životní prostředí.

### MATERIÁL a METODY

V letech 1989 až 1992 jsme studovali genetický základ rezistence k padlí travnímu u slovenských povolených odrůd pšenice ozimé a u novošlechtění zkoušených v těchto letech ve státních odrůdových zkouškách ÚKZÚZ.

Osivo použité k pokusům pocházelo z odrůdové zkušebny ÚKZÚZ Sedlec a bylo totožné s osivem použitým v příslušném roce v pokusech ÚKZÚZ. Izoláty patogena byly získány formou jednopustulových izolací z přirozené populace padlí travního v Praze-Ruzyni. Vybrané izoláty se lišily reakcemi k diferenačním odrůdám testovacího sortimentu a umožňovaly určit jednotlivé známé geny

rezistence. Údaje o přítomnosti genu *Pm5* byly získány spoluprací s Katedrou pro přestovávání a šlechtění rostlin ve Weihenstephanu, T. U. Mnichov, SRN.

Pro aproximativní analýzy, tj. testy více rasami patogena, i pro genetické analýzy jsme rostliny předpěstovávali v kořenáčích ve skleníku při teplotě 15 až 25 °C a ve fázi prvního listu jsme je zakryté skleněnými válci inokulovali poprášením konidii padlí. Válce jsme přikryli gázou a dále přechovávali v klimatizovaném boxu s teplotním a světelným režimem (noc - 10 hodin, 10 až 12 °C; den - 14 hodin, 15 až 18 °C, osvětlení 3 000 lx). Reakce studovaných odrůd a linií jsme srovnávali s reakcemi odrůd se známými geny rezistence a podle shodných reakcí usuzovali na přítomnost týchž genů rezistence (H a n u š o v á, 1992).

U odrůd, u nichž se podle výsledků aproximativních analýz dalo usuzovat na přítomnost známých genů rezistence k padlí travnímu, jsme dále studovali genetické založení rezistence hybridologickou analýzou. Hodnotili jsme reakce  $F_1$ ,  $F_2$  a  $F_3$  generace kříženců studované odrůdy s náchylnou odrůdou nebo s jinou odrůdou se známými geny rezistence.

Odolnost odrůd a novošlechtění byla po čtyři roky (u novošlechtění dva až čtyři roky) hodnocena rovněž v dospělosti v polních pokusech ve VÚRV Praha-Ruzyně stupnicí ÚKZÚZ po napadení přirozenou populací padlí travního (1 - náchylná až 9 - odolná).

## VÝSLEDKY a DISKUSE

Tab. I a II shrnují údaje o genetickém založení odolnosti odrůd a novošlechtění k padlí travnímu. Většina odrůd má jeden nebo dva známé major geny rezistence (geny *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*), odrůdy Blava, Košůtka a Viginta nemají žádný major gen rezistence. Odolnost odrůdy tetraploidní pšenice tvrdé Soldur je řízena dosud neurčeným genem (nebo geny) rezistence, účinným vůči všem izolátům patogena použitým k testům. U poloviny testovaných novošlechtění nepředpokládáme žádný známý major gen rezistence. Odolnost ostatních novošlechtění řídí geny *Pm2*, *Pm4b*, *Pm6*, *Pm8*, a to většinou v kombinaci. Linie SO-D-94 má vysokou rezistenci podmíněnou dosud neurčeným genem (geny) rezistence podobně jako odrůda Soldur. V poslední části tabulek I a II jsou údaje o průměrném stupni napadení odrůd a linií v dospělosti v polních podmínkách.

Výsledky hybridologických analýz, tj. reakce v  $F_1$  generaci, štěpení v  $F_2$  a  $F_3$  generaci a vyhodnocení shody získaných štěpných poměrů s očekávaným štěpným poměrem pomocí  $\chi^2$ -testu, jsou shrnuty v tab. III. Tab. IV uvádí reakce rodičovských odrůd ze studovaných křížení k použitým izolátům padlí travního. U odrůd s translokací 1B/1R jsme při interpretaci výsledků brali v úvahu zkušenosti s nepravidelným (sníženým) přenosem genetické informace získané z cizích chromozómů (tj. nadbytek náchylných rostlin proti očekávanému štěpení), které byly dříve popsány (B a r t o š, B a r e š, 1971).

**Odrůda Agra** pochází z křížení Purdue 66278 x SO 27-281. Druhý rodič je křížencem odrůd Aurora a S 985. Odrůda Agra má podle aproximativních analýz

I. Odolnost slovenských odrůd pšenice ozimé k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) ve VÚRV Praha-Ruzyně v letech 1989 až 1992 při přirozeném napadení v polních pokusech (1 - náchylná, 9 - odolná) – Resistance of Slovak winter wheat cultivars to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) under natural field infection at Prague-Ruzyně in the years 1989 to 1992 (1 - susceptible, 9 - resistant)

Odrůda <sup>1</sup>	Rok povolení <sup>4</sup>	Geny rezistence <sup>5</sup>	Ø stupeň napadení v dospělosti <sup>6</sup>
<b>S geny rezistence<sup>2</sup></b>			
*Agra	1985	PM2, 6, (8)	6,6
*Danubia	1984	PM5, 8	4,9
Ilona	1989	PM5	6,5
*Iris	1983	PM5, 8	4,5
*Livia	1991	PM8	5,4
*Roxana	1985	PM4b, 8	3,5
Soldur	1989	+	8,3
*Torysa	1992	PM2, 6	6,3
<b>Bez genů rezistence<sup>3</sup></b>			
Blava	1992	-	5,4
Košútka	1981	-	3,6
Viginta	1984	-	6,1

\* u odrůdy byla provedena hybridologická analýza – hybridologic analysis was carried out in the cultivar

<sup>1</sup>cultivar; <sup>2</sup>cultivars with resistance genes; <sup>3</sup>cultivars without resistance genes; <sup>4</sup>registration year; <sup>5</sup>resistance genes; <sup>6</sup>average degree of infestation at adult stage

odolnost podmíněnou kombinací genů *Pm2* a *Pm6*, získaných z linie Purdue 66278. Přestože obsahuje geny odolnosti ke rzi travní *Sr31* (Bartoš, Stuchlíková, 1987) a ke rzi pšeničné *Lr26* (Bartoš, et al., 1990), tedy translokaci 1BL/1RS přenesenou pravděpodobně z odrůdy Aurora, neprojevuje se v ní gen *Pm8*. Výsledky ukazují náchylnou reakci F<sub>1</sub> generace křížení odrůd Agra x Vala po inokulaci izolátem 47, avirulentním ke genu *Pm8* a virulentním ke genu *Pm2* a *Pm6*. Tento výsledek nenasvědčí o přítomnosti genu *Pm8* v odrůdě Agra. V F<sub>2</sub> generaci křížení Agra x Vala však po inokulaci tímto izolátem 47 vyšťepily odolné rostliny v poměru 3 odolné : 13 náchylným a linie F<sub>3</sub> generace těchto křížení vyšťepily v poměru 1R : 7S : 8 seg. Uvedené štěpné poměry nasvědčují tomu, že odrůda Agra má předpokládaný gen odolnosti k padlí *Pm8*, avšak inhibovaný dalším genem. Jedná se zřejmě o gen - inhibitor (supresor) se specifickým účinkem ke genu *Pm8*.

V F<sub>2</sub> generaci křížení odrůd Agra x Vala byl po inokulaci izolátem 45 virulentním ke genu *Pm8*, *Pm2* a avirulentním ke genu *Pm6* zjištěn štěpný poměr

II. Odolnost slovenských novošlechtění pšenice ozimé k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) ve VÚRV Praha-Ruzyně v letech 1989 až 1992 při přirozeném napadení v polních pokusech (1 - náchylná, 9 - odolná) – Resistance of Slovak winter wheat advanced lines to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) under natural field infection at Prague-Ruzyně in the years 1989 to 1992 (1 - susceptible, 9 - resistant)

Novošlechtění <sup>1</sup>	Předpokládané geny rezistence <sup>4</sup>	Ø stupeň napadení v dospělosti <sup>5</sup>
<b>Linie s geny rezistence<sup>2</sup></b>		
PS II	<i>PM2</i> , 8	4,3
RA 10	<i>PM8</i>	4,3
SK 8090	<i>PM2</i> , 6, 4b/8	7,0
SO 2392	<i>PM2</i> , 6, 8	8,2
SO-D-94	+	8,0
<b>Linie bez genů rezistence<sup>3</sup></b>		
BU 30	-	4,5
RA 18	-	4,3
SO 4002	-	5,7
SO 7953	-	6,3
SO 8561	-	6,5
SO 928	-	6,0

<sup>1</sup> advanced line; <sup>2</sup> lines with resistance genes; <sup>3</sup> lines without resistance genes; <sup>4</sup> postulated resistance genes; <sup>5</sup> average degree of infestation at adult stage

3R : 1S, což ukazuje jeden dominantní gen v odrůdě Agra, a to *Pm6* s pravděpodobností  $P = 0,8 - 0,5$ . Po inokulaci stejného křížení izolátem 74 virulentním ke genu *Pm8* a avirulentním k *Pm2* a *Pm6* se blíží poměr 106 odolných : 13 náchylným rostlinám předpokládanému štěpnému poměru 15 : 1 pro dva dominantní geny (předpokládané geny *Pm2* a *Pm6*), avšak jen statisticky neprůkazně. Větší počet náchylných rostlin může být způsoben slabším projevem genu *Pm6* ve stadiu jednoho až dvou listů k některým izolátům padlí. Bylo zjištěno, že rezistence řízená tímto genem se často plně projeví až v pozdějších fázích vývoje rostliny (od třetího listu) (J o r g e n s e n, J e n s e n, 1972). Dobrá exprese genu *Pm6* ve stejném křížení po inokulaci rasou 45 tuto možnost sice nepotvrzuje, ale je nutno vzít v úvahu i možný vliv vnějších podmínek a genotypu izolátu patogena a genotypu testovaných rostlin (různé linie téhož křížení) na projev genu *Pm6*.

V F<sub>1</sub> generaci křížení odrůd Agra x Danubia po inokulaci izolátem 47 byly všechny rostliny náchylné a v F<sub>2</sub> generaci byl zjištěn štěpný poměr 1R : 3S. Tyto výsledky lze interpretovat dvojím způsobem:

a) gen *Pm8* v odrůdě Agra chybí a gen *Pm8* v odrůdě Danubia má v křížení odrůd Agra x Danubia recesivní účinek;

b) získané štěpné poměry odpovídají přítomnosti dominantního genu *Pm8* v odrůdě *Agra* i v odrůdě *Danubia* a dominantního inhibitoru v odrůdě *Agra*.

Dvojím způsobem můžeme vysvětlit také rezistentní reakci rostlin v  $F_1$  generaci a štěpení 108 rezistentních : 20 náchylným rostlinám v  $F_2$  generaci křížení odrůd *Agra* x *Selekta*:

a) štěpný poměr odpovídá přítomnosti genů *Pm8* a *Pm4b* v odrůdě *Selekta*, jednoho s dominantním a jednoho s recesivním účinkem;

b) štěpný poměr ukazuje na dominantní gen *Pm8* a dominantní inhibitor tohoto genu v odrůdě *Agra* a dva dominantní geny (*Pm8* a *Pm4b*) v odrůdě *Selekta*.

Vzhledem k důkazu přítomnosti genu *Pm8* v odrůdě *Agra* v křížení odrůd *Agra* x *Vala* je u obou křížení pravděpodobnější druhá možnost.

Odrůda *Danubia* vznikla z křížení odrůd *Purdue 5571* x (*Aurora* x *S 985*) a gen *Pm8*, předpokládaný podle reakcí k souboru izolátů, mohla získat z odrůdy *Aurora*. Ve třech testech  $F_2$  generace křížení odrůd *Maris Huntsman* x *Danubia* bylo po inokulaci izoláty 47 a 35 (oba avirulentní k *Pm8* a virulentní k *Pm2* a *Pm6*) zjištěno štěpení, které lze vysvětlit přítomností jednoho recesivního genu v odrůdě *Danubia* - *Pm8* se sníženým přenosem. Účinek genů *Pm2* a *Pm6* v odrůdě *Maris Huntsman* vyloučila virulence použitých izolátů k těmto genům.

Důkazem genu *Pm8* v odrůdě *Danubia* jsou též výsledky získané analýzou křížení odrůd *Agra* x *Danubia*, které byly již popsány u odrůdy *Agra*.

Recesivní gen *Pm5* můžeme v odrůdě *Danubia* pouze předpokládat podle výsledků, které uvádějí L u t z et al. (1992), kteří zjistili gen *Pm5* aproximativní analýzou v odrůdě *Danubia* i v rodičovské odrůdě *Purdue 5571*. Námi vytvořená kolekce izolátů neumožňovala prokázat gen *Pm5* ve studovaných odrůdách.

Odrůda *Iris* pochází z křížení odrůd *Siete Cerros* x *Kavkaz*. Přítomnost genu *Pm8*, předpokládaného podle reakcí k souboru ras v odrůdě *Iris*, jsme studovali v  $F_1$  a  $F_2$  generaci křížení odrůd *Iris* x *Regina*. Náchylná reakce rostlin v  $F_1$  generaci po inokulaci izolátem 35 a 47 (oba avirulentní ke genu *Pm8*) ukazuje recesivní založení genu *Pm8* v této kombinaci. To také potvrdila štěpení v  $F_2$  generaci.

Štěpení v  $F_2$  generaci křížení odrůd *Iris* x *Fox* odpovídá štěpnému poměru 3R : 1S pro jeden dominantní gen rezistence. Gen *Pm8* v odrůdě *Iris* má dominantní nebo recesivní účinek, což je zřejmě podmíněno genotypem druhého rodiče.

L u t z et al. (1992) popsali u odrůdy *Iris* dva geny rezistence - *Pm5* a *Pm8* - stejně jako u odrůdy *Danubia*. Gen *Pm8* pochází pravděpodobně z odrůdy *Kavkaz* a gen *Pm5* z odrůdy *Siete Cerros*, jak vyplývá z jejich reakcí k souboru izolátů.

Odrůda *Livia* byla vyšlechtěna z kombinace odrůd *K 3756-1-76* x *Košútka*. Reakce kříženců odrůd *Livia* a *Zdar* v  $F_2$  generaci po inokulaci izolátem 201 avirulentním ke genům *Pm4b* a *Pm8* podporuje předpokládanou přítomnost genu *Pm8* v odrůdě *Livia*. Získaný štěpný poměr 127 R : 9 S odpovídá s pravděpodobností  $P = 0,99 - 0,95$  teoretickému štěpení pro dva dominantní geny, tj. *Pm4b* v odrůdě *Zdar* a *Pm8* v odrůdě *Livia*.

Odrůda *Roxana* je křížencem odrůd *Solo* a *Kavkaz*. Pro důkaz předpokládaného genu *Pm4b* jsme použili křížení odrůd *Roxana* x *Zdar*. Po inokulaci izolátem 102

III. Hybridologická analýza odolnosti slovenských odrůd pšenice k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) – Hybridologic analysis of powdery mildew resistance (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) in Slovak wheat cultivars

Křížení <sup>1</sup>	Gene- race <sup>2</sup>	Izolát <sup>3</sup>	Počet rostlin / linií <sup>4</sup>				Očekávané štěpení <sup>5</sup>	$\chi^2$	P
			R	S	Seg.	$\Sigma$			
Agra x Vala	F <sub>1</sub>	47	-	5	-	5	-	0,6080	0,5 - 0,2
	F <sub>2</sub>	47	24	87	-	111	3 : 13		
	F <sub>3</sub>	47	3*	19*	26*	48*	1 : 7 : 8	0,3442	0,95 - 0,80
	F <sub>1</sub>	45	1	-	-	1	-	0,1157	0,8 - 0,5
	F <sub>2</sub>	45	104	37	-	141	3 : 1		
	F <sub>1</sub>	74	1	-	-	1	-	4,4377	0,05 - 0,01
	F <sub>2</sub>	74	106	13	-	119	15 : 1		
Agra x Danubia	F <sub>1</sub>	47	-	8	-	8	-	0,0170	0,99 - 0,95
	F <sub>2</sub>	47	43	132	-	175	1 : 3		
Agra x Seleкта	F <sub>1</sub>	47	2	-	-	2	-	0,8204	0,5 - 0,2
	F <sub>2</sub>	47	108	20	-	128	13 : 3		
Maris Huntsman x Danubia	F <sub>2</sub>	35	22	125	-	147	1 : 3	7,8930	< 0,01
	F <sub>2</sub>	47	15	106	-	121	1 : 3	10,2505	< 0,01
Iris x Regina	F <sub>1</sub>	35	-	6	-	6	-	0,9693	0,5 - 0,2
	F <sub>2</sub>	35	33	120	-	153	1 : 3		
	F <sub>1</sub>	47	-	5	-	5	-	0,2411	0,8 - 0,5
	F <sub>2</sub>	47	34	112	-	146	1 : 3		

Křížení <sup>1</sup>	Gene- race <sup>2</sup>	Izolát <sup>3</sup>	Počet rostlin / linií <sup>4</sup>				Očekávané štěpení <sup>5</sup>	$\chi^2$	P
			R	S	Seg.	$\Sigma$			
Iris x Fox	F <sub>2</sub>	35	64	24	-	88	3 : 1	0,7878	0,5 - 0,2
Livia x Zdar	F <sub>2</sub>	201	127	9	-	136	15 : 1	0,03130	0,99 - 0,95
Roxana x Zdar	F <sub>2</sub>	102	118	-	-	118	-		
Roxana x Regina	F <sub>2</sub>	58	99	45	-	144	3 : 1	3,3690	0,20 - 0,05
Maris Huntsman x Roxana	F <sub>2</sub>	47	143	25	-	168	13 : 3	1,6490	0,20
							15 : 1	21,3500	< 0,01
Torysa x Zdar	F <sub>1</sub>	45	3	-	-	3	-		
	F <sub>2</sub>	45	92	25	-	117	3 : 1	0,8233	0,5 - 0,2
	F <sub>2</sub>	1	106	8	-	114	15 : 1	0,1145	0,8 - 0,5

R = rezistentní – resistant; S = náchylný – susceptible; Seg. = štěpící – segregating

<sup>1</sup>cross; <sup>2</sup> generation; <sup>3</sup>isolate; <sup>4</sup>number of plants / lines; <sup>5</sup>expected segregation

IV. Reakce rodičovských odrůd k izolátům padlí travního použitým k testování F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> a F<sub>3</sub> generace kříženců (R - odolná, S - náchylná) – Response of parental cultivars to powdery mildew isolates used in the tests of F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations of the crosses (R - resistant, S - susceptible)

Odrůda <sup>1</sup>	Předpokládané geny rezistence <sup>2</sup>	Reakce k izolátu <sup>3</sup>							
		1	35	45	47	58	74	102	201
Agra	<i>Pm2, 6, (8)</i>			R	S		R		
Danubia	<i>Pm5, 8</i>		R		R				
Fox	-		R						
Iris	<i>Pm5, 8</i>		R		R				
Livia	<i>Pm8</i>								R
Maris Huntsman	<i>Pm2, 6</i>		S		S				
Regina	<i>Pm5</i>		S		S	S			
Roxana	<i>Pm4b, 5, 8</i>				R	R		R	
Selekta	<i>Pm4b, 8</i>				R				
Torysa	<i>Pm2, 6</i>	R		R					
Vala	-			S	S		S		
Zdar	<i>Pm4b, 5</i>	S		S				R	R

<sup>1</sup>cultivar; <sup>2</sup>postulated resistance genes; <sup>3</sup>response to isolate

avirulentním ke genu *Pm4b* a virulentním ke genu *Pm8* nevyštěpila z celkového počtu 118 rostlin žádná náchylná, což nasvědčuje identitě genů odolnosti v obou odrůdách, a to genu *Pm4b*.

V křížení odrůd Roxana x Regina byla v F<sub>2</sub> generaci po inokulaci izolátem 58 avirulentním ke genu *Pm8* zjištěna shoda se štěpným poměrem 3 : 1, byl však pozorován větší počet náchylných rostlin proti očekávanému počtu při štěpení pro jeden dominantní gen odolnosti. Tento posun k náchylnosti můžeme vysvětlit nepravidelným přenosem genetické informace u některých genotypů s částí cizího chromozómu. V křížení odrůd Maris Huntsman x Roxana štěpení 143R : 25S po inokulaci izolátem avirulentním ke genům *Pm4b* a *Pm8* a virulentním ke genům *Pm2* a *Pm6* vypovídá o přítomnosti dvou genů, a to předpokládaných genů *Pm4b* a *Pm8*, z nichž jeden je recesivní a druhý dominantní, nelze však vyloučit ani přítomnost dvou dominantních genů (*Pm4b* a *Pm8*) a posun počtu náchylných rostlin za hranici průkaznosti.

Předpokládané geny odolnosti *Pm4b* a *Pm8* v odrůdě Roxana pocházejí z rodičovských odrůd Solo (L u t z et al., 1992; H e u n, F i s c h b e c k, 1987a) a Kavkaz.

Odrůda Torysa pochází z křížení odrůd Maris Marksman x Vala. Aproximativně u ní byly zjištěny dva geny rezistence - *Pm2* a *Pm6*. F<sub>1</sub> a F<sub>2</sub> generaci křížení odrůd

Torysa x Zdar jsme testovali izolátem 45, avirulentním ke genu *Pm6* a virulentním ke genům *Pm2* a *Pm4b*. Odolná reakce v F<sub>1</sub> a štěpení v poměru 3R : 1S v F<sub>2</sub> potvrdily přítomnost jednoho dominantního genu, a to zřejmě genu *Pm6*, v odrůdě Torysa.

V F<sub>2</sub> generaci téhož křížení po inokulaci izolátem 1 avirulentním ke genům *Pm2* a *Pm6* a virulentním ke genu *Pm4b* štěpily rostliny v poměru 106 R : 8S, což odpovídá teoretickému poměru 15 R : 1S pro dva dominantní geny. Tento výsledek můžeme považovat za důkaz genů *Pm2* a *Pm6* v odrůdě Torysa.

Jak vyplývá z výsledků analýz, slovenské odrůdy a novošlechtění mají většinou kombinace několika známých major genů rezistence, a to genů *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6* a *Pm8*. Z nich jsou geny *Pm5* a *Pm8* v našich podmínkách již neúčinné. Dobrou specifickou odolnost v dospělosti podmiňuje dvojice genů *Pm2+6*, která řídí středně rezistentní až rezistentní reakci odrůd Agra a Torysa v polních podmínkách. Rezistentní jsou též dvě novošlechtění, u kterých předpokládáme geny *Pm2+6*, a to linie SK 8090 a SO 2392.

Perspektivní se zdá odolnost tvrdých pšenic Soldur a SO-D-94, i když v oblasti pěstování odrůdy Soldur začíná být překonávána virulentní rasou.

Kromě genů účinných u mladých i dospělých rostlin, které byly v této práci studovány, mohou mít odrůdy odolnost jen v dospělosti, jejíž existenci ani genetický základ nemohly skleníkové testy na rostlinách ve fázi jednoho až dvou listů prokázat. Např. odrůdy Ilona a Livia, které mají jen neúčinné geny *Pm5* a *Pm8*, byly polních pokusech v dospělosti středně odolné až odolné. Jejich odolnost lze přičíst působení genů projevujících se jen v dospělosti. Polní odolnost má také odrůda bez specifického genu rezistence - Viginta, povolená v roce 1984, a pravděpodobně i odrůda Blava. Také odolnost tří novošlechtění ze ŠS Solary - SO 7953, SO 8561 a SO 928 - podmiňují geny pro polní odolnost.

V současné situaci, kdy spektrum šlechtitelsky využitelných major genů rezistence není široké, je vhodné využívat i výše uvedené formy rezistence, charakteristické pomalým průběhem choroby a nižším napadením v polních podmínkách. Výběry na tento typ rezistence jsou však náročnější a nelze je běžně provádět ve skleníku u mladých rostlin jako při výběrech na specifickou rezistenci.

## Literatura

- BARTOŠ, P. - BAREŠ, I.: Leaf and stem rust resistance of hexaploid wheat cultivars Salzmünder Bartweizen and Weique. *Euphytica*, 20, 1971 : 435-440.
- BARTOŠ, P. - STUHLÍKOVÁ, E.: Odrůdová odolnost pšeníc s žitnou rezistencí (1B/1R) ke rzi pšeničné. *Genet. a Šlecht.*, 23, 1987 : 97-104.
- BARTOŠ, P. - STUHLÍKOVÁ, E. - NEUHÄUSLOVÁ, Z.: Genetika rezistence československých odrůd pšenice s translokací 1B/1R ke rzi travní (*Puccinia graminis* Pers. ssp. *graminis*). *Genet. a Šlecht.*, 26, 1990 : 23-30.
- FELSENSTEIN, F. G.: Virulenz und Fungizidsensitivität des Weizenmehltaus, *E. graminis* DC. f. sp. *tritici* Marchal, in Europe. [Disertační práce.] TU Mnichov, Freising-Weihenstephan 1991. Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung,

HANUŠOVÁ, R.: Specifická odolnost pšenice k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* DC. f. sp. *tritici* Marchal) - studium genů rezistence. [Kandidátská disertační práce.] Praha, 1992. - Výzkumný ústav rostlinné výroby.

HEUN, M. - FISCHBECK, G.: Genes for powdery mildew resistance in cultivars of spring wheat. *Pl. Breed.*, 99, 1987 : 282-288.

JÓRGENSEN, J. H. - JENSEN, C. J.: Genes for resistance to wheat powdery mildew in derivatives of *T. timopheevi* and *T. carthlicum*. *Euphytica*, 21, 1972 : 121-128.

LUTZ, J. - LIMPERT, E. - BARTOŠ, P. - ZELLER, F. J.: Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.). 1. Czechoslovakian cultivars. *Pl. Breed.* 108, 1992 : 33-39.

Došlo dne 17. 9. 1993

R. Hanušová, P. Bartoš (Research Institute for Crop Production, Praha-Ruzyně, Czech Republic)

### Powdery mildew resistance of Slovak winter wheat cultivars and advanced lines

In the years 1989 to 1992 the specific resistance of Slovak winter wheat cultivars and advanced lines to powdery mildew was studied. Tests were carried out at the stage of seedlings in the growth chamber. Wheat seedlings were inoculated at the stage of the first leaf by dusting the plants with spores in glass cylinders and then kept at 15 - 18 °C. Known genes for powdery mildew resistance have been assessed according to the responses of the set of isolates and in many cases results were confirmed by analyses of F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations of suitable crosses. During the years 1989 to 1992 field resistance of all cultivars and advanced lines was studied. Results obtained are presented in Tabs. I to IV.

The following cultivars are expected to possess the known genes for resistance to powdery mildew : Agra - *Pm2*, *Pm6*, *Pm8*, Inh., Danubia - *Pm5*, *Pm8*, Ilona - *Pm5*, Iris - *Pm5*, *Pm8*, Livia - *Pm8*, Roxana - *Pm4b*, *Pm8*, Torysa - *Pm2*, *Pm6*, Soldur - +. The gene *Pm8* (translocation 1BL/1RS) in the cultivar Agra is suppressed by another dominant gene - inhibitor with the specific effect on the gene *Pm8*. Among the cultivars without major genes of resistance, the cultivars Viginta and Blava were quite resistant in the field. In one half of advanced lines tested, specific resistance has been determined. Three lines possess the field resistance.

The Slovak wheat cultivars and advanced lines possess genes for resistance *Pm2*, *Pm4b*, *Pm5*, *Pm6*, *Pm8*, individually or mostly in various combinations, *Pm2* + *Pm6* being the only efficient gene combination in the field. *Triticum durum* cultivar Soldur, and the line SO-D-94 possess unidentified gene (s), efficient to all powdery mildew isolates used in the tests.

*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*; winter wheat; specific resistance; major genes

# KRÁTKÁ SDĚLENÍ

## GEN *Rht1* U ODRŮDY PŠENICE OZIMÉ VLADA

Václav ŠÍP, Miroslav ŠKORPÍK

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně

Determinace významných genů u odrůd využívaných ve šlechtitelských hybridizačních programech se uplatňuje při výběru vhodného genetického materiálu. Údaje o přítomnosti genů krátkostébelnosti (*Rht*) ve světovém sortimentu pšeníc jsou dostupné jak z vědeckých publikací (Gale et al., 1981; Worland, 1986; Yamada, 1990), tak ze souborných katalogů vydávaných u nás (Škorpík et al., 1991; Martynov et al., 1992). Z *Rht* genů má zvláštní postavení skupina, která se dá identifikovat na základě necitlivosti na aplikovaný giberelin ( $GA_3$ ). V našem sortimentu odrůd pšenice se uplatnily především *Rht* geny necitlivosti na  $GA_3$  pocházející z odrůdy Norin 10 - *Rht1*, lokalizovaný na chromozomu 4A a *Rht2* lokalizovaný na krátkém rameni chromozomu 4D (Gale et al., 1981). V jižní Evropě (zřejmě i u nás) má poměrně široké zastoupení také gen označovaný *Rht1S* (z odrůdy Saitama 27) se slabší necitlivostí na  $GA_3$ , často kombinovaný s genem citlivosti na giberelin *Rht8* (Worland, 1986). Vzhledem ke slabší necitlivosti se však přítomnost genu *Rht1S* hybridologickou cestou zjišťuje obtížně.

Za účelem detekce *Rht* genu necitlivosti na giberelin u české povolené odrůdy Vlada (BR 1193) bylo prováděno křížení s odrůdami Siete Cerros (nositel genu *Rht1*) a Brigand (*Rht2*). V hybridní generaci  $F_2$  a u rodičovských odrůd byl aplikován giberelin ( $GA_3$ ). Testace u juvenilních rostlin probíhala podle popsané metodiky

I. Typ reakce na  $GA_3$ , průměr a rozptyl v délce nadzemní části ke konci čepele druhého listu (cm) u kříženců  $F_2$  a u rodičovských odrůd - Classification of  $GA_3$  response, mean values and variances in the above-ground plant part to the tip of second leaf lamina (cm) of  $F_2$  generation crosses and parental varieties

Kříželec / rodičovská odrůda <sup>1</sup>	$\bar{x}$	$s^2$	Počet rostlin <sup>2</sup>	
			necitlivých na $GA_3$ <sup>3</sup>	citlivých na $GA_3$ <sup>4</sup>
Vlada x Brigand ( <i>Rht2</i> )	16,30	19,141	93	6
Vlada x Siete Cerros ( <i>Rht1</i> )	15,94	3,667	100	-
Vlada	16,03	5,434	38	-
Brigand	13,25	2,223	88	-
Siete Cerros	13,56	2,276	35	-

<sup>1</sup>cross/parental variety; <sup>2</sup>number of plants; <sup>3</sup>insensitive to  $GA_3$ ; <sup>4</sup>sensitive to  $GA_3$

(Š í p et al., 1986). Z tab. I je zřejmé, že u rodičovských odrůd a křížence Vlada x Siete Cerros (*Rht1*) se vyskytly pouze rostliny necitlivé na GA<sub>3</sub>. U křížence Vlada x Brigand (*Rht2*) však bylo detekováno šest rostlin se zřetelnou citlivostí a zbývajících 93 rostlin bylo necitlivých na GA<sub>3</sub>. To odpovídá štěpnému poměru 1 : 15, s dominancí pro necitlivost ( $\chi^2 = 0,00606 < \chi^2_{0,95} (1) = 3,84$ ). Rozptyl v délce nadzemní části rostlin ke konci čepele druhého listu byl významně vyšší u křížence Vlada x Brigand než u křížence Vlada x Siete Cerros a rodičovských odrůd. Rozptyl zůstane vyšší i po vyloučení šesti rostlin s odlišným typem reakce na GA<sub>3</sub> ( $s^2 = 10,844$ ). Vyšší variabilita ve vzrůstu rostlin je evidentně působena segregací při neúplnosti dominance. Jako neúplnou označili dominanci alel pro insensitivitu na GA<sub>3</sub> (z odrůdy Norin 10) Gale a Law (1976).

### Literatura

- GALE, M. D. - LAW, C. N.: The identification and exploitation of Norin 10 semi-dwarfing genes. PBI Cambridge A. Rep. 1976 : 21-35.
- GALE, M. D. - MARSHALL, G. A. - RAO, M. V. : A classification of the Norin 10 and Tom Thumb dwarfing genes in British, Mexican, Indian and other hexaploid bread wheat varieties. Euphytica, 30, 1981 : 355-361.
- MARTYNOV, S. P. - DOBROTVORSKAJA, T. V. - STEHNO, Z. - DOTLAČIL, L. - FABEROVÁ, I. - HOLUBEC, V.: Genealogies and gene alleles identified in 31 000 cultivars and lines of wheat. Praha, VÚRV 1992 : 1311 s.
- Š Í P, V. - ŠKORPÍK, M. - TÁBORSKÁ, J.: Metoda testování reakce na aplikovaný giberelin pro detekci genů zakrslosti u pšenice. Genet. a Šlecht., 22, 1986 : 133-141.
- ŠKORPÍK, M. et al.: Katalog odrůd pšenice s charakteristikou důležitých vlastností. Praha, VÚRV 1991 : 107 s.
- WORLAND, A. J.: Gibberellic acid insensitive dwarfing genes in Southern European wheats. Euphytica, 35, 1986 : 857-866.
- YAMADA, T.: Classification of GA response, *Rht* genes and culm length in Japanese varieties and landraces of wheat. Euphytica, 50, 1990 : 221-239.

Došlo dne 17. 9. 1993

V. Š í p, M. Š k o r p í k (Research Institute for Crop Production, Praha-Ruzyně, Czech Republic)

### Gene *Rht1* in the Czech winter wheat variety Vlada

Data about the presence of important genes are communicated to wheat breeders by catalogues published in Czech Republic (Š k o r p í k et al., 1991; M a r t y n o v et al., 1992). Gene *Rht1* in the Czech winter wheat variety Vlada was determined on the basis of testing the response to applied gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) in the F<sub>2</sub> generation test crosses. The segregated population showed significantly greater variance in the above-ground part of two-leaf plants than parental varieties (Table I).

*Triticum aestivum* L.; *Rht* genes; response to gibberellic acid

**POSTGRADUÁLNÍ STUDIUM Z OBORU GENETIKY**

PŘÍLOHA ČASOPISU GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ, 29, 1993, ČÍSLO 4

**DNA POLYMORPHISM AND RAPD TECHNOLOGY\****Petr SAMEC**Institute of Plant Molecular Biology, AS CR, Branišovská 31,  
370 05 České Budějovice, Czech Republic*

Introduction of molecular-biology methods into plant improvement has provided contemporary plant breeders with a powerful tool for direct analysis, manipulation, and targeted modification of crop genomes. Within the repertoire of applied molecular techniques, the development of molecular markers is fundamental.

"Molecular phenotyping" of genomes was well established by studying polymorphism of protein and isozyme systems, the strategy of which is currently widely used (Wiesner et al., 1993). Circumvention of disturbing environmental impacts on manifestation of markers derived from phenotype may be achieved by developing direct DNA-based markers (Tingey, Tuffo, 1993).

Besides the disturbances in accurate heritable reproduction, phenotypic markers suffer from their low number amenable to routine analyses. For instance, the number of isozyme markers is limited by the number of known biochemical assays to detect enzymatic activity (usually location on the electrophoretic gel is required) and is guessed to be around 100 (Tanksley, 1983). On the other hand, the number of polymorphic regions within the eukaryotic genome is several order of magnitudes higher. Thus, DNA markers are now expected to play the more and more important role in the near future of plant breeding technology.

DNA markers simply detect differences in genetic information, in other words they are based on polymorphism in DNA sequences carried by two or more individuals. DNA markers involve a still rapidly growing up number of various applications. It is worth to mention among others so called DNA fingerprinting used for discrimination of various genotypes, cultivars or determination of seed lot genetic purity (Kirby, 1990; Munthali et al., 1992), paternity testing in breeding schemes (Welsh et al., 1991a), tracing the genes of interest during breeding programs (Deraگون, Landry, 1992), extracting agriculturally valuable traits from exotic germplasm into domestic cultivars and genetic mapping (Peterson et al., 1991). DNA markers

\* The preparation of this paper as a part of our research in RAPD technology was enabled by the support of the Ministry of Economy, grant projects Z-660-02 and Z-660-03.

may well be used for "phylogenetic walking" (D o y l e, K n i p p l e, 1991) and studying molecular evolution (E r l i c h, A r n h e i m, 1992), in analyzing population structure, diversity and dynamics (N y b o m, S c h a a l, 1990). Consequently, such an approach has various applications in ecology and epidemiology (W e l s h, M c C l e l l a n d, 1991a, b).

Two basic questions arise when dealing with DNA markers:

1. Which regions throughout a genome are polymorphic or hypervariable or in other words with high mutation frequency (and thus suitable for generation of DNA markers) and where are they located?
2. Which strategies may be designed to reveal such a polymorphism and, consequently, to generate markers?

### NATURE OF DNA POLYMORPHISM

In general, DNA sequences may be arranged in a single copy, mid-repetitive or highly repetitive sequences with quite different functional constraints, i. e. coding, regulatory or noncoding. Hence, different rates of evolution and levels of variation arise (S c h a a l et al., 1991). There are several factors playing roles in shaping local levels of DNA sequence variation besides the functional constraint such as variation in mutation rate, different forms of selection, recombinant rates (B e g u n, A q u a d r o, 1992) and so called genetic hitch-hiking (K a p l a n et al., 1989; for explanation see the glossary). Moreover, there is probably a very strong correlation between local DNA conformation and local DNA sequence polymorphism in the sense that there may act a strong requirement for local sequence-dependent DNA structure, DNA curvature (T r i f o n o v, 1991). Hence, any base substitution may mean a failing in function such as capability of protein binding (H a r r i n g t o n, 1992).

We should also keep in mind the differences between nuclear, chloroplast, and mitochondrial genomes due to their specificities as mtDNA and cpDNA may represent a substantial part of isolated genomic DNA especially when rapid genome isolation techniques are used like that described by S t e w a r t, V i a (1993).

Locally measured silent substitution rate of nucleotides in mtDNA was reported to be less than one-third of that in cpDNA, which evolves only half as fast as plant nDNA (W o l f e et al., 1987). However, the comparison of nucleotide substitution rate between various cell genomes need not be valid for all sequence regions or may be species dependent (K o m a r n i t s k y et al., 1990; M a r t i n et al., 1992). When comparing variability of plastid and mitochondrial genome as a whole, plant mitochondrial genome (210 kb - 2500 kb long) is much more complex with occurrence of various repetitions mutually recombining whereas plastid genome (130 kb) harbors usually 20 kb of inverted repetitive region flanked with unique gene copies. Thus, the basic structure of the mitochondrial genome is considered as inherently more variable than in the plastid genome (W a l b o t, C u l l i s, 1985) and may contribute substantially to overall DNA polymorphism.

When dealing with hypervariable polymorphic regions, we can recognize two types of variability: either single nucleotide substitutions (point mutations) or variability in the number of tandem repeats in repetitive loci called VNTR (variable number of tandem repeats), (N a k a m u r a et al., 1987). In this connection we can also mention abbreviations like HVR (hypervariable regions) or HVE (hypervariable elements), (H e l i o, 1991), see the glossary for explanation.

### rDNA

Within nuclear genome ribosomal DNA (*rDNA*) has been a subject of intensive studies for a long time. *rDNAs* are nuclear gene sequences that code for 17S, 5.8S, and 25S subunits of plant ribosome and there are the intervening spacer regions within *rDNA* sequences. *rDNA* belongs to mid-repetitive sequences with 1400-60 000 copies per genome. Individual genes are arranged in tandem repeats and may occur at one or several sites throughout genome (L o n g, D a w i d, 1980).

There are dramatic differences in functional constraints between coding regions of *rDNA* and nontranscribed intergenic spacer regions. Variation within coding region, if any, is caused by methylation. On the other hand highly variable intergenic spacer may even be the site of mitotic crossing-over which results in somatic variation (S c h a a l et al., 1991). It means that DNA markers derived from *rDNA* may show differences even within one individual plant! As concerns the applications, coding regions of *rDNA* are suitable for phylogenetic studies whereas noncoding spacers are potent in discrimination of individuals (S c h a a l, L e a r n, 1988).

### tDNA

*tRNA* genes occur in multiple copies dispersed throughout the genome (L o n g, D a w i d, 1980). There are shared sequence motives of *tRNA* genes as well as variable regions. Thus, *tRNA* gene clusters offer relatively complex fingerprints. *tRNA* genes are likely to give fingerprints that vary at the species or genus level as *tDNA* is relatively stable over evolutionary time scale (W e l s h, M c C l e l l a n d, 1991).

### Minisatellites

In 1985 a new type of hypervariable nuclear sequences was discovered in human genome called minisatellites. It is a type of repetitive sequences composed of tandem repeats of a distinct core usually of 10 - 30 base pairs long (consensus sequence) with medium to high variability. The term minisatellite was chosen because this class of DNA is not so highly repetitive as true satellite DNA (J e f f r e y s et al., 1985). Minisatellites are preferentially located near telomers (W e l l s et al., 1989), so they are not uniformly distributed throughout genome like microsatellites (see below). Later it was proven that minisatellites occur throughout eukaryotes including plant kingdom and are very suitable for DNA fingerprinting. Plant minisatellites were first revealed and studied using heterologous bacteriophage probe *M13* (R o g s t a d et al., 1988). *M13* heterologous probe is the smallest *Clal/BsmI* fragment of the bacteriophage *M13* genome. This

fragment includes two regions with repeats capable of hybridizing with eukaryotic minisatellites (V a s s a r t et al., 1987).

As concerns applications, minisatellites are highly potent in genotyping, i. e. in identification of individuals (V a h a l a et al., 1991).

### Microsatellites

In 1984 it was found that eukaryotic genomes are densely interspersed with simple sequences which consist of stretches of tandemly repeated nucleotide motives as short as 1 - 4 base pairs (T a u t z, R e n z, 1984). Later such regions were termed microsatellites (L i t t, L u t y, 1989). They almost invariably show extensive polymorphism due to site-specific length variation as a consequence of the occurrence of different number of repeat units. A survey of published DNA sequence data for the presence of dinucleotide and trinucleotide microsatellites revealed that they are widely distributed in higher plants. For instance  $(AT)_n$  and  $(TAT)_n$  microsatellites from soybean genome were shown to be highly polymorphic as a consequence of length variation, somatically stable and inherited in a co-dominant Mendelian fashion (M o r g a n t e, O l i v i e r i, 1993). From rice genome, moderately polymorphic  $(GGC)_n$  microsatellite was described (Z h a o, K o c h e r t, 1993). As concerns the applications, DNA microsatellites represent a vast source of highly informative markers. Moreover, they are almost evenly distributed throughout the genome and meet, by definition, so called sequence-tagged sites (STSs). Thus, they probably substantially contribute to physical mapping of genomes (W e b e r, 1990).

### Other regions of DNA polymorphism

Of course, there are repetitive regions representing smooth transitions around the definition of mini- and microsatellites. For instance, tomato telomeres are composed of a terminal 7-base-pair tandem repeat and closely linked 162-base-pair subtelomeric repeat. It was shown that telomeric sites are more variable than any other region of the tomato genome known so far and can be used to distinguish closely related plant genomes that are otherwise very similar at DNA level. The inheritance in Mendelian fashion suggests applications also in genetic mapping (B r o u n et al., 1992).

Another approach was proven to work. Zinc finger proteins represent a substantial eukaryotic protein family in which the internal zinc finger domains are often tandemly repeated. Using fully degenerate PCR primers (primers designed according to amino acid sequence and respecting all permutations of nucleotides) designed to respect the sharing sequence consensus or in other words primers complementary to zinc-finger amino-terminus of zinc-protein genes (Cys-Pro-Glu-Cys-Gly-Lys-Ser-Phe motif), the DNA polymorphism was revealed as useful for species identification in *Phytophthora*. This type of DNA polymorphism was termed "Zinc Fingerprinting" and related markers "ZIF markers" (U n k l e s et al., 1992). Similar is the case of polymorphism reported for homeobox genes (N e v o et al., 1992) applied to molecular-population studies.

Special type of fingerprinting is the fingerprinting of RNA population through cDNA synthesis. Reproducible patterns were obtained when typing samples of total RNA from various tissues. The differences are probably due to sequence polymorphisms and are useful for a mapping of genes. This strategy should be applicable to detect differences between RNA populations in a variety of situations (W e l s h et al., 1992).

### Random genomic sequences

By far not all polymorphic regions of DNA are known as concerns their sequences, function or chromosome location. Despite of the lack of this knowledge they may be exploited for DNA typing. The analysis of restriction-site variation in random nuclear sequences has been extremely important in the construction of genetic maps (Y o u n g, 1990). A result of recent development making amenable this rank of DNA-polymorphism is so called RAPD technique (Random Amplified Polymorphic DNA), which is the main subject of the following chapters of this review.

## TECHNIQUES TO REVEAL DNA POLYMORPHISM

There are four basic strategies to monitor DNA polymorphism. Each strategy is covered by a tremendous number of techniques and their modifications targeted to scale-down arrangement, high sensitivity and as low as possible concentration of genomic DNA.

These four strategies are based on four types of techniques:

1. hybridization of nucleic acids,
2. enzymatic amplification of nucleic acids,
3. special electrophoretic techniques,
4. DNA sequencing.

### Hybridization strategy

Yet recently, the most widely used approach of DNA typing based on hybridization of nucleic acids has been, and still in many cases is restriction fragment length polymorphism (RFLP) (W a l t o n, 1990). RFLPs are products of changes in the bases within restriction enzyme target sites (i. e. point mutations) or they are consequences of deletions or insertions within restriction fragments or rearrangements of DNA (W e l s h et al., 1991a).

Besides the broad repertoire of RFLP-successful applications, there are some disadvantages there. RFLP marker-assisted selection is time and labor consuming. Radioisotopic labelling of probes is applied in most cases which requires special laboratory certification and personal training. Moreover, it usually requires a large amount of highly purified and intact genomic DNA. This makes almost impossible, for instance, an early and nondestructive testing of young seedlings (D e r a g o n, L a n d r y, 1992). Perhaps the most serious disadvantage is the necessity of having specific DNA probe which determines regions of the genome which are monitored. Especially the lack of universal probe(s) lead to the development of a new set of very potent

modifications. To circumvent the requirement for a specific DNA probe to generate DNA fingerprinting, short synthetic oligonucleotides were successfully used as RFLP probes targeted mainly to the mini- and microsatellite regions within genome (D r m a n a c et al., 1991; M a r i a t, V e r g n a u d, 1992). Oligonucleotide hybridization was especially at its beginning highly troublesome because hybridization conditions have to be optimized very carefully as short probes may fail to hybridize in a desired quality (S c h a f e r et al., 1988). Currently very popular *M13* fragment from bacteriophage genome (V a h a l a et al., 1991) was revealed as a "natural" probe useful to monitor minisatellite polymorphism.

A special technique which also belongs by its nature to the hybridization class is so called "Ampliprobe" system. In this system DNA is hybridized by a specific probe cloned before into *M13* phage vector. Cyclic molecules of hybridized single stranded *M13* probes are then hybridized with secondary probes labelled with alkaline phosphatase. Detecting the phosphatase activity, multiple amplification of sequence signal is obtained through phosphatase activity (B i r k e n m e y e r, M u s h a h w a r, 1991).

As the following parts of this review will be focused on amplification techniques, first we mention here very briefly strategies "3" and "4".

DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) and PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) belong to the third class of the strategies mentioned above. DGGE detects single-base sequence polymorphism and is used to search for such polymorphic regions (S h e f f e l d et al., 1992). Enhanced polymorphism may be revealed when combining RAPD and DGGE techniques to facilitate pedigree assessment within cereal crops (D w e i k a t et al., 1993).

PFGE is an electrophoretic method used to separate large DNA fragments in the gel after application of pulsing electric field. This technique was successful for instance in generation of DNA fingerprints of various bacterial strains (S a u l n i e r et al., 1993).

DNA sequencing is undoubtedly the most perfect method to reveal DNA polymorphism. Strategies for sequencing lay in the core of big superprojects of sequencing complex eukaryotic genomes. Related techniques develop rapidly achieving the level of "high-tech" (W a t s o n et al., 1993). They would deserve a special review and are quite out of the scope of this paper.

### **Amplification strategy**

The last several years have witnessed the introduction of quite revolutionary "amplification" methods for the detection of nucleic acid targets, which exploit the semiconservative replicative functions of nucleic acids to amplify probe or target sequences.

These techniques include those requiring temperature cycling - the polymerase chain reaction (PCR), the ligase chain reaction (LCR) and transcription-based amplification as well as isothermal systems such as self-sustained sequence replication (3SR), nucleic acid sequence-based amplification (NASBA), probe amplification using Q- $\beta$  replicase and strand displacement amplification (B i r k e n m e y e r, M u s h a h w a r, 1991; W a l k e r et al., 1992; L a n d e g r e n, 1993).

The best known and the most widely used is polymerase chain reaction (Fig. 1., S a i k i et al., 1985; 1988). During PCR selective enzymatic amplification of target DNA segment (up to 10 or even more kilobases long - K a i n z et al., 1992) proceeds. The target is determined by a pair of oligonucleotide primers which are complementary to the ends of target DNA segment. PCR is capable to produce large quantities of specific DNA from small, partially degraded and impure samples. Up to  $10^6$  amplification of original template concentration may be achieved after 25 cycles (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

Many traditional recombinant DNA cloning methods can be complemented or even circumvented by PCR, and novel applications of this technique now permit studies that have not been possible before. The main advantages of PCR, i. e. simplicity, speed and sensitivity together with versatility due to the tremendous number of various applications, have made PCR the basic strategy in molecular biology.

The main limitation of PCR is the necessity of prior knowledge of a target DNA sequence to design a couple of suitable oligonucleotide primers flanking this target. Thus PCR is limited by the knowledge of at least flanking sequences of the DNA region to be amplified.

Recently, a new DNA-polymorphism assay based on PCR has been developed which requires no sequence information about the target genome (W i l l i a m s et al., 1990). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay utilizes only one short oligonucleotide primer (usually around 10 bases long), instead of two primers in PCR (usually 20-30 bases long to facilitate the required specificity), the sequence of which is quite arbitrary. Thereby, in theory, total genomic sequence information is amenable to analysis.

Surprisingly, only one short primer of 5-10 bases in length is able to generate a relatively rich set of amplification products. After adequate resolution on agarose or polyacrylamide gel using electrophoresis, a "fingerprint" of genome is produced. This fingerprint is unique for each primer-genome combination (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1991).

PCR-derived RAPD technique, its detailed principles, modifications, and vast repertoire of applications creates a core of the following chapters.

## POLYMERASE CHAIN REACTION

Polymerase chain reaction (PCR) was developed in 1984 by a team of scientists at Cetus Corporation (S a i k i et al., 1985). Since the first report in 1985 more than 5000 scientific papers had been published using PCR by 1992 (A r n h e i m, E r - l i c h, 1992).

### General features of PCR

PCR is typical with very little amount of DNA sample required for analysis [down to 1 cell (L i et al., 1988; Z h a n g et al., 1992; B r o w n et al., 1993)], low purity of DNA, simplicity to set up reaction (single tube protocol), extremely high speed and sensitivity (single copy segment is detectable in the DNA background of 1.5 million

diploid cells (S a i k i et al., 1988) although there may be difficulties in obtaining high reproducibility of such assays (G i b b s, 1990).

PCR products can be used as probes, for subsequent ligation into vectors. PCR can replace cloning of DNA. Direct cloning of PCR products into vectors was developed (S c h a r f et al., 1986). Direct sequencing of PCR products is of high importance for its speed (W o n g et al., 1987; I n n i s et al., 1988).

### **Basic principle**

The principle of PCR is very simple (Fig. 1). There are two oligonucleotide primers, either of them is designed to be complementary to the opposite end of the target DNA sequence to be amplified. The length of primers has to be enough to avoid nonspecific annealing (template-primer hybridization) to non-target genome sequences (A r n h e i m, E r l i c h, 1992).

### **Temperature profile and mechanism of PCR reaction**

PCR is carried out in the series of cycles. Each cycle consists of three steps: thermal template-DNA denaturation, primer annealing and primer extension. These steps are carried out at different appropriate temperature each.

#### **Denaturation**

First step of PCR process (Fig. 1) is DNA denaturation, usually within the temperature interval of 90 - 95 °C. Target double stranded DNA is melted into two single strands. Denaturation step of PCR cycle is very important. Incomplete denaturation allows the DNA strands to "snap back", which reduces product yield (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

Denaturation temperature which is too high and/or kept too long leads to the loss of enzyme activity. The half-life of Taq polymerase activity is 2 hours, 40 minutes and 5 minutes at 92.5 °C, 95 °C and 97.5 °C, respectively (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

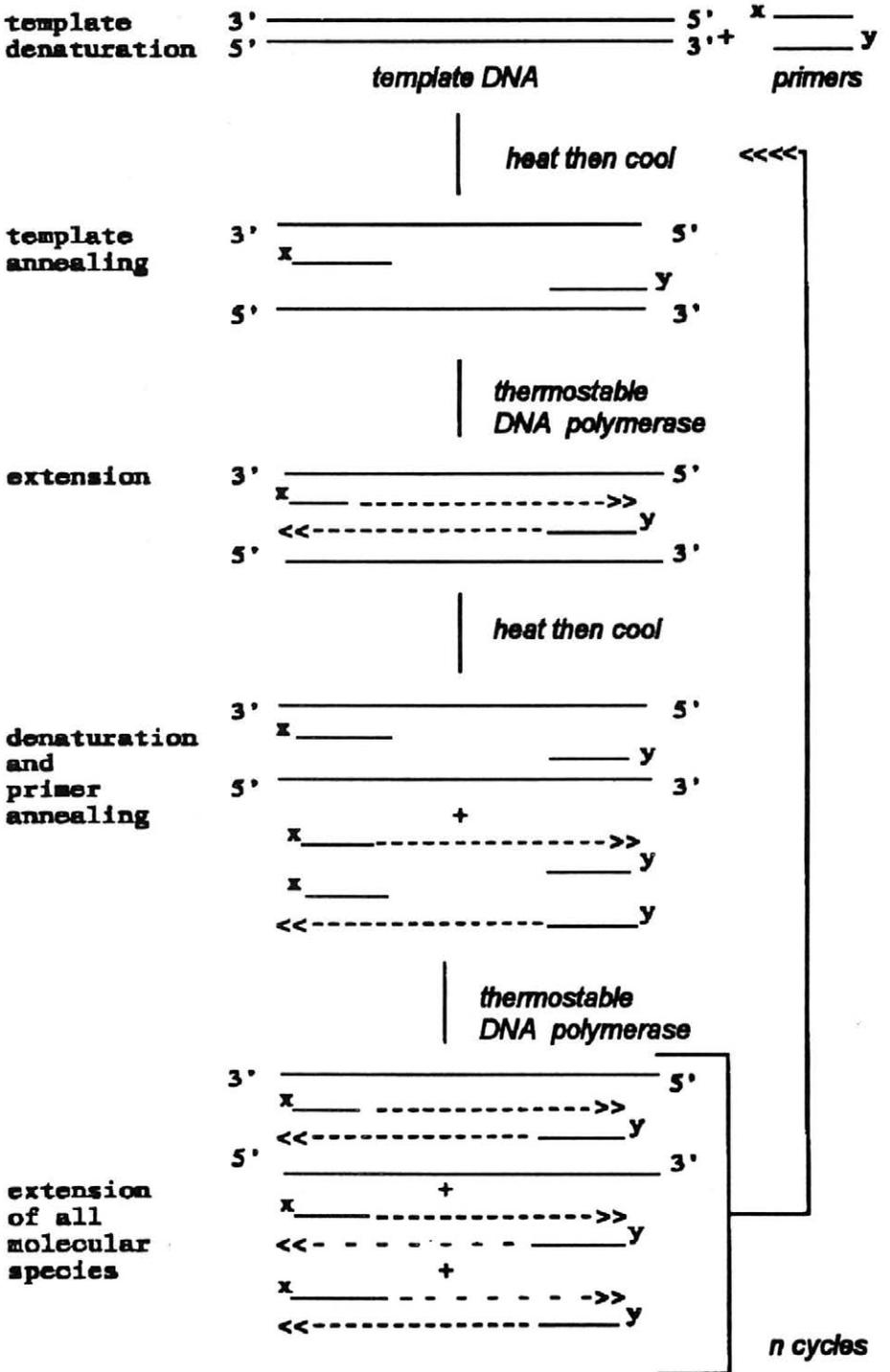
#### **Annealing**

After denaturation the temperature is decreased to enable primer-template annealing. Annealing temperature usually ranges between 55 - 72 °C. The temperature and duration required for primer annealing depend upon the primer-base composition, length and primer concentration. At typical primer concentration of 0.2 μM a completion of annealing requires only a few seconds (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

It is possible to calculate the annealing temperature theoretically using several formulas (S a m b r o o k et al., 1989; R y c h l i k et al., 1990). An applicable annealing temperature is recommended 5 °C below the true melting temperature ( $T_m$ ) of both primers (I n n i s, G e l f a n d, 1990). Therefore the sequences of primers should allow similar  $T_m$ .

However, it is often necessary to determine the optimal annealing temperature empirically, because it also depends upon  $T_m$  of product (R y c h l i k et al., 1990).

Optimal annealing temperature is crucial for both specificity and sensitivity of PCR. If the annealing temperature is too low, then non-specific annealing and subsequent extension may occur, which results in the production of unspecific products, i. e. in



1. Mechanism of PCR reaction

high background similar to the earliest PCRs performed at 37 °C with the Klenow fragment polymerase (S a i k i et al., 1985).

### **Extension**

Final step of the individual cycle is primer extension. Using Taq polymerase, primer extensions are traditionally performed at 72 °C because this temperature is close to polymerase optimum for extending primers on an *M13*-based model template. The time of extension depends upon the length and the concentration of the target sequence and upon temperature (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

For Taq polymerase the estimates for the rate of nucleotide incorporation at 72 °C vary from 35 to 100 nucleotides per second depending upon the buffer, pH, salt concentration and the nature of DNA template (I n n i s et al., 1988).

The extension time of 1 minute at 72 °C is considered sufficient for products up to 2 kb in length. However, longer extension times may be helpful in early cycles if the substrate concentration is very low, and in the late cycles when product concentration exceeds enzyme concentration (I n n i s, G e l f a n d, 1990).

### **Cycling**

After the first cycle the products form double strands. Each strand itself can act as a template in the following cycle. Note that there are no products of expected length after the first cycle because polymerase goes on its activity along the template molecules often far behind the position of the opposite primer (Fig. 1).

Subsequently, the second cycle is performed. In this cycle the first generation of single strands of predicted length is generated. The number of these precious amplification products is exponentially increased during the progress of PCR reaction according to the formula (A r n h e i m, E r l i c h, 1992):

$$N = n \cdot (1 + E)^c \quad (1)$$

where: *N* - the final amount of product  
*n* - initial amount of target sequence  
*E* - efficiency of amplification  
*c* - number of PCR cycles

We can conclude that the cycle number is an important parameter. According to K. Mullis : "If you have to go more than 40 cycles to amplify a single-copy gene, there is something seriously wrong with your PCR".

### **Products of PCR reaction**

Efficiency of PCR usually ranges from 52 to 100 percent (S a i k i et al., 1985, 1988; A r n h e i m, E r l i c h, 1992). Actually, it depends upon the target nucleotide sequence and almost all reaction parameters. Apparently, the efficiency

of PCR tends to decrease in late cycles. This is described as a "plateau effect" which may be caused by various factors (Innis, Gelfand, 1990).

The amount of target could be increased during reaction up to  $10^6$  times. Thereby the target segment of known length is detectable using gel electrophoresis over genomic DNA background by Southern blotting (Saiiki et al., 1985) or directly by ethidium bromide staining (Saiiki et al., 1988).

### *PCR specificity*

To increase the specificity and sensitivity of PCR a "two-steps" PCR protocol is recommended (Kim, Smithies, 1988). This assumes to perform the annealing and extension steps at the same temperature. This prevents low stringency annealing-extension events and reduces nonspecific background.

The same are the reasons for the "hot-start" technique (Erlich et al., 1991), when thermostable polymerase is added to a reaction mixture only after the initial denaturation step. The reaction mixture set up at a temperature higher than the annealing temperature improved both product yield and specificity of PCR (D'Aquila et al., 1991).

The addition of ssDNA binding proteins has also been reported to increase specific amplification (Erlich et al., 1991).

In the following chapters we review in detail RAPD as a special modification of PCR technique which opens new approaches to exploitation of DNA polymorphism.

## **RAPD - RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA**

### **General principles of RAPDs**

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) was originally described in 1990 (Williams et al., 1990). The main difference from normal PCR consists in using only one oligonucleotide primer in the reaction. This primer is substantially shorter (about 10 bases long) in comparison with ordinary PCR primers (25-30 bases long), which implicates a lower annealing temperature. Although the primer sequence is fully arbitrary, the discrete DNA fragments may be surprisingly amplified. A wide range of DNA templates is amenable to RAPD analysis such as the bacterial, fungal, plant and animal ones, including the human DNA (Tables I and II for review).

Usually numerous amplification products are generated during RAPD reaction. These products differ from each other in length and in internal nucleotide sequence (Dweikat et al., 1993). After gel electrophoresis a banding pattern or "fingerprint" of genome may be obtained.

The total number of products and the length of each one depend upon primer and template DNA and the resulting pattern is unique for each primer-template combination. The number of amplification products ranges from less than 10 to over a hundred. This number correlates with genome size and is determined

by primer sequence. It is hard to guess the appearance of fingerprint in advance. Some primers which produced rich banding pattern in combination with one template failed to produce any band with another template (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1991).

In theory, the number of primer target sequences within genomic DNA is defined by the formula (S a m b r o o k et al., 1989):

$$N = (1/4)^L \cdot C \quad (2)$$

where:  $N$  - number of target sequences  
 $L$  - length of primer  
 $C$  - complexity of genome

As the distribution of bases within genome is not random (S t u c k l e et al., 1992), only one tenth of the target sites is supposed to occur around 1kb range, amenable to RAPD amplification. Of these sites, only one fourth of the primer positions is correct to create the primer couples on the opposite strands with three ends facing each other. Only such orientation of the four possible permutations sustains exponential DNA amplification (B a s s a m et al., 1992). Only those RAPD products resulting from exponential amplification have discrete lengths and are detectable after separation by electrophoresis over the unspecific background.

On the other hand, the number of priming sites (and subsequently the number of amplified fragments) can be much higher because of tolerated "mismatch" annealing, which probably proceeds. It is evident on smaller (bacterial) genomes, producing the number of amplification fragments comparable to that obtained from plant or mammal DNA (W i l l i a m s et al., 1990).

### Impact of reaction components on RAPD pattern

Usually used reaction components and range of their concentrations are summarized in Table III.

Due to the complexity of reaction kinetics, the RAPD reaction is sensitive to reaction conditions as for obtaining both appropriate and reproducible results. Certain conditions cause high variations in reproducibility, but there exist a "window" of conditions under which the results are reproducible (B a s s a m et al., 1992).

One of the possible models of RAPD reaction was provided by C a e t a n o - A n o l l é s et al. (1992a). All products of a single-primer PCR have palindromic termini which allow the formation of hairpin loops within and/or between different products. Thus, the products may be in the form of primer-template and template-template duplexes as well as in the form of single-strands and hairpin loops. The different species of molecules tend to establish an equilibrium while the enzyme anchoring and primer extension transform the relatively rare primer template duplexes into accumulating amplification products.

## I. Applications of RAPD to plant research

Species	Objective*					Source
	1	2	3	4	5	
<i>Arabidopsis thaliana</i>		+	+			Reiter et al., 1992
<i>Arachis hypoagea</i>	+		+			Hallward et al., 1992
<i>Arachis</i> sp.	+		+			Lanham et al., 1992
<i>Avena sativa</i>		+				Penner et al., 1993
<i>Avena sativa</i>	+				+	Dweikat et al., 1993
<i>Beta vulgaris</i>		+				Upphoff, Wricke, 1992
<i>Betula alleghaniensis</i>			+			Roy et al., 1992
<i>Brassica oleracea</i>	+				+	Kresovich et al., 1992
<i>Carica papaya</i>	+				+	Stiles et al., 1993
<i>Festuca</i> sp.	+					Wiesner et al., unpubl.
<i>Gliricidia</i> sp.	+			+	+	Chalmers et al., 1992
<i>Glycine soja</i>	+				+	Deragon, Landry, 1992
	+					Williams et al., 1990
	+					Caetano-Anollés et al., 1991
<i>Hordeum vulgare</i>	+					Benito et al., 1993
<i>Hordeum vulgare</i>	+				+	Dweikat et al., 1993
<i>Lactuca sativa</i>		+				Paran et al., 1991
<i>Lolium</i> sp.	+					Wiesner et al., unpubl.
<i>Lycopersicum esculentum</i>		+				Martin et al., 1993
<i>Malus x domestica</i>	+					Koller et al., 1993
<i>Medicago sativa</i>			+			Echt et al., 1992
<i>Microseris elegans</i>				+	+	Heusden, Bachmann, 1992
<i>Oryza sativa</i>	+					Fukuoka et al., 1992
<i>Phaseolus vulgaris</i>		+				Miklas et al., 1993
<i>Picea glauca</i>			+			Carlson et al., 1991
<i>Pisum sativum</i>	+					Samec et al., unpubl.
<i>Pseudotsuga menziesii</i>			+			Carlson et al., 1991
<i>Saccharum spontaneum</i>		+				Sobral, Honeycutt, 1993
<i>Secale cereale</i>	+					Benito et al., 1993
<i>Stylosanthes</i> sp.	+				+	Kazan et al., 1993
<i>Triticum aestivum</i>	+				+	Dweikat et al., 1993
<i>Triticum</i> sp.					+	Vierling, Nguyen, 1992
<i>Theobroma cacao</i>	+					Wilde et al., 1992

\* 1 - genotype or cultivar identification; 2 - gene mapping; 3 - segregation analysis; 4 - population genetics; 5 - speciation, phylogenetics & evolutionary relationships

## II. Applications of RAPD to non-plant organisms

Species	Objective*					Source
	1	2	3	4	5	
<b>Bacteria:</b>						
<i>Bacillus thuringiensis</i>	+					Brousseau et al., 1993
<i>Brucella</i> sp.	+				+	Fekete et al., 1992
<i>Campylobacter jejuni</i>	+					Mazurier et al., 1992
<i>Clostridium difficile</i>	+					McMillin, Muldrow, 1992
<i>Escherichia coli</i>	+					Bassam et al., 1992
<i>Haemophilus somnus</i>	+					Myers et al., 1993
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+					Bassam et al., 1992
<i>Listeria</i> sp.	+					Mazurier, Wernars, 1992
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+					Ménard et al., 1992
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	+					Harrison et al., 1992
<i>Staphylococcus aureus</i>	+					Saulnier et al., 1993
<i>Streptococcus uberis</i>	+					Jayarao et al., 1992, Bassam et al., 1992
<b>Fungi:</b>						
<i>Agaricus bisporus</i>	+					Khush et al., 1992,
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+					Aufauvre, Brown et al., 1992
<i>Candida</i> sp.	+					Lehmann et al., 1992
<i>Hirsutella longicolla</i>	+					Strongman, MacKay, 1993
<i>Histoplasma capsulatum</i>	+					Kersulyte et al., 1992
<b>Protozoa:</b>						
<i>Trypanosoma</i> sp.	+					Tibayrenc et al., 1993
<i>Leishmania</i> sp.	+					Tibayrenc et al., 1993
<i>Plasmodium</i> sp.	+					Tibayrenc et al., 1993
<b>Animals:</b>						
<i>Melanoplus</i> sp.				+	+	Chapco et al., 1992
<i>Apis mellifera</i>			+			Hunt, Page, 1992
<i>Papio cynocephalus</i>			+			Riedy et al., 1992
<b>Homo sapiens</b>	+					Caetano-Anollés et al., 1991
			+			Riedy et al., 1992

\* 1 - genotype or strain identification; 2 - gene mapping; 3 - segregation analysis; 4 - population genetics; 5 - speciation, phylogenetics & evolutionary relationships

## Primers

Primers are used in the RAPD reactions usually at 0.2  $\mu\text{M}$  concentration (W i l l i a m s et al., 1990).

However, recently reported fingerprints produced at such concentrations were more erratic. In general, when using Taq or Pfu polymerases (for additional information about thermostable polymerases see below), the primer concentrations of 0.1  $\mu\text{M}$  caused significant failures and did not work reliably at this concentration (S o b r a l - H o n e y c u t t, 1993). Hardly any no amplification products were produced with less than 0.3  $\mu\text{M}$  primer (B a s s a m et al., 1992). A higher primer concentration increased the yield of the amplification products without altering

## III. Components of RAPD reaction

	Template (ng/100 $\mu\text{l}$ )	Primer ( $\mu\text{M}$ )	Taq <sup>1,2</sup> polymerase (U/100 $\mu\text{l}$ )	Buffer <sup>3</sup>	MgCl <sub>2</sub> (mM)	dNTPs (mM)
Commonly used	50 - 200	0.2 - 0.4 <sup>4</sup>	2 - 5	10mM Tris-HCl 50mM KCl pH = 8.3	1.5 - 4.0	0.1 - 0.2
Extremes appeared <sup>5</sup>	20 $\mu\text{g}$ 0.1 ng	9 0.06	10 0.8	0.001% - 0.1% gelatin or BSA or Triton X-100 (optional)	10 0.4	0.500 0.035

<sup>1</sup>unit definition: One unit of activity is the amount of enzyme required to incorporate 10 nmoles of (<sup>3</sup>H)-dTTP in 30 minutes at 80 °C (Stratagene); <sup>2</sup>usage of the other thermostable polymerases is discussed in the text; <sup>3</sup>original buffer from polymerase manufacturer is strongly recommended; <sup>4</sup>in the recent works 1-3  $\mu\text{M}$  of primer is recommended; <sup>5</sup>for additional information see the text

fingerprint consistency (B a s s a m et al., 1992). Optimal amplification profiles were obtained with primer concentration between 3 and 9  $\mu\text{M}$  with Stoffel fragment polymerase and 3 - 4.2  $\mu\text{M}$  with AmpliTaq polymerase (B a s s a m et al., 1992). AmpliTaq is the trademark for cloned recombinant Taq polymerase of Perkin-Elmer-Cetus Corp.

Decreasing the primer concentration from 10  $\mu\text{M}$  caused a decrease in the number of products mostly in the lower molecular weight range (S o b r a l, H o n e y c u t t, 1993). Shorter RAPD fragments (less than 500 bp) are generated at a high primer concentration of 3.2 - 6.4  $\mu\text{M}$ , whereas large fragments amplify readily at concentration 0.1 - 0.4  $\mu\text{M}$  (E l l s w o r t h et al., 1993).

When predicting an optimal primer concentration, the primer/template ratio is also significant. Efficient amplification may be achieved using the primer concentration between 1.6 - 6.4  $\mu\text{M}$  with approximately 0.3 - 1.0  $\mu\text{g}$  of template DNA (E l l s w o r t h et al., 1993).

Some primers produce a few or no amplification products under certain conditions, but they function after increasing both primer and template concentrations (M u r a - l i d h a r a n, W a k e l a n d, 1993).

Annealing specificity and stability depends upon temperature above all, but also on other reaction conditions and upon target segment sequence and structure. Generally, under lower temperature the likelihood of "mismatches" is larger.

Mismatched pairing is allowed only at 5' end of primer. Taq polymerase cannot extend primers with a mismatch within 3'-terminal oligonucleotide domain, which is about eight bases long (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1992a). Such phenomenon appears to be common also to other polymerases, for example *Drosophilla* DNA polymerase alpha (P e t r u s k a et al., 1988).

Apparently, the 3'-end domain determines a priming site and single base change in this region may cause a complete change in the set of amplified DNA segments. At the 5'-side the changes are much less dramatic (W i l l i a m s et al., 1990; C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1992a).

Usually, the sequences of primers are described as arbitrary, but there are several limits for primer design, like G + C content in short primers which should be 40 % or higher (W i l l i a m s et al., 1990) to ensure the stability of primer-template duplexes.

#### *DNA template*

Optimal template concentration is unique for each species. It depends on genome size. For bacterial DNA, a relatively higher template concentration is recommended in comparison with greater genomes (B a s s a m et al., 1992).

Optimal template concentration is closely related to DNA extraction method. With banana template DNA, no bands were obtained using  $6.4 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ , but amplification of the number of bands occurred as the DNA concentration decreased, with the most extensive pattern emerging at  $0.064 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ . At the same reaction conditions, the optimal concentration for rice DNA was  $3.4 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$  (M u n t h a l i et al., 1992).

Fingerprints can be produced from very small amounts of template DNA. An amount of 10 - 20 pg of template can be used for a variety of organisms (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1991, 1992a). Recently, DNA from single protoplasts of wheat and tobacco has been successfully used for RAPD analysis (B r o w n et al., 1993). One cell represents about 1 pg DNA (B e n n e t t, S m i t h, 1976, 1991; B e n n e t t et al., 1982). However, for most plant species, good results can be achieved using about 1 ng genomic DNA per  $\mu\text{l}$  of reaction.

DNA extraction procedure can significantly affect the results of RAPD reaction. This may be caused by the presence of species-specific inhibitors, which affect PCR, for example polysaccharides (D e m e k e, A d a m s, 1992), phenolic compounds, and/or RNA (P i k a a r t, V i l l e p o n t e a u, 1993; Y o o n, G l a w e, 1993). In such cases, decreasing the template batch in the reaction is helpful, as well as altering DNA extraction method (M u n t h a l i et al., 1992).

DNA purification through CsCl gradient provides very pure DNA, but it causes DNA degradation. This could affect the resulting banding pattern in comparison with another DNA isolation method. For obtaining consistent results, only one

isolation procedure should be employed. There have been found slight differences in the amplified products between CsCl purified and microextracted *Brassica napus* DNA (D e r a g o n, L a n d r y, 1992). Strong differences exist in pea DNA (W i e s n e r, personal communication). Purification through CsCl gradient is very expensive, and, moreover, it requires an ultracentrifuge facility which is inconvenient for a large number of samples. For these reasons, several "micro" or "rapid" DNA extraction methods have been developed and reported as suitable for RAPD analyses (D e r a g o n, L a n d r y, 1992; K r e s o v i c h et al., 1992; D w e i k a t et al., 1993).

### ***Deoxynucleotides (dNTPs)***

Relatively weak is the influence of dNTPs concentration on RAPD banding pattern. Although usually 200  $\mu\text{M}$  of each are used, 100  $\mu\text{M}$  or 50  $\mu\text{M}$  concentration also provides good results (S a m e c, unpublished). The only requirement is to keep the concentration of all four dNTPs in balance to avoid misincorporation or specific suppression of biased sequences.

### ***Thermostable polymerase***

The type of polymerase has a fundamental effect on appearance of amplification profile. There are various thermostable polymerases available supplied by numerous manufacturers. The Taq polymerase is used in most papers published so far. Enzyme concentration necessary for RAPD profiles ranges between 2-5 units per 100  $\mu\text{l}$  of reaction volume. Generally, when increasing the enzyme concentration, the yield of amplification products increases. But at very high concentrations (above 40 U per 100  $\mu\text{l}$  volume), Taq polymerase tends to produce a ladder (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1992a). For consistent results, the usage of polymerase from one manufacturer is strongly recommended. Fingerprints are not affected by batch-to-batch enzyme variations (B a s s a m et al., 1992).

Results using native Taq polymerase were not as reliable as those with AmpliTaq polymerase (S o b r a l, H o n e y c u t t, 1993). Stoffel fragment of Taq polymerase produced quite different amplification products than AmpliTaq polymerase (B a s s a m et al., 1992), and Pfu polymerase gave another new products in comparison with the former two polymerases.

Reaction products obtained using the Stoffel fragment ranged from 0.1 to 1.5 kb in size, whereas the AmpliTaq and Pfu products generally ranged from 0.5 to 2.5 kb. DNA fragments amplified by the Stoffel fragment, being smaller, are better resolved on polyacrylamide gels. Apparently, the Stoffel fragment is more suitable for RAPD. From a set of primers, 30 % primers gave no products with AmpliTaq, 34 % failed with Pfu and 2.8 % failed with the Stoffel fragment (S o b r a l, H o n e y c u t t, 1993).

The average mapping output with Stoffel fragment is 3.8 polymorphic fragments per primer, while 2.3 polymorphisms on average with AmpliTaq (S o b r a l, H o n e y c u t t, 1993). Stoffel fragment had a wider and more useful range of activity, including thermal stability and magnesium ion concentration, but it has a

lower processivity, requiring at least the twice higher amount per assay than the AmpliTaq enzyme (B a s s a m et al., 1992).

### **Magnesium ion**

Magnesium is an essential component of RAPD reaction mixture. It affects primer annealing, strand dissociation, i. e. denaturation temperatures of both template and PCR product, product specificity, formation of primer-dimer artifacts and enzyme activity and fidelity (I n n i s, G e l f a n d, 1990). Its influence on RAPD profile is therefore fundamental.

No bands were observed in the absence of magnesium (Munthali et al., 1992). More than 1 mM  $Mg^{2+}$  was required for amplification (B a s s a m et al., 1992). When Mg concentration increased, the number of bands increased up to the concentration of 4 mM (M u n t h a l i et al., 1992). In the range of 0 - 2 mM the amplification products may drastically alter (Ellsworth et al., 1993). Consistent fingerprints were produced with 4 - 8 mM magnesium (B a s s a m et al., 1993). Above 2 mM threshold, the banding pattern appears to be independent of magnesium concentration (E l l s w o r t h et al., 1993).

Stoffel fragment was inhibited at a concentration higher than 8 mM (B a s s a m et al., 1992).

Hence it is evident that the Mg concentration has a fundamental influence on RAPD profiles.

### **Temperature profile**

Thermal conditions are crucial for successful amplification. Temperature belongs to those factors which may substantially change the resulting banding pattern (M u n t h a l i et al., 1992).

There are no substantial differences between site-specific PCR and RAPD as concerns denaturation temperature.

On the contrary, the primer annealing phase appears to be quite different from PCR. Although several formulas exist for calculating the optimal annealing temperature (R y c h l i k et al., 1990), none of them is suitable for RAPD short primers. These formulas are very inaccurate for short primers about 10 bases in length. For example, for 5-mer primer  $T_m = 41.8$  °C was determined (R y c h l i k et al., 1990), but the primer produced amplification products up to 55 °C (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1992a). Thus, optimal annealing temperature for the RAPD must be predicted empirically.

Originally, the annealing at 36 °C was successfully used for a wide range of primers and templates while temperatures above 40 °C prevented amplification (W i l l i a m s et al., 1990; F e k e t e et al., 1992). The recently described results indicate that amplification with short random primers proceeds at much higher temperatures, for example with 7-mer above 60 °C, 12-mer up to 70 °C and with 15-mer up to 75 °C (C a e t a n o - A n o l l é s et al., 1992a).

Random primers are expected to prime amplification also due to unspecific annealing (Williams et al., 1990; Bassam et al., 1992). However, there are ambiguous evidences for such events.

Annealing temperatures of 15, 30, 35 and 40 °C did not cause any significant changes in the fingerprint (Sobral, Honeycutt, 1993). Caetano-Añollés et al. (1992a) admit that the elevated increased annealing temperature caused simplification of RAPD profiles due to a decrease in the number of low intensity bands.

In contrast, alterations in the annealing temperature between 35 and 50 °C produced strong changes in the banding pattern and no linear relationships between annealing temperature, fragment size and amplification efficiency were evident (Ellsworth et al., 1993).

The extension phase has apparently no or little effect on banding pattern because of a high rate of DNA synthesis by polymerase. Two-step cycling (96 and 36 °C) was applied to bacterial genomes with long ramping time (Bassam et al., 1992).

The long ramping time between annealing and extension steps appears to be important for both reproducibility and yield (Klein-Lankhorst et al., 1991; Sobral, Honeycutt, 1993). Extension time above 90 s per cycle did not improve the results of reaction (Sobral, Honeycutt, 1993).

### About products of RAPD reaction

Nonreproducible bands occasionally appear when the reaction is repeated in the same conditions (Deragon, Landry, 1992). They represent bands of weak intensity and are termed "secondary" or "tertiary" products (Bassam et al., 1992). However, these small differences do not affect the usefulness of the RAPD approach because only strong bands are considered in fingerprint patterns and are used as genetic markers in segregation analyses (Williams et al., 1990). As for the purposes of DNA fingerprinting, this may sometimes cause problems with reproducibility of fingerprint patterns. Therefore optimal reaction conditions should be tested for each teplate-primer combination.

RAPD products represent mostly dominant genetic markers and are inherited by Mendelian fashion (Echt et al., 1992; Carlson et al., 1991; Roy et al., 1992), therefore heterozygotes cannot be distinguished (Welsh et al., 1991a). There are evidences that only strong markers are inherited by Mendelian fashion contrary to weak bands (Deragon, Landry, 1992; Echt et al., 1992).

Only very rarely are codominant RAPD markers reported (Hunt, Page, 1992) which are probably a consequence of internal deletions or insertions.

Very little is known about nucleotide sequence of RAPD products. They are usually expected to be a part of variable repetitive regions (Williams et al., 1990; Caetano-Añollés et al., 1991), but no sequence information has been available so far.

On the contrary, indirect sequence analysis based on Southern hybridization of selected RAPD fragments with all products showed that there are no sequence

similarities between various RAPD products of different length (Chalmers et al., 1992; Wilde et al., 1992) and, moreover, some of the products equally long were found to be non-allelic (Chalmers et al., 1992).

### Visualization of RAPD products

Amplification products are usually detected by agarose gel electrophoresis and ethidium bromide staining (Williams et al., 1990). It should be noted that this approach detects only the fragments amplified to a high concentration (Cetano - Anollés et al., 1991), thereby the number of detectable fragments decreases. Low sensitivity causes the necessity of loading the whole reaction mixture onto the gel well (25 µl) so that there is no sample left for further analyses.

Polyacrylamide gel electrophoresis followed by ethidium bromide staining is applicable too (Wilde et al., 1992). This procedure provides better resolution of complex patterns and it is more sensitive than agarose (Samec, unpublished).

Subsequent restriction cleavage of RAPD products can extend polymorphism up to discrimination among individual plant genotypes (Cetano - Anollés et al., 1992b).

For higher sensitivity, the polyacrylamide gel electrophoresis with silver staining of nucleic acids is strongly recommended (Cetano - Anollés et al., 1991).

Evidently, the most sensitive approach to detection of amplified fragments is to use radiolabelled deoxynucleotides in the reaction (Welsch, McClelland, 1990). However, this approach is more hazardous, time and cost consuming so that its routine application to plant breeding is limited. Furthermore, the increased number of visible fragments need not lead to more useful polymorphisms (Sobral, Honesty et al., 1993).

### RAPD applications and perspectives

A number of polymorphic bands, RAPD markers obtainable from a single primer may vary substantially. Within the set of eight random primers only one primer was able to give informative markers for discrimination within a serotype of *Listeria* (Mazurier, Wernars, 1992). The reported value of average polymorphism obtainable per single primer (2.9) is unusually high and is perhaps caused by highly variable plant material (*Beta vulgaris* L., Uphoff, Wricke, 1992). For *Aspergillus fumigatus* only 15 out of 44 primers gave polymorphic patterns (Auffavre, Brown et al., 1992).

In general, products generated in RAPD reaction fall into two categories: those that are phylogenetically conserved and those that are individual-specific. It is assumed that primer-target sites are randomly distributed along the template genome and cover both the conserved and hypervariable regions (Cetano - Anollés et al., 1991), thereby some RAPD-amplified fragments are polymorphic.

Such polymorphisms may be used as genetic markers to determine genetic relationships, such as varietal identification (Tables II and III for review), protection of plant breeders right, parentage determination (Welsch et al., 1991), systematic and evolutionary studies (Tables II and III), to develop high density genetic linkage maps

(Reiter et al., 1992), to identify and map markers for QTL loci (Welsh et al., 1991b) or genes coded for resistance (Uphoff, Wrick, 1992), markers for DNA fragments from pulsed field gels (Kolchinsky et al., 1993) and chromosomal markers (Klein-Lankhorst et al., 1991; Wardell et al., 1993).

The applications of RAPD markers are similar to those of RLFPs, but RAPD approach has several substantial advantages over traditional RFLP technology:

1. increased speed (10x) of obtaining information in comparison to RFLP (Welsh et al., 1991a),
2. dramatic reduction of the amount of DNA template required for analysis (200 -1000 x), even DNA from one cell is enough for RAPD reaction (Brown et al., 1993)
3. DNA template for RAPD is not required to be substantially purified so that rapid methods for DNA isolation may be used (Dweikat et al., 1993; Kresovich, et al., 1992),
4. there is no need for prior knowledge of sequence for RAPD - typing genomic DNA (Williams et al., 1990), hence any genome, even yet fully unknown, is amenable to rapid genetic analysis,
5. polymorphisms need not be cloned during their detection and mapping, therefore we can circumvent host and vector limitations (Welsh et al., 1991),
6. some of the polymorphisms detected may map the genomic regions for which RFLPs need not be easily identifiable (Tingey, Tuffo, 1993),
7. RAPD in comparison with RFLP is quite open to automation processing of a high number of samples necessary for mapping technologies (Reiter et al., 1992),
8. there is no known restriction of RAPD with respect to template, in other words any organism may be analyzed,
9. there is no need to use radioactive probes like in RFLP, hence RAPD technique is quite open to routine usage.

On the other hand, there are some disadvantages of RAPD: lower reproducibility of certain minor products and sometimes problematic interpretation of very complex banding patterns. Both disadvantages can be circumvented either by selection of suitable primers or by optimization of reaction conditions and/or visualization technique for the given primer template-combination.

We can guess some perspectives of RAPD technology for the near future:

1. After RAPD products are sequenced, certain preference may be revealed toward all coding, noncoding or regulatory sequences of a particular genome. Hence, RAPD could become a powerful shortcut to isolation of eukaryotic genes or isolation of genome-specific DNA polymorphism such as microsatellites.
2. Primers for RAPD reactions may be designed following some genome motives, like mini- and microsatellites, motives derived from HTF islands or CpG regions often flanking transcriptionally active regions in eukaryotic genomes. Hence, again, shortcut strategy may be well designed for gene isolation or isolation of genome-specific DNA

polymorphism capable to discriminate genomes at a desired level (genus, species, individual).

There are two ongoing research projects solved in our laboratory in collaboration with the Research Institute of Technical Crops and Legumes in Šumperk and with the Research Institute of Forage Crops in Troubsko. One project is aimed at genotyping of pea collection genotypes and cultivars, the other is aimed at DNA typing of grass collection (*Festuca* sp., *Lolium* sp.).

Currently, we prepare new research projects based on the perspectives mentioned above. Detailed facts concerning RAPD applications, especially various strategies of genetic and physical mapping using RAPD markers as STS sites and various methods of statistics to evaluate DNA fingerprints and mapping strategies, will be a subject of another review.

## GLOSSARY

DGGE - Denaturing-Gradient-Gel-Electrophoresis

cpDNA - chloroplast DNA

DNA CURVATURE - the double helix structure of DNA is not necessarily straight but rather can be curved at almost every base pair, thus, each piece of DNA possesses a unique silhouette, as individual as its base sequence

DNA FINGERPRINTING - a technique which requires the analysis of a set of polymorphic loci chosen so that the probability that two individual DNA samples with identical fingerprints have come from different individuals is very low

DNA MARKER - polymorphic region of DNA sequence linked to a trait under interest

GENETIC HITCH-HIKING - the effect of strongly selected allele at one locus on the neutral allele at genetically linked locus, hitch-hiking effect of linked favorably selected variants on neutral polymorphism is an important mechanism for reducing heterozygosity, it depends on the strength of selection pressure and the rate of crossing over

GENETIC MARKER - DNA marker or marker derived from phenotype used in the construction of genetic maps, which can be used to determine the chromosomal location of a trait under interest

HVR - highly polymorphic hypervariable regions in eukaryotic genome

HVE - hypervariable elements, short, approximately 15-base pair repeating DNA sequences

MINISATELLITES - type of VNTR, i. e. type of repetitive sequences in eukaryotic genomes composed of tandem repeats of a consensus core motif usually 10-30 base pairs long of medium to high variability

MICROSATELLITES - type of VNTR, i. e. type of repetitive sequences in eukaryotic genomes composed of tandem repeats of a very short consensus core motif usually 1-4 base pairs long, such a region shows extensive polymorphism due to site-specific length variation as a consequence of the occurrence of different numbers of repeat units, they are marked for instance like  $(TAT)_n$  or  $(AT)_n$  where  $n$  is the number of repeats in one locus, again there are many core-identical loci dispersed throughout eukaryotic genome

mtDNA - mitochondrial DNA

rDNA - ribosomal DNA

PCR - Polymerase Chain Reaction

PFGE - Pulsed-Field-Gel-Electrophoresis

PHYLOGENETIC WALKING - isolation of the homologous gene sequences from related species using PCR or cross-hybridization strategy

QTL - Quantitative Trait Locus

RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA

VNTR - variable number of tandem repeats of hypervariable locus, typical VNTR locus contains 3-20 repeats and there are many different VNTR loci throughout genome common in sequence consensus and different in the number of repeats, so pattern of fragment is essentially unique for each individual

### References

- ARNHEIM, N. - ERLICH, H.: Polymerase chain reaction strategy. *Annu. Rev. Biochem.*, 61, 1992 : 131-156.
- AUFAUVRE-BROWN, A. - COHEN, J. - HOLDEN, D. W.: Use of randomly amplified polymorphic DNA markers to distinguish isolates of *Aspergillus fumigatus*. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1992 : 2991-2993.
- BASSAM, B. J. - CAETANO-ANOLLÉS, G. - GRESSHOFF, P. M.: DNA amplification fingerprinting of bacteria. *Appl. Microbiol.*, 38, 1992 : 70-76.
- BEGUN, D. J. - AQUADRO, CH. F.: Levels of naturally occurring DNA polymorphism correlate with recombination rates in *D. melanogaster*. *Nature*, 356, 1992 : 519-520.
- BENITO, C. - FIGUEIRAS, A. M. - ZARAGOZA, C. - GALLEGO, F. J. - De La PEÑA, A.: Rapid identification of *Triticeae* genotypes from single seeds using the polymerase chain reaction. *Plant Mol. Biol.*, 21, 1993 : 181-183.
- BENNETT, M. D. - SMITH, J. B.: Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 274, 1976 : 227-274.
- BENNETT, M. D. - SMITH, J. B. - HESLOP-HARRISON, J. S.: Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Proc. Roy. Soc. Lond. B*, 216, 1982 : 179-199.
- BENNETT, M. D. - SMITH, J. B.: Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 334, 1991 : 309-346.
- BIRKENMEYER, L. G. - MUSHAHWAR, I. K.: DNA probe amplification methods. *J. Virol.*, 35, 1991 : 117-126.
- BROWN, P. - GANAL, M. W. - TANKSLEY, S. D.: Telomeric arrays display high levels of heritable polymorphism among closely related plant varieties. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 89, 1992 : 1354-1357.
- BROUSSEAU, R. - SAINT-ONGE, A. - PRÉFONTAINE, G. - MASSON, L. - CABANA, J.: Arbitrary primed polymerase chain reaction, a powerful method to identify *Bacillus thuringiensis* serovars and strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1993 : 114-119.
- BROWN, P. T. H. - LANGE, F. D. - KRANZ, E. - LÖRZ, H.: Analysis of single protoplasts and regenerated plants by PCR and RAPD technology. *Mol. Gen. Genet.*, 237, 1993 : 311-317.

CAETANO-ANOLLÉS, G. - BASSAM, B. J. - GRESSHOFF, P. M.: DNA amplification fingerprinting using very short arbitrary oligonucleotide primers. *Biotechnol.*, 9, 1991 : 553-557.

CAETANO-ANOLLÉS, G. - BASSAM, B. J. - GRESSHOFF, P. M.: Primer-template interactions during DNA amplification fingerprinting with single arbitrary oligonucleotides. *Mol. Gen. Genet.*, 235, 1992a : 157-165.

CAETANO-ANOLLÉS, G. - BASSAM, B. J. - GRESSHOFF, P. M.: DNA amplification fingerprinting with very short primers. *Proc. Joint Pl. Breed. Symp. Ser.*, Minneapolis, Minnesota, 1992b : 18-25.

CARLSON, J. E. - TULSIERAM, L. K. - GLAUBITZ, J. C. - LUK, V. W. K. - KAUFELDT, C. - RUTLEDGE, R.: Segregation of random amplified DNA markers in F1 progeny of conifers. *Theor. Appl. Genet.*, 83, 1991 : 194-200.

CHALMERS, K. J. - WAUGH, R. - SPRENT, J. I. - SIMONS, A. J. - POWEL, W.: Detection of genetic variation between and within populations of *Gliricidia sepium* and *G. maculata* using RAPD markers. *Heredity*, 69, 1992 : 465-472.

CHAPCO, W. - ASHTON, N. W. - MARTEL, R. K. B. - ANTONISHYN, N.: A feasibility study of the use of random amplified polymorphic DNA in the population genetics and systematics of grasshoppers. *Genome*, 35, 1992 : 569-574.

D' AQUILA, R. T. - BECHTEL, L. J. - VIDELER, J. A. - ERON, J. J. - GORCZYCA, P. - KAPLAN, J. C.: Maximizing sensitivity and specificity of PCR by preamplification heating. *Nucleic Acids Res.*, 19, 1991 : 3749.

DEMEKE, T. - ADAMS, R. P.: The effects of plant polysaccharides and buffer additives on PCR. *Biotechniques*, 12, 1992 : 332-334.

DERAGON, J. M. - LANDRY, B. S.: RAPD and other PCR-based analyses of plant genomes using DNA extracted from small leaf discs. *PCR Met. and Appl.*, 1, 1992 : 175-180.

DOYLE, K. E. - KNIPPLE, D. C.: PCR-based phylogenetic walking: isolation of para-homologous sodium channel gene sequences from seven insect species and an Arachnid. *Insect Biochem.*, 21, 1991 : 689-696.

DRMANAC, R. - NIZETIC, D. - LENNON, G. G. - BEITVERDA, A. - LEHRACH, H.: W (A or T) sequences as probes and primers suitable for genomic mapping and fingerprinting. *Nucleic Acids Res.*, 19, 1991 : 5839-5842.

DWEIKAT, I. - MACKENZIE, S. - LEVY, M. - OHM, H.: Pedigree assessment using RAPD-DGGE in cereal crop species. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1993 : 497-505.

ECHT, C. S. - ERDAHL, L. A. - McCOY, T. J.: Genetic segregation of random amplified polymorphic DNA in diploid cultivated alfalfa. *Genome*, 35, 1992 : 84-87.

ELLSWORTH, D. L. - RITTENHOUSE, D. - HONEYCUTT, R. L.: Artifactual variations in randomly amplified polymorphic DNA banding patterns. *Biotechniques*, 14, 1993 : 214-217.

ERLICH, H. A. - ARNHEIM, N.: Genetic analysis using the polymerase chain reaction. *Annu. Rev. Genet.*, 26, 1992 : 479-506.

ERLICH, H. A. - GELFAND, D. - SNINSKY, J. J.: Recent advances in the polymerase chain reaction. *Science*, 252, 1991 : 1643-1651.

FEKETE, A. - BANTLE, J. A. - HALLING, S. M. - STICH, R. W.: Amplification fragment length polymorphism in *Brucella strains* by use of polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J. Appl. Bacteriol.*, 174, 1992 : 7778-7783.

FUKUOKA, S. - HOSAKA, K. - KAMIJIMA, O.: Use of random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) for identification of rice accessions. *J. Genet.*, 67, 1992 : 243-252.

- GIBBS, R. A.: DNA amplification by the polymerase chain reaction. *Anal. Chem.*, 62, 1990 : 1202-1214.
- HALLWARD, T. - STALKER, T. - LARUE, E. - KOCHERT, G.: Use of single-primer DNA amplifications in genetic studies of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant. Mol. Biol.*, 18, 1992 : 315-325.
- HARRINGTON, R. E.: DNA curving and bending in protein-DNA recognition. *Mol. Microbiol.*, 6, 1992 : 2549-2555.
- HARRISON, S. P. - MYTTON, L. R. - SKOT, L. - DYE, M. - CRESSWELL, A.: Characterisation of *Rhizobium* isolates by amplification of DNA polymorphisms using random primers. *Can. J. Microbiol.*, 38, 1992 : 1009-1015.
- HELIO, T.: Concept of VNTR alleles: Comparison of apolipoprotein B 3' hypervariable region genotyping results obtained by three methods. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 181, 1991 : 846-851.
- HEUSDEN, A. W. van - BACHMANN, K.: Genotype relationships in *Microseris elegans* (*Asteraceae*, *Lactuceae*) revealed by DNA amplification from arbitrary primers (RAPDs). *Plant. Syst. Evol.*, 179, 1992 : 221-233.
- HUNT, G. J. - PAGE, R. E. Jr.: Patterns of inheritance with RAPD molecular markers reveal novel types of polymorphism in the honey bee. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1992 : 15-20.
- INNIS, M. A. - GELFAND, D. H.: Optimization of PCRs. In: INNIS, M. A. - GELFAND, D. H. - SNINSKY J. J. - WHITE T. J. (Eds.): *PCR protocols: A guide to methods and applications*. San Diego, Academic Press Inc., 1990.
- INNIS, M. A. - MYAMBO, K. B. - GELFAND, D. H. - BROW, M. A. D.: DNA sequencing with *Thermus aquaticus* DNA polymerase and direct sequencing of polymerase chain reaction-amplified DNA. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 85, 1988 : 9436-9440.
- JAYARAO, B. M. - BASSAM, B. J. - CAETANO-ANOLLÉS, G. - GRESSHOFF, P. M. - OLIVER, S. P.: Subtyping of *Streptococcus uberis* by DNA amplification fingerprinting. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1992 : 1347-1350.
- JEFFREYS, A. J. - WILSON, V. - THEIN, S. L.: Hypervariable minisatellite regions in human DNA. *Nature*, 314, 1985 : 67-72.
- KAINZ, P. - SCHMIEDLECHNER, A. - STRACK, H. B.: In vitro amplification of DNA fragments > 10 kb. *Anal. Biochem.*, 202, 1992 : 46-49.
- KAPLAN, N. L. - HUDSON, R. R. - LANGLEY, CH. H.: The "Hitchhiking effect" revisited. *Genetics*, 123, 1989 : 887-899.
- KAZAN, K. - MANNERS, J. M. - CAMERON, D. F.: Genetic variation in agronomically important species of *Stylosanthes* determined using random amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1993 : 882-888.
- KERSULYTE, D. - WOODS, J. P. - KEATH, E. J. - GOLDMAN, W. E. - BERG, D. E.: Diversity among clinical isolates of *Histoplasma capsulatum* detected by polymerase chain reaction with arbitrary primers. *J. Bacteriol.*, 174, 1992 : 7075-7079.
- KHUSH, R. S. - BECKER, E. - WACH, M.: DNA amplification polymorphisms of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 1992 : 2971-2977.
- KIM, H. - SMITHIES, O.: Recombinant fragment assay for gene targeting based on the polymerase reaction. *Nucleic Acids Res.*, 16, 1988 : 8887-8903.
- KIRBY, L. T.: *DNA fingerprinting. An Introduction*. New York, London, Stockton Press 1990.

- KLEIN-LANKHORST, R. M. - VERMUNT, A. - WEIDE, R. - LIHARSKA, T. - ZABEL, P.: Isolation of molecular markers for tomato (*L. esculentum*) using random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Theor. Appl. Genet.*, 83, 1991 : 108-114.
- KOLCHINSKY, A. M. - FUNKE, R. P. - GRESSHOFF, P. M.: DAF-amplified fragments can be used as markers for DNA from pulse field gels. *Biotechniques*, 14, 1993 : 400-403.
- KOLLER, B. - LEHMANN, A. - McDERMOTT, J. M. - GESSLER, C.: Identification of apple cultivars using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1993 : 901-904.
- KOMARNITSKY, I. K. - SAMOYLOV, A. M. - PERETYAYKO, V. G. - GLEBA, YU. YU.: Intraspecific diversity of sugar beet (*Beta vulgaris*) mitochondrial DNA. *Theor. Appl. Genet.*, 80, 1990 : 253-257.
- KRESOVICH, S. - WILLIAMS, J. G. K. - McFERSON, J. R. - ROUTMAN, E. J. - SCHAAL, B. A.: Characterization of genetic identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a random amplified polymorphic DNA assay. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1992 : 190-196.
- LANDEGREN, U.: Molecular mechanics of nucleic acid sequence amplification. *Trends Genet.*, 9, 1993 : 199-204.
- LANHAM, P. G. - FENNEL, S. - MOSS, J. P. - POWELL, W.: Detection of polymorphic loci in *Arachis* germplasm using random amplified polymorphic DNAs. *Genome*, 35, 1992 : 885-889.
- LEHMANN, P. F. - LIN, D. - LASKER, B. A.: Genotypic identification and characterization of species and strains within genus *Candida* by using random amplified polymorphic DNA. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 1992 : 3249-3254.
- LI, H. - GYLLENSTEN, U. B. - CUI, X. - SAIKI, R. K. - ERLICH, H. A. - ARNHEIM, N. : Amplification and analysis of DNA sequences in single human sperm and diploid cells. *Nature*, 335, 1988 : 414-417.
- LITT, M. - LUTY, J. A.: A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 44, 1989 : 397-401.
- LONG, E. O. - DAWID, I. B.: Repeated genes in eukaryotes. *Annu. Rev. Biochem.*, 49, 1980 : 727-764.
- MARIAT, D. - VERGNAUD, G.: Detection of polymorphic loci in complex genomes with synthetic tandem repeats. *Genomics*, 12, 1992 : 454-458.
- MARTIN, A. P. - NAYLOR, G. J. P. - PALUMBI, S. R.: Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. *Nature*, 357, 1992 : 153-155.
- MARTIN, G. B. - De VICENTE, M. C. - TANKSLEY, S. D.: High-resolution linkage analysis and physical characterisation of the *Pto* bacterial resistance locus in tomato. *Mol. Plant-Microb. Interaction*, 6, 1993 : 26-34.
- MAZURIER, S. - GIESSEN, A. van den - HEUVELMAN, K. - WERNARS, K.: RAPD analysis of *Campylobacter* isolates: DNA fingerprinting without the need to purify DNA. *Lett. Appl. Microbiol.*, 14, 1992 : 260-262.
- MAZURIER, S. I. - WERNARS, K.: Typing of *Listeria* strains by random amplification of polymorphic DNA. *Res. Microbiol.*, 143, 1992 : 499-505.
- McMILLIN, D. E. - MULDROW, L. L.: Typing of toxic strains of *Clostridium difficile* using DNA fingerprints generated with arbitrary polymerase chain reaction primers. *FEMS Microbiol. Lett.*, 92, 1992 : 5-10.

- MÉNARD, CH. - BROUSSEAU, R. - MOUTON, CH.: Application of polymerase chain reaction with arbitrary primer (AP-PCR) to strain identification of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. FEMS Microbiol. Lett., 95, 1992 : 163-168.
- MIKLAS, P. N. - STAVELY, J. R. - KELLY, J. D.: Identification and potential use of a molecular marker for rust resistance in common bean. Theor. Appl. Genet., 85, 1993 : 745-749.
- MORGANTE, M. - OLIVIERI, A. M.: PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. Plant J., 3, 1993 : 175-182.
- MUNTHALI, M. - FORD-LLOYD, B. V. - NEWBURY, H. J.: The random amplification of polymorphic DNA for fingerprinting plants. PCR Meth. and Appl., 1, 1992 : 274-276.
- MURALIDHARAN, K. - WAKELAND, E. K.: Concentration of primer and template qualitatively affects products in random-amplified polymorphic DNA PCR. Biotechniques, 14, 1993 : 362-364.
- MYERS, L. E. - SILVA, S. V. P. S. - PROCUNIER, J. D. - LITTLE, P. B.: Genomic fingerprinting of *Haemophilus somnus* isolates by using a random-amplified polymorphic DNA assay. J. Clin. Microbiol., 31, 1993 : 512-517.
- NAKAMURA, Y. - LEPPERT, M. - O'CONNEL, P. - WOLFF, R. - HOLM, T. - CULVER, M. - MARTIN, C. - FUJIMOTO, E. - HOFF, M. - KUMLIN, E. - WHITE, R.: Variable number tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. Science, 235, 1987 : 1616-1622.
- NEVO, E. - BEN-SHLOMO, R. - BEILES, A. - HART, CH. P. - RUDDLE, F. H.: Homeobox DNA polymorphisms (RFLPs) in subterranean mammals of the *Spalax ehrenbergii* superspecies in Israel: Patterns, correlates, and evolutionary significance. J. exp. Zool., 263, 1992 : 430-441.
- NYBOM, H. - SCHAAL, B. A.: DNA fingerprints reveal genotypic distribution in natural populations of blackberries and raspberries (*Rubus, Rosaceae*). Amer. J. Bot., 77, 1990 : 883-888.
- PARAN, I. - KESSELI, R. - MICHELMORE, R.: Identification of restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce, using near-isogenic lines. Genome, 34, 1991 : 1021-1027.
- PATERSON, A. H. - TANKSLEY, S. D. - SORRELS, M. E.: DNA markers in plant improvement. Adv. Agron., 46, 1991 : 39-90.
- PENNER, G. A. - CHONG, J. - LÉVESQUE - LEMAY, M. - MOLNAR, S. J. - FEDAK, G.: Identification of a RAPD marker linked to the oat stem rust gene *Pg3*. Theor. Appl. Genet., 85, 1993 : 702-705.
- PETRUSKA, J. - GOODMAN, M. F. - BOOSALIS, M. S. - SOWERS, L. C. - CHEONG, CH. - TINOCO, I.: Comparison between DNA melting thermodynamics and DNA polymerase fidelity. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 85, 1988 : 6252-6256.
- PIKAART, M. J. - VILLEPONTEAU, B.: Suppression of PCR amplification by high levels of RNA. Biotechniques, 14, 1993 : 24-25.
- REITER, R. S. - WILLIAMS, J. G. K. - FELDMANN, K. A. - RAFALSKI, J. A. - TINGEY, S. V. - SCOLNIK P. A.: Global and local genome mapping in *Arabidopsis thaliana* by using recombinant inbred lines and random amplified polymorphic DNAs. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 89, 1992 : 1477-1481.
- RIEDY, M. F. - HAMILTON, W. J. - AQUADRO, CH. F.: Excess of non-parental bands in offspring from known primate pedigrees assayed using RAPD PCR. Nucleic Acids Res., 20, 1992 : 918.

ROGSTAD, S. H. - PATTON, J. C. - SCHAAL, B. A.: M13 repeat probe detects DNA minisatellite-like sequences in gymnosperms and angiosperms. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 85, 1988 : 9176-9178.

ROY, A. - FRASCARIA, N. - MACKAY, J. - BOUSQUET, J.: Segregating random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in *Betula alleghaniensis*. Theor. Appl. Genet., 85, 1992 : 173-180.

RYCHLIK, W. - SPENCER, W. J. - RHOADS, R. E.: Optimization of the annealing temperature for DNA amplification *in vitro*. Nucleic Acids Res., 18, 1990 : 6409-6412.

SAIKI, R. K. - GELFAND, D. H. - STOFFEL, S. - SCHARF, S. J. - HIGUCHI, R. - HORN, G. T. - MULLIS, K. B. - ERLICH, H. A.: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 239, 1988 : 487-491.

SAIKI, R. K. - SCHARF, S. - FALOONA, F. - MULLIS, K. B. - HORN, G. T. - ERLICH, H. A. - ARNHEIM, N.: Enzymatic amplification of  $\beta$ -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. Science, 230, 1985 : 1350-1354.

SAMBROOK, J. - FRITSCH, E. F. - MANIATIS, T.: Molecular cloning: A laboratory manual., 2nd edition. N. Y. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SAULNIER, P. - BOURNEIX, C. - PRÉVOST, G. - ANDREMONT, A.: Random amplified polymorphic DNA assay is less discriminant than pulsed-field gel electrophoresis for typing strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol., 31, 1993 : 982-985.

SCHAAL, B. A. - LEARN, G. H.: Ribosomal DNA variation within and among plant populations. Ann. Missouri Bot. Gard., 75, 1988 : 1207-1216.

SCHAAL, B. A. - O'KANE, S. L. - ROGSTAD, S. H.: DNA variation in plant populations. Tree, 6, 1991 : 329-333.

SCHAFER, R. - ZISCHLER, H. - BIRSNER, U. - BEEKER, A. - EPPLER, J. T.: Optimized oligonucleotide probes for DNA fingerprinting. Electrophoresis, 9, 1988 : 369-374.

SCHARF, S. J. - HORN, G. T. - ERLICH, H. A.: Direct cloning and sequence analysis of enzymatically amplified genomic sequences. Science, 233, 1986 : 1076-1078.

SHEFFIELD, V. C. - BECK, J. S. - NICHOLS, B. - COUSINEAU, A. - LIDRAL, A. C. - STONE, E. M.: Detection of multiallele polymorphisms within gene sequences by GC clamped denaturing gel. Electrophoresis. Am. J. Hum. Genet., 50, 1992 : 567-575.

SOBRAL, B. W. S. - HONEYCUTT, R. J.: High output genetic mapping of polyploids using PCR-generated markers. Theor. Appl. Genet., 86, 1993 : 105-112.

STEWART, C. N. - VIA, L. E.: A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. Biotechniques, 14, 1993 : 748-749.

STILES, J. I. - LEMME, C. - SONDUR, S. - MORSHIDI, M. B. - MANSCHARDT, R.: Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. Theor. Appl. Genet., 85, 1993 : 697-701.

STRONGHAM, D. B. - MACKAY, R. M.: Discrimination between *Hirsutella longicolla* var. *longicolla* and *Hirsutella longicolla* var. *cornuta* using random amplified polymorphic DNA fingerprinting. Mycologia, 85, 1993 : 65-70.

STUCKLE, E. E. - NIELSEN, P. J. - BROG, U.: Probability of occurrence of specific oligomers. J. Theor. Biol., 159, 1992 : 299-306.

TANKSLEY, S. D.: Molecular markers in plant breeding. Plant. Mol. Biol. Rep., 1, 1983 : 3-8.

- TAUTZ, D. - RENZ, M.: Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.*, 12, 1984 : 4127-4138.
- TIBAYRENC, M. - NEUBAUER, K. - BARNABÉ, CH. - GUERRINI, F. - SKARECKY, D. - AYALA, F.: Genetic characterisation of six parasitic protozoa: Parity between random-primer DNA typing and multilocus enzyme electrophoresis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 90, 1993 : 1335 -1339.
- TINGEY, S. V. - TUFO, J. P. del: Genetic analysis with random amplified polymorphic DNA markers. *Plant. Physiol.*, 101, 1993 : 349-352.
- TRIFONOV, E. N.: DNA in profile. *Trends Biochem. Sci.*, 16, 1991 : 467-470.
- UNKLES, S. E. - DUNCAN, J. M. - KINGHORN, J. R.: Zinc fingerprinting for *Phytophthora* species: ZIF markers. *Curr. Genetics*, 22, 1992 : 317-318.
- UPHOFF, H. - WRICKE, G.: Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): Mapping the genes for *nematode* resistance and hypocotyl colour. *Plant. Breed.*, 109, 1992 : 168-171.
- VAHALA, T. - ERIKSSON, T. - ENGSTROM, P.: Genetic variability in basket willow (*Salix viminalis*) detected by hybridization to a bacteriophage M13 DNA probe. *Hereditas*, 115, 1991 : 153-161.
- VASSART, G. - GEORGES, M. - MONSIEUR, R. - BROCCAS, H. - LEQUARRE, A. S. - CHRISTOPHE, D.: A sequence in M13 phage detects hypervariable minisatellites in human and animal DNA. *Science*, 235, 1987 : 683-684.
- VIERLING, R. A. - NGUYEN, H. T.: Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid, wheat genotypes. *Theor. Appl. Genet.*, 84, 1992 : 835-838.
- WALBOT, V. - CULLIS, CH. A.: Rapid genomic change in higher plants. *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, 36, 1985 : 367-396.
- WALKER, G. T. - LITTLE, M. C. - NADEAU, J. G. - SHANK, D. D.: Isothermal *in vitro* amplification of DNA by a restriction enzyme/DNA polymerase system. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 89, 1992 : 392-396.
- WALTON, M.: Application of RFLP technology to applied plant breeding. In: *Horticultural Biotechnology*. J. Wiley-Liss. 1990.
- WARDELL, B. B. - SUDWEEKS, J. D. - MEEKER, N. D. - ESTES, S. S. - WOODWARD, S. R. - TEUSCHER, C.: The identification of Y chromosome-linked markers with random sequence oligonucleotide primers. *Mamm. Genome*, 4, 1993 : 109-112.
- WATSON, A. - SMALDON, N. - LUCKE, R. - HAWKINS, T.: The *Caenorhabditis elegans* genome sequencing project: first steps in automation. *Nature*, 362, 1993 : 569-570.
- WEBER, J. L.: Human DNA polymorphism based on length variations in simple-sequence tandem repeats. In: (DAVIES, K. E. - TILGHMAN, S. M. (Eds.): *Genetic and Physical Mapping*, vol. 1, *Genome Anal.* Cold Spring Harbor Lab. Press 1990.
- WELLS, R. A. - GREEN, P. - REEDERS, S. T.: Simultaneous genetic mapping of multiple human minisatellite sequences using DNA fingerprinting. *Genomics*, 5, 1989 : 761-768.
- WELSH, J. - CHADA, K. - DALAL, S. S. - CHENG, R. - RALPH, D. - McCLELLAND, M.: Arbitrarily primed PCR fingerprinting of RNA. *Nucleic Acids Res.*, 20, 1992 : 4965-4970.
- WELSH, J. - HONEYCUTT, R. J. - McCLELLAND, M. - SOBRAL, B. W. S.: Parentage determination in maize hybrids using the arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR). *Theor. Appl. Genet.*, 82, 1991a : 473-476.

WELSH, J. - PETERSEN, C. - McCLELLAND, M.: Polymorphisms generated by arbitrarily primed PCR in the mouse: application to strain identification and genetic mapping. *Nucleic Acids Res.*, 20, 1991b : 303-306.

WELSH, J. - McCLELLAND, M.: Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.*, 18, 1990 : 7213-7218.

WELSH, J. - McCLELLAND, M.: Genomic fingerprinting using arbitrarily primed PCR and a matrix of pairwise combinations of primers. *Nucl. Acids Res.*, 19, 1991 : 5275-5279.

WIESNER, I. - HOFÍREK, P. - PIPPALOVÁ, E.: Identification of soybean cultivars using dry seed characters. *Genet. a Šlecht.*, 29, 1993 : 161-174.

WILDE, J. - WAUGH, R. - POWEL, W.: Genetic fingerprinting of *Theobroma clones* using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.*, 83, 1992 : 871-877.

WILLIAMS, J. G. K. - KUBELIK, A. R. - LIVAK, K. J. - RAFALSKI, J. A. - TINGEY, S. V.: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18, 1990 : 6531-6535.

WOLFE, K. - LI, W. - SHARP, P.: Rates of Nucleotide Substitution Vary Greatly Among Plant Mitochondrial, Chloroplast, and Nuclear DNAs. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 84, 1987 : 9054-9058.

WONG, C. - DOWLING, C. E. - SAIKI, R. K. - HIGUCHI, R. G. - ERLICH, H. A. - KAZAZIAN, H. H.: Characterisation of  $\beta$ -thalassemia mutations using direct genomic sequencing of amplified single copy DNA. *Nature*, 330, 1987 : 384-386.

YOON, CH. - GLAWE, D. A.: Pretreatment with RNase to improve PCR amplification of DNA using 10-mer primers. *Biotechniques*, 14, 1993 : 908-910.

YOUNG, N. D.: Potential applications of Map-based cloning to plant pathology. *Physiol. Mol. Pl. Pathol.*, 37, 1990 : 81-94.

ZHANG, L. - CUI, X. - SCHMITT, K. - HUBERT, R. - NAVIDI, W. - ARNHEIM, N.: Whole genome amplification from a single cell: Implications for genetic analysis. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 89, 1992 : 5847-5851.

ZHAO, X. - KOCHERT, G.: Phylogenetic distribution and genetic mapping of a (GGC)<sub>n</sub> microsatellite from rice (*Oryza sativa* L.). *Pl. Mol. Biol.* 21, 607-614.

*P. Samec (Ústav molekulární biologie rostlin, AV ČR, České Budějovice)*

### **Polymorfismus DNA a technologie RAPD**

V práci jsou uvedeny nejvýznamnější zdroje polymorfní DNA v genomu. Polymorfní DNA je mnohostranně využívána jako molekulární marker a její praktický význam (ve šlechtění i v jiných oborech) je již dnes značný.

Stručně jsou popsány hlavní strategie pro detekci polymorfní DNA v genomu (hybridizace, enzymatická amplifikace, speciální elektroforetické techniky a sekvenování DNA). Největší pozornost je věnována využití polymerázové řetězové reakce (PCR) a zvláště metodě náhodně amplifikované polymorfní DNA (RAPD), která využívá principu PCR. RAPD technologie se zdá být velmi perspektivní k produkci polymorfních fragmentů DNA. Ačkoliv je to metoda relativně jednoduchá, je u nás dosud prakticky neznámá.

Hlavním cílem tohoto přehledu je přiblížit tuto oblast všem potenciálním uživatelům.

# GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ

ROČNÍK 29. 1993

- Bartoš P., Stuchlíková E., Hanušová R.: Genetika rezistence odrůd pšenice ozimé Sofia, Senta, Simona, Vlada a Vega ke rzi travní a rzi pšeničné – Genetics of stem and leaf rust resistance of winter wheat cultivars Sofia, Senta, Simona, Vlada and Vega . . . . . 271
- Brückner F.: Vyušlechtění odrůdy sladovnického ječmene nového morfo-  
typu Forum – The breeding of the malting barley cultivar of new morphotype  
Forum . . . . . 199
- Černý J., Šašek A., Špunar J.: Hordein protein electrophoresis  
identification of two-rowed winter barleys from two-rowed spring barleys and  
multi-rowed winter barleys – Rozlišení dvouřadých ozimých ječmenů od dvou-  
řadých jarních ječmenů a víceřadých ozimých ječmenů pomocí elektroforézy  
hordeinových bílkovin . . . . . 11
- Černý J., Šašek A., Houba J., Weishaupt F.: Prolamine  
starch gel electrophoresis determination of varietal trueness and varietal purity  
in common wheat and common barley – Stanovení odrůdové pravosti a odrů-  
dové čistoty osiv pšenice obecné a ječmene setého pomocí elektroforézy prola-  
minů ve škrobovém gelu . . . . . 89
- Dreiseitl A., Pařízek P.: Odolnost vybraných československých  
odrůd ječmene jarního vůči padlí travnímu – Resistance of selected Czechoslo-  
vak spring barley varieties to powdery mildew . . . . . 123
- Ehrenbergerová J.: Nutriční a výnosové ukazatele odlišných genotypů  
jarního krmného ječmene a vztahy mezi nimi – Nutritional and yield value of  
different genotypes of spring feed barley and their correlations . . . . . 263
- Hanušová R., Bartoš P.: Odolnost českých povolených odrůd a no-  
vošlechtění pšenice ozimé k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *tritici*  
Marchal) – Powdery mildew resistance of Czech winter wheat cultivars and  
advanced lines (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *tritici* Marchal) . . . . . 205
- Hanušová R., Bartoš P.: Odolnost slovenských odrůd a novošlechtě-  
ní ozimé pšenice k padlí travnímu (*Erysiphe graminis* DC. sp. f. *Tritici* Marchal)  
– Powdery mildew resistance of Slovak winter wheat cultivars and advanced  
lines . . . . . 279

K l u s á k H.: Selekcce chemomutantů ječmene jarního pomocí aktivity nitrátreduktázy – The selection of chemomutants of spring barley by nitrate reductase activity . . . . .	217
K o s t k a n o v á E., M a n e v M., S t e h n o Z.: Pekařská jakost zrna vybraných zahraničních odrůd pšenice jarní z kolekce genetických zdrojů – Baking quality of grain of some foreign spring wheat varieties from the collection of genetic sources . . . . .	183
K o s t k a n o v á E., S t e h n o Z., M a n e v M.: Hodnocení mexických odrůd pšenice jarních z hlediska jakosti zrna, jeho výnosu a výšky rostlin – Evaluation of Mexican spring wheat in view of grain quality, its yield and the plant height . . . . .	245
K o š n e r J., B r o m o v á P.: Citlivost některých odrůd československého sortimentu pšenice k fotoperiodě – The sensitivity of some varieties of Czechoslovak assortment of wheat to photoperiod . . . . .	111
K o š n e r J., B r o m o v á P.: Určení genů systému <i>Vrn</i> u některých odrůd pšenice jarní – Determination of genes of the system <i>Vrn</i> in some spring wheat varieties . . . . .	99
K u č e r a L., Š í p V., Š a š e k A., Š k o r p í k M.: Analýza vybraných znaků u dihaploidních linií a odpovídajících potomstev generace F <sub>2</sub> u pšenice obecné – Analysis of selected characters in wheat doubled haploids and F <sub>2</sub> generation progenies . . . . .	175
S t u c h l í k o v á E.: Přenos genů rezistence ke rzi pšeničné <i>Lr9</i> , <i>Lr19</i> a <i>Lr24</i> do produktivních ozimých odrůd pšenice – Transfer of <i>Lr9</i> , <i>Lr19</i> and <i>Lr24</i> into productive winter wheat cultivars . . . . .	105
S ý k o r a M., M i k l o v i č o v á M.: Spektrum a frekvencia génov virulence múčnatky trávovej ( <i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>hordei</i> ) na jačmeni v niektorých oblastiach SR a MR – Spectrum and frequency of virulence genes in barley powdery mildew ( <i>Erysiphe graminis</i> f. sp. <i>hordei</i> ) in some regions of Slovak and Hungarian Republics . . . . .	227
Š i n d e l á ř L., B e ž o v á K., Č e ř o v s k á N., Š i n d e l á ř o v á M.: Použití metod skleníkového a polního testu a kvantitativní metody DAS-ELISA při šlechtění tabáku na rezistenci k fytovirům – Application of glasshouse and field trial and quantitative DAS-ELISA method in tobacco breeding to phyto-viruses resistance . . . . .	131
Š í p V., Š k o r p í k M.: Performance trials with spring wheat lines isogenic for the dwarfing genes - Hodnocení blízce izogenních linií pšenice jarní s geny krátkostébelnosti . . . . .	1

Š u b o v á D.: Efektivnosť kritérií veľkosť a počet klíčnych pórov pre znak neredukované peľové zrná a jeho variabilita u dihaploidných klonov zemiaka – Efficiency of criteria size and number of germ pores for a trait unreduced pollen and its variability in potato dihaploid clones . . . . . 47

Š u š k a M.: Isoenzymes from pea (*Pisum*) leaves and their use in cultivar identification – Isoenzymy listů hrachu (*Pisum*) a jejich využití při identifikaci odrůd . . . . . 27 ✓

U ž í k M.: Výkonnosť syntetikov z rodinného polycrossu a topcrossu pri ľateline lúčnej The performance of synthetics derived from family polycross and topcross in red clover . . . . . 35

V y v a d i l o v á M., K u č e r a V., T o m á š k o v á D.: Plant regeneration from microspore culture of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) cultivar Nedcha F<sub>1</sub> – Regenerace rostlin z mikrosporových kultur kvěťáku (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) odrůdy Nedcha F<sub>1</sub> . . . . . 81 ✓

W i e s n e r I., H o f í r e k P., P i p p a l o v á E.: Identification of soybean cultivars using dry seed characters – Identifikace odrůd soji užitím znaků odvozených ze suchých semen . . . . . 161 ✓

#### AKTUALITY — NEWS

L e b e d a A., K ř í s t k o v á E.: Genetická variabilita rodu *Cucumis* a její využití ve šlechtění – Genetic variability of the *Cucumis* genus and its utilization in plant breeding . . . . . 59

#### PŘÍLOHA – SUPPLEMENT

C h l o u p e k O.: Metody šlechtění samosprašných rostlin – Methods of breeding of autogamous plants . . . . . 67

S t u c h l í k o v á E., K o v á č i k o v á E.: Šlechtění pšenice k fuzariózám – Wheat breeding against fusarioses . . . . . 139

U ž í k M.: Vývoj selekčných indexov a ich aplikácia v šľachtení rastlín – The development of selection indexes and their application in plant breeding . . . 235

#### KRÁTKÁ SDĚLENÍ – PRELIMINARY REPORT

Š í p V., Š k o r p í k M.: Gen *Rht1* u odrůdy pšenice ozimé Vlada – Gene *Rht1* in the Czech winter wheat variety Vlada . . . . . 289

## Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

P e t r o v i c J.: Doc. Ing. Ludovít Čermín, CSc., šesťdesiatročný . . . . . 46

## RECENZE

P e t r o v i c J.: K. Borojevic - Geni i populacija . . . . . 138

## POSTGRADUÁLNIĀ STUDIUM Z OBORU GENETIKY

S a m e c P.: DNA polymorphism and RAPD technology – Polymorfismus  
DNA a technologie RAPD . . . . . 291

## OBSAH – CONTENTS

Kostkanová E., Stehno Z., Manev M.: Hodnocení mexických odrůd pšenic jarních z hlediska jakosti zrna, jeho výnosu a výšky rostlin – Evaluation of Mexican spring wheat in view of grain quality, its yield and the plant height. . . . .	245
--	-----

Ehrenbergerová J.: Nutriční a výnosové ukazatele odlišných genotypů jarního krmného ječmene a vztahy mezi nimi – Nutritional and yield value of different genotypes of spring feed barley and their correlations . . . . .	263
--	-----

Bartoš P., Stuchlíková E., Hanušová R.: Genetika rezistence odrůd pšenice ozimé Sofia, Senta, Simona, Vlada a Vega ke rzi travní a rzi pšeničné – Genetics of stem and leaf rust resistance of winter wheat cultivars Sofia, Senta, Simona, Vlada and Vega . . . . .	271
--	-----

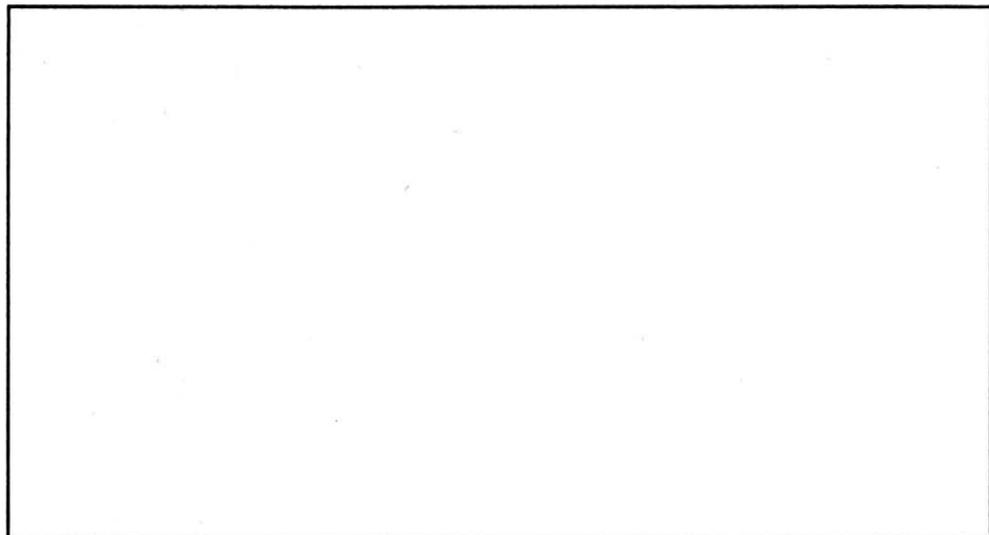
Hanušová R., Bartoš P.: Odolnost slovenských odrůd a novošlechtění pšenice ozimé k padlí travnímu ( <i>Erysiphe graminis</i> DC. f. sp. <i>Tritici</i> Marchal) – Powdery mildew resistance of Slovak winter wheat cultivars and advanced lines . . . . .	279
---	-----

## KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Šíp V., Škorpík M.: Gen <i>Rht1</i> u odrůdy pšenice ozimé Vlada – Gene <i>Rht1</i> in the Czech winter wheat variety Vlada . . . . .	289
---	-----

## POSTGRADUÁLNÍ STUDIUM Z OBORU GENETIKY

Samec P.: DNA polymorphism and RAPD technology – Polymorfismus DNA a technologie RAPD . . . . .	291
---	-----



---

Vědecký časopis GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied – Ústav zemědělských a potravinářských informací ♦ Vychází čtyřikrát ročně ♦ Redaktorka MVDr. Eva Machejová ♦ Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 02/251 098 ♦ Sazba a tisk ÚZPI ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1993.

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Hvoždanská 5 - 7, 149 00 Praha 4.