

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

Pii 135.
10.IV. 1997

1259/96

NKF



NÁRODNÍ KNIHOVNA



1001731018

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ
GENETICS AND PLANT BREEDING

358167

1

ROČNÍK 31 (LXVIII)

PRAHA 1995

ISSN 0862-8629

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Abstracts from the journal are comprised in the databases: Agrindex, Biol. Abstr., Bibl. Agri., Chem. Abstr., Field Crop Abstr., Helminthol. Abstr., Herb. Abstr., Landwirt. Zentralbl., Plant Breed. Abstr.

Editorial board – Redakční rada

Chairman – Předseda

ing. Václav Šíp, CSc.

Members of the Editorial Board – Členové redakční rady

doc. ing. Jiří Foltýn, DrSc., prof. ing. Oldřich Chloupek, DrSc.,
ing. Alois Jirsák, CSc., ing. Josef Pešek, DrSc., ing. Marie Rasochová, CSc.,
prof. ing. Jan Rod, DrSc., ing. Jaroslav Špunar, CSc., ing. Jaroslav Tupý, DrSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady

Dr. I. Bos (The Netherlands), Prof. Dr. V. A. Dragavcev (Russia),
Prof. Dr. Z. Staszewski (Poland), RNDr. Dana Šubová, CSc. (Slovak Republic),
Ing. Martin Užík, DrSc. (Slovak Republic), Ing. Alžběta Žofajová, CSc. (Slovak Republic)

Editors – Redaktorky

RNDr. Marcela Braunová, ing. Hedvika Malíková

Aim and scope: The journal publishes original scientific papers, short communications, and reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing knowledge in the given field. Published papers are in Czech, Slovak or English.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address.

Subscription price for 1995 is 140 Kc, 35 USD (Europe) and 37 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published four time a year.

Contact address: Slezská 7, 120 56 Praha, Czech Republic
tel. 0402 / 251 098; Fax: 0402 / 257 090

PRODUCTION OF HAPLOID PLANTS OF NEW WHEAT AND OAT DONORS THROUGH WHEAT x MAIZE AND OAT x MAIZE CROSSES

František MACHÁŇ, Zdeněk NESVADBA, Ludmila OHNOUTKOVÁ¹

Agricultural Research Institute Kroměříž, Co. LTD,

¹*Institute of Experimental Botany, Academy of Sciences, Olomouc, Czech Republic*

Abstract: Stabilization and homogenization of genetic properties of wheat and oats using this method is based on wide crosses of chosen genetic resources of wheat with maize, and oat with maize. The major purpose was to verify a method for obtaining the growing embryos after wide crosses, and to test suitable biotechnological procedures for *in vitro* cultivating embryos and subsequent dihaploidization using colchicine. Among three series of wide crosses various amounts of embryos from pollinated florets were obtained. The frequency of embryos obtained ranged from 0 to 48%. We also evaluated the possibility of obtaining embryos from crosses of intact plants and from crosses on detached stems (EDS), and usability of female components obtained in the field or cultivated in the glasshouse. Extirpation and *in vitro* cultivation of haploid embryos, their cytogenetic control, subsequent dihaploidization and plant cultivation till maturity showed that this method was effective for rapid developing genetically homogeneous materials. It was confirmed that successful solving and especially the frequency of embryos depended on accurate handling the plant materials and growth media used.

Triticum aestivum L.; *Avena sativa* L.; wide crossing; haploidization

Development of biotechnologies has brought about new chances in the field of genetic and breeding research. The induction of haploid plants and from them homozygous lines enables us to shorten the breeding process and isolate scarce recombinations. Cultivating hybrid embryos allows to obtain interspecific and intergeneric hybrids. The haploid material used in breeding enables us to observe gene segregation on the gametic level and at the same time to reach the homozygous status already in the F₂-generation.

Within the recent research of applied genetics in wheat and oat, our institute has formed sufficient bases for successful solving the problems of stabi-

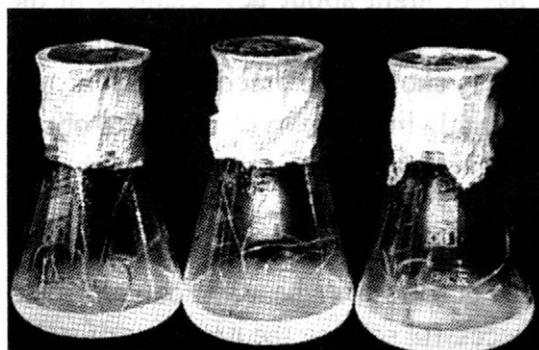
lization and homogenization of donors with productivity and grain quality in wheat and oat.

Barclay (1975) reported at a first that wheat haploids were produced from an intergeneric cross between wheat and *Hordeum bulbosum*. An application of the „bulbosum method“ for wheat production is restricted due to presence of non-crossability genes Kr_1 and/or Kr_2 in wheat genotypes (Snape et al., 1979). Laurie and Bennett (1988) observed that the wheat genotypes carrying Kr gene(s) could produce haploid plants through intergeneric crosses with maize (*Zea mays* L.). Rines and Dahleen (1990) obtained haploid embryos using the crossing of oat x maize plants. Laurie (1991) confirms the success using haploidization. He obtained five haploid plants per spike.

The principle of this method is based on the knowledge that the maize chromosomes are eliminated from the developing embryo during the first few division cycles. Developed haploid embryos of wheat or oat were cultured on nutritive media and after necessary cytogenetic studies they were dihaploidized in order to obtain the fertile and genetically stable progeny.

MATERIALS AND METHODS

In 1992–1994, three series of wide crosses were carried out in order to verify and elaborate an effective method for obtaining haploid embryos from wide crosses. We have tested suitable biotechnological techniques for *in vitro* embryo culture (Fig. 1). The ploidity of embryos obtained was verified with cytological analyses followed by plant dihaploidization using colchicine.



1. Cultivation of wheat embryos at later growing stage

F₃ and F₄-generations of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) which recombine complexes for high spike sink capacity and parameters of good breadmaking quality were used as initial materials for wide crosses. In oat (*Avena sativa* L.) both hulled and naked forms of F₃ and F₄-generations showing increased parameters of breadmaking and feeding quality were used.

The pollen from Czech hybrids CE 5289, CE 290 and the line of maize L 2001 (Fig. 2) (*Zea mays* L.), and genotypes of teosinte (*Zea mays* ssp. *mexicana*) K-65-1, K-69-4, Nobogame 85 (Fig. 3) from CIMMYT Mexico and SI-83 from EMBRAPA Brazil were used for wide crosses. To synchronize the anthesis of wheat, oat and maize, individual hybrids and lines of maize (teosinte genotypes) were sown gradually on three sowing dates in pots and planted in a glasshouse with controlled temperature regime. Wheat plants were cultivated parallelly in the glasshouse and field. Day/night temperatures ranged 21-23 °C/15-17 °C. Oat plants were cultivated in the glasshouse under the same conditions.



2. Maize hybrids and lines used for wide crosses. The juvenile growth stage of plants grown in pots



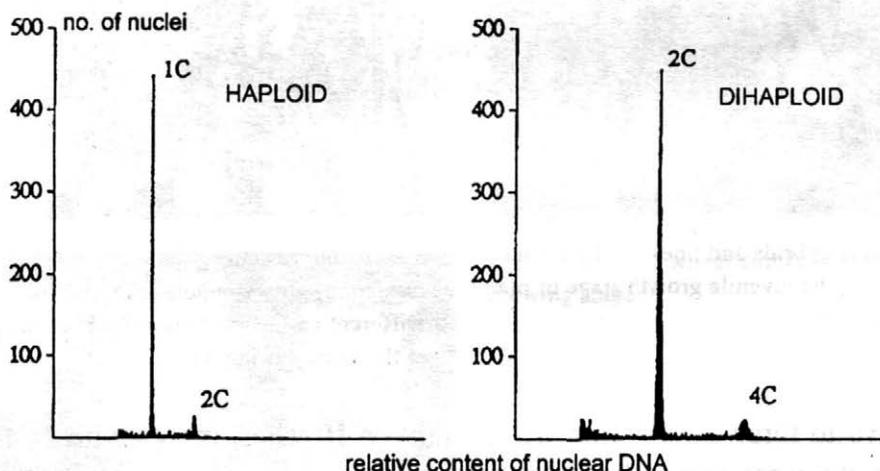
3. Teosinte varieties (*Zea mays* ssp. *mexicana*) grown in pots for wide crosses. Different earliness of varieties is apparent at the same sowing date

Two to three days before wheat anthesis 10 wheat spikes with 20 florets per spike were emasculated and isolated (Laurie, Bennett, 1986). The spikes were cultivated on the detached stem using the EDS method (Smoček et al., 1982) or on intact plants. On the anthesis day, all wheat florets were pollinated with freshly collected maize pollen (Laurie, Ben-

net, 1989). One day after pollination, the upper internode of the tiller was filled with 100 mg/l solution of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and a few drops of the same solution were placed in each floret. Embryos were left to develop in situ for 12-14 days. After this period, the embryos were excised and transferred onto the nutritive medium (Laurie, 1991).

Five oat material panicles with 10 florets were emasculated 2-3 days before pollination according to McDaniel et al. (1987) and cultivated on the detached stem using the EDS method (Macháň, 1983). On the day of swelling stigmas, pollination was performed with freshly collected maize pollen. One day after pollination, the upper internode of the tiller was filled with 100 mg/l solution of 2,4-D and a few drops of the same solution were placed in each floret. On the third, fifth and seventh day the panicles were sprayed with the solution consisting of 25 mg/l gibberellic acid (GA₃) + 10 mg/l benzyladeninphosphate (BAP) + 10 mg/l beta-indolylacetic acid (IAA) + 15 mg/l alpha-naphtylacetic acid (NAA). The embryos were left to develop in panicles for 12-14 days. Then the embryos were excised and cultured on nutritive media.

The excised embryos were always cultured on HE1 and HE2 media for about one month. In the recovered plants ploidy was evaluated on the basis of the nuclear DNA content determined using the flow cytometry (Fig. 4) and the plants were diploidized with colchicine.



4. Flow cytometry determination of DNA content in plants recovered from wheat x maize crosse (Doležal et al., 1989)

Media used for embryo and anther cultures – Institute of experimental botany, Olomouc (Ohnoutková, Ohnoutka, 1988)

Media used for embryo culture were based on MS media (Murashige, Skoog, 1962) and modified as follows:

a) for small embryos (less than 0.5 mm) as initiation ones (HE1):

1/2 MS + 20 g sucrose

50 mg/l IAA

40 mg/l BAP

2 g/l gerlit

b) for developed embryos (0.5-1 mm) as growing ones (HE2):

MS + 20 g sucrose

0.1 mg/l IAA

0.1 mg/l GA₃

2 g/l gerlit

c) for ovaries:

H/O = MS + 60 g sucrose

0.1 mg/l 2,4-D

2 g/l gerlit

d) experimentally used media:

aa) C17

bb) MN 6: 2 mg/l 2,4-D

0,5 mg/l kinetin

120 g/l maltose

2 g/l gerlit

cc) medium HE2 for wheats

dd) media MN6 and HE2 for oat

RESULTS AND DISCUSSION

During the three-year experiments with wide crosses with maize 115 winter wheat genotypes of F₃ and F₄-generations and 28 oat genotypes of F₃ and F₄-generations have been pollinated.

Various numbers of embryos per spike were obtained in individual genotypes as well as the size of embryos in individual cases was different (Table I). In 1992, pollination of 7,800 wheat florets resulted in 164 embryos,

i.e. 2.1%. Frequencies of embryos obtained from pollinated florets ranged from 0% to 16%. We also compared possibilities of producing haploid embryos in crosses on intact plants under field conditions and on the detached stem. In crosses on intact plants by pollination of 3,900 wheat florets 94 haploid embryos (2.41%) were obtained; a number of recovered green plants reached 20. While in crosses on the detached stem the numbers were low being 70 haploid embryos from 3,900 pollinated florets (1.79%) and 10 recovered plants.

In 1993, a total of 214 haploid embryos (i.e. 2.97%) were recovered from 7,200 pollinated wheat florets. The hybridization was carried out on intact wheat plants grown in a glasshouse and on intact plants grown in the field. In the glasshouse, 152 embryos (4.22 %) were excised from 3,600 pollinated florets, of which 42 plants recovered. Frequencies of embryos ranged from 0% to 28 %. In the field, 62 embryos (1.72%) were obtained from 3,600 pollinated florets and 12 plants recovered. Frequencies of embryos ranged from 0% to 9%.

Results of the first and second series of experiments showed that successful production of haploid embryos was influenced, besides the genotype, namely by synchronization of the anthesis date in wheat and maize, oat and maize and treatment of embryos with a growth stimulator. To compare the results it can be presented that Laurie and Reymondie (1991) reached a yield of 5.3 haploid embryos per spike of winter wheat.

In 1994, the use of teosinte as a pollen form in wide hybridization with wheat and oat were studied. A total of 36 winter wheat genotypes in the F₃ and F₄-generation were crossed. The results achieved correspond to conclusions drawn by Ushiyama et al. (1991). Teosinte shows a higher potentiality in haploid production with wheat than that with maize genotypes. 158 haploid embryos (4.39%) and 39 recovered plants were obtained from 3,600 wheat florets pollinated with teosinte pollen. This number was three times higher than that in crosses of wheat and maize in which 56 haploid embryos (1.56%) and 14 recovered plants were obtained from a total amount of 3,600 pollinated florets. Frequencies of embryos in crosses of wheat and teosinte ranged from 0% to 48%, in crosses of wheat and maize they ranged from 0% to 26%.

It was also confirmed that there were a lot of factors which influenced production of haploid plants in the above mentioned ranges. Besides the

genotype (Amrani et al., 1993) there are a number of important factors, which explains the exacting character of the whole process (Dunwell, 1985).

The method of wide crosses is more effective as compared to frequencies of spontaneous wheat haploids under field conditions where there are only 0.001 to 0.01% of haploids in populations (Morgensen, 1982). In our experiments, using of wide crosses were also more effective than the method of anther culture Vagera, Ohnoutková (1993). Through the 3-year period of wide crosses in oat 28 genotypes in F₃ and F₄-generations were crossed, which represents 1,400 pollinated florets (Table II).

I. A survey of obtained haploid embryos and recovered wheat plants in 1992-1994

Year		No. of pollinated florets	Embryo		No. of recovered plants
			no.	%	
1992	crosses on intact plants-field	3,900	94	2.41	20
	crosses on detached stem	3,900	70	1.79	10
	total number	7,800	164	2.10	30
1993	crosses on intact plants-glasshouse	3,600	152	4.22	42
	crosses on intact plants-field	3,600	62	1.72	12
	total number	7,200	214	2.97	54
1994	wheat x maize on intact plants-glasshouse	3,600	56	1.56	14
	wheat x teosinte on intact plants-glasshouse	3,600	158	4.39	39
	total number	7,200	214	2.97	53

With regard to the longer growing season of oat and its day-length response, synchronization of anthesis date of the control genotype Zlat'ák was important and 7 doubled haploid lines were obtained in 1992. Their consistence with the initial parental form is confirmed by electrophoresis according to the ISTA method (Fig. 4).

Further, when the maize line L 2001 was used, 28 lines were obtained, of which 18 were fertile; combination with CE 5289 resulted in obtaining 3 lines, however less fertile.

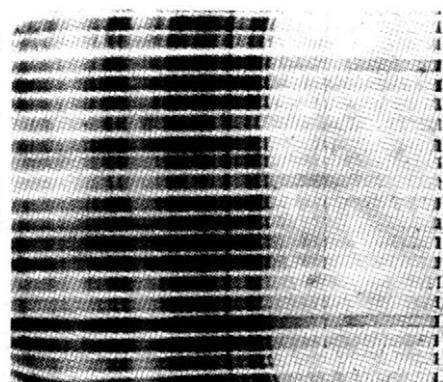
These first results correspond with findings reported by Rines et al. (1990) - 11.2% of lines and Rines, Dahleen (1990) - 0.42% of lines.

II. A survey of obtained haploid embryos and recovered oats plants in 1992-1994

	Year	No. of pollinated florets	Embryo		No. of recovered plants
			no.	%	
EDS method crosses on detached stem					
total number	1992	197	9	4.57	7
total number	1993	272	7	2.57	4
Oat x maize	1994	751	34	4.52	24
Oat x teosinte		180	0	0.0	0
EDS method on detache stem total number		931	34	3.65	24

CONCLUSIONS

Production of haploid plants using the method of wide crosses has confirmed its importance in obtaining initial pure lines with different morphological traits which can be utilized in the genetics and breeding process (Fig. 5). From the comparison of varies type of cultivation of the polinated wheat plants, the methods of crosses on the intact plants appear to be more



5. Electrophoresis of avenins in doubled haploid oat kernels after crossing the variety Zlaták with maize. Haploid lines do not differ from the control - non-crossed variety which is in the middle. Oat kernels were obtained in verigying possibilities of wide crosses with maize

effective than that by using of EDS. The production of the wheat haploid embryos harvested from glasshouse were higher than that from the field conditions. Teosinte used as a pollen component for the crossing has three time higher production of wheat embryos in relation to the maize. From the wide crossing of oats time teosinte none embryos were received.

Considering a number of factors influencing the method described it is necessary to adapt it to certain equipment and environmental effects.

References

- AMRANI, N. et al.: Genetic variability for haploid production in crosses between tetraploid and hexaploid wheats with maize. *Plant. Breed.*, 110, 1993: 123–128.
- BARCLAY, I. R.: High frequencies of haploid production in wheat (*Tr. aestivum*) by chromosome elimination. *Nature*, 256, 1975: 410–411.
- DOLEŽEL, J. – BINAROVÁ, P. – LUCRETTI, S.: Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. *Biol. Plant.*, 31, 1989: 113–120.
- DUNWELL, J. M. (1985): *Cereal and Tissue Cell Culture*. 1. ed. Dordrecht. In: SEMAN, X. et al.: *Biotechnologické metody v šlachtení polných plodín*. Bratislava, Príroda 1990, 371 s.
- LAURIE, D. A.: A simple method for wheat haploid from wheat x maize crosses. *Ann. Wheat Newsletter*, 37, 1991: 97.
- LAURIE, D. A. – BENNETT, M. D.: Wheat X maize hybridization. *Can. J. Genet. Cytol.*, 28, 1986: 313–316.
- LAURIE, D. A. – BENNETT, M. D.: The production of haploid wheat plants from wheat x maize crosses. *Theor. Appl. Genet.*, 76, 1988: 393–397.
- LAURIE, D. A. – BENNETT, M. D.: The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat x maize crosses. *Genome*, 32, 1989: 953–961.
- LAURIE, D. A. – REYMONDIE, S.: High frequencies of fertilization and haploid seedlings production in crosses between commercial hexaploid wheat varieties and maize. *Plant Breed.*, 106, 1991: 182–189.
- MACHÁŇ, F.: Možnosti zkrácení šlechtitelského procesu u ovsa s omezenou spotřebou energie. *Genet. a Šlecht.*, 19, 1983: 119–126.
- McDANIEL, M. E. et al.: Approach crossing of oats. *Crop Sci.*, 7, 1987: 538–540.
- MORGENSEN, H. L.: *Carlsberg Res. Comm.*, 47, 1982: 313.
- MURASHIGE, T. – SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 1962: 473–497.
- OHNOUTKOVÁ, L. – OHNOUTKA, Z.: *Genet a Šlecht.*, 24, 1988: 257.
- RINES, H. W.: Haploids from wide crosses. Abstract of Paper Presented at the American Oat Workers Conference, Jackson, Wyoming, Aug. 14.–17. 1990.
- RINES, H. W. – DAHLEEN, L. S.: Haploid Oat Plants Produced by Application of Maize Pollen to Emasculated Oat Florets. *Crop Sci.*, 30, 1990: 1073–1078.
- SMOČEK, J. et al.: Ear crossing on detached stem. *Scientia Agric. Bohemoslov.*, 14, 1982: 109–111.
- SNAPE, J. W. – CHAPMAN, V. – MOSS, J. – BLANCHARD, C. E. – MILLER, T. E. (1979): The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum*. *Heredity*, 1979: 291–298.
- USHIYAMA, T. et al.: High frequency of haploid production of wheat through intergeneric cross with teosinte. *Japan. J. Breed.*, 41, 1991: 353–357.

VAGERÁ, J. – OHNOUTKOVÁ, L.: Indukce androgeneze *in vitro* u pšenice a ječmene. Rostl. Výr., 39, 1993: 97–114.

Received October 26, 1994

Produkce haploidních rostlin pšeničných a ovesných donorů pomocí vzdáleného křížení pšenice x kukuřice a ova x kukuřice

Stabilizace a homogenizace genetických vlastností pšenice a ova použitím této metody je založena na vzdáleném křížení vybraných genetických zdrojů pšenice a ova s kukuřicí. Hlavním úkolem bylo ověřit metodu pro získání rostoucích embryí po vzdáleném křížení a otestování vhodných biotechnologických postupů *in vitro* kultivace s následnou dihaploidizací pomocí kolchicinu. Ve třech sériích vzdáleného křížení bylo získáno rozdílné množství embryí z opylených kvítků. Frekvence embryí se pohybovala od 0 do 48 %. Byla ověřena možnost získání embryí z křížení intaktních rostlin, z křížení na odštíženém stéble (EDS) a použití mateřských komponent získaných z pole ve srovnání s pěstováním ve skleníku. Extirpace a *in vitro* kultivace haploidních embryí, jejich cytogenetická kontrola, odpovídající dihaploidizace a dopěstování do zralosti ukázaly, že metoda je vhodná pro rychlé získávání geneticky homogenního materiálu. Bylo zjištěno, že úspěšné řešení a zvláště frekvence získání embryí závisí na přesném provádění prací a na použitých růstových médiích.

Triticum aestivum L.; *Avena sativa* L.; vzdálené křížení; haploidizace

Contact address:

Ing. František Macháň, CSc., Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s. r. o.,
Havlíčková 2787, 767 41 Kroměříž, Česká republika,
tel. 0634/426 172, fax: 0634/122 725

MONOSOMIC ANALYSIS OF LEAF RUST RESISTANCE IN THE SPRING WHEAT CULTIVAR SYLVA*

Jindřich KOŠNER, Pavel BARTOŠ

Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic

Abstract: Spring wheat cv. Sylva was selected from the cross Praga x Siete Cerros registered in former Czechoslovakia in the years 1982–1990. Because of its high specific resistance to stem and leaf rust and good yellow rust and powdery mildew resistance in the field it is a good source for resistance breeding. Its stem rust resistance has been analysed and described already earlier. Location of leaf rust resistance genes described in this paper was studied by monosomic analysis, using leaf rust race 61SaBa (isolate 628). All progenies in F₂ generation segregated at ratio 15 resistant: 1 susceptible, except progenies 1D, 5A, 4D and 6B. The first two had a higher proportion of resistant plants than expected, which indicates presence of resistance genes on chromosomes 1D and 5A. The last two had a lower proportion of resistant plants, caused probably by suppressors of resistance on chromosomes 4D and 6B. Resistance genes on chromosomes 1D and 5A seem to differ from those described by McIntosh (1988).

spring wheat; variety Sylva; wheat leaf rust; resistance genes; monosomic analysis

With the present trend to breed low input cultivars breeding for disease resistance is becoming more and more important. Genetically defined sources of resistance facilitate the breeding because information on resistance genes enables to apply most effective breeding procedures. The objective of our work was to locate leaf rust resistance in cv. Sylva as a possible source of resistance for future breeding.

MATERIAL AND METHODS

Cultivar Sylva was registered in Czechoslovakia in the years 1982–1990. It is a high yielding, medium early spring wheat with a medium to shorter stem and medium tillering capacity. It has a lower bread-making quality

* The research was carried out with financial support of Grant Agency of the Czech Republic within the frame of grant No. 506/93/0517.

stem and medium tillering capacity. It has a lower bread-making quality (B–C). The content of wet gluten is medium, the gluten swelling number is lower. Thousand kernel weight is medium high (40 grams on the average). It originates from the cross Praga × Siete Cerros. It has been resistant to all stem rust races found in former Czechoslovakia. Only a part of plants of this cultivar was susceptible to a race overcoming the stem rust resistance gene *Sr11* (Bartoš et al., 1991; Košner, Bartoš, 1987). Cv. Sylva is also usually resistant to yellow rust and powdery mildew in the field. It is also resistant to the most widespread leaf rust races, however, virulent leaf rust isolates can be sporadically found.

For the location of leaf rust resistance, standard monosomic analysis using monosomic series of the cv. Zlatka was applied. Seed used to raise plants for monosomic analysis originated from the State Institute for Agricultural Supervision and Testing. Twenty progenies in F_2 generation of Zlatka (monosomic) × Sylva and one of Zlatka (disomic) × Sylva were tested in the greenhouse at the seedling stage. Greenhouse temperature varied between 18 and 22 °C. Additional illumination with fluorescent tubes for 18 hours per day was used. Inoculation was carried out by rubbing the wetted first leaf of each plant with urediospores of leaf rust race 61SaBa (isolate 628). Inoculated plants were sprayed with water and kept under glass cylinders for 48 hours. Infection types were classified after Stakman et al. (1962).

RESULTS

In the segregating F_2 generation plants showing infection types 3 or 4 were classified as susceptible, whereas plants with lower infection types as resistant. Segregation of the progenies in F_2 generation and the corresponding χ^2 values are given in Table I.

When data of all progenies were summarised, the frequency of resistant plants was 93.34%, of susceptible plants 6.66%. Progeny of the cross with disomic showed 92.49% resistant and 7.51% susceptible plants. For the segregation of two dominant genes (15R : 1S) – 93.8% resistant and 6.2% susceptible plants are expected. When the segregation of single progenies was evaluated obtained data confirmed the segregation 15R : 1S in all progenies except 1D and 5A with a higher number of resistant plants than expected, and 4B and 6B with a lower number of resistant plants than expected. These results show that two independent dominant genes located on chromosomes

I. Segregation of F₂ generation progenies of monosomic from the crosses mono-Zlatka x Sylva after inoculation with leaf rust race 61SaBa

Line	Resistant plants		Susceptible plants		Total	χ^2
	number	%	number	%		15 : 1
1A	142	94.04	9	5.96	151	0.022
1B	194	95.10	10	4.90	204	0.633
1D	217	96.44	8	3.56	225	2.788*
2A	136	93.15	10	6.85	146	0.089
2B	252	92.65	20	7.35	272	0.565
2D	113	93.39	8	6.61	121	0.027
3A	153	93.29	11	6.71	164	0.059
3B	143	95.97	6	4.03	149	1.257
3D	97	93.27	7	6.73	104	0.041
4A	141	92.16	12	7.84	153	0.663
4B	114	92.68	9	7.32	123	0.239
4D	125	88.65	16	11.35	141	6.253**
5A	132	98.15	2	1.49	134	5.176**
5B	109	94.78	6	5.22	115	0.209
5D	222	93.67	15	6.33	237	0.003
6A	267	93.68	18	6.32	285	0.002
6B	88	87.13	13	12.87	101	7.557***
6D	124	91.85	11	8.15	135	0.830
7B	137	91.95	12	8.05	149	0.827
7D	145	92.36	12	7.64	157	0.520
Disomic	160	92.49	13	7.51	173	0.472
Σ	2649	93.34	189	6.66	2838	0.813

* $P = 0.90-0.95$ ** $P = 0.95-0.99$ *** $P > 0.99$ χ^2 homogeneity test (total) = 25.647** ($f = 20$) χ^2 homogeneity test (total - 1D, 4D, 5A, 6B) = 5.089 ($f = 16$)

1D and 5A condition resistance of the cv. Sylva to leaf rust. Genes having negative effect on resistance (suppressors) are located on chromosomes 4D and 6B. These conclusions were also confirmed by a χ^2 test of homogeneity. When all segregating lines were tested χ^2 value of this test was 25.65 ($f = 20$). This shows that certain progenies do not belong to the analysed set. When 1D, 5A, 4D and 6B progenies were excluded the value of χ^2 test of homogeneity decreased to 5.09 ($f = 16$). From the analysis of the results it can be concluded that rust resistance of cv. Sylva to race 61SaBa (isolate 628) is governed by two independent dominant genes located on chromosomes 1D and 5A.

DISCUSSION

Results of the monosomic analysis confirmed the data on the presence of two leaf rust resistance genes in cv. Sylva obtained by classical genetic analysis (Bartoš et al., 1991). Reactions to several leaf rust races showed that none of the following resistance genes – *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr11*, *Lr26* – can be involved in the resistance (Bartoš et al., 1991). None of the above genes is located on 1D or 5A chromosome. On chromosome 1D gene *Lr21* has been described whereas none of genes listed by McIntosh (1988) has been located on chromosome 5A. Gene *Lr21* was derived from *Aegilops squarrosa* and therefore its presence in cv. Sylva is not probable. Moreover gene *Lr21* was not effective to the leaf rust isolate used in our trials (Bartoš et al., 1992). Therefore genes for leaf rust resistance located by monosomic analysis described in the paper seem to be different from those listed with indication of chromosomal location by McIntosh (1988). They are very probably derived from the cultivar Siete Cerros, one of the parents of cv. Sylva. As cv. Sylva is resistant to the most important races found in the Czech Republic and virulent isolates were found only sporadically, leaf rust resistance genes of this cultivar can be used with success in resistance breeding, particularly in combination with other resistance genes. For this breeding chromosome location of both leaf rust resistance genes in Sylva offers a useful information.

References

- BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R.: Genetika rezistence ke rzi travní a pšeničné pšenice jarní odrůdy Sylva. Genet. a Šlecht., 27, 1991: 169–176.
- BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R.: Fyziologická specializace rzi pšeničné [*Puccinia persistens* Plow. var. *tritricina* (Eriks.) Urban et Marková] v Československu v letech 1987 až 1990. Genet. a Šlecht., 28, 1992: 103–119.
- KOŠNER, J. – BARTOŠ, P.: Monosomic analysis of resistance to stem rust race 11 in the spring wheat cultivar Sylva. Cereal Rusts Bull., 15, 1987: 10–11.
- McINTOSH, R. A.: Catalogue of gene symbols for wheat. Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge, 1988: 1225–1323.
- 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.

Received February 1, 1995

Monosomická analýza rezistence ke rzi pšeničné v odrůdě pšenice jarní Sylva

Odrůda pšenice jarní Sylva, vyšlechtěná z křížení Praga x Siete Cerros, byla v bývalém Československu povolena v letech 1982 až 1990. Je vysoce odolná ke rzi travní a rzi pšeničné a vyznačuje se zpravidla i dobrou odolností ke rzi plevové a padlí v polních podmínkách. Vzhledem k těmto vlastnostem je vhodným zdrojem rezistence ve šlechtění a pro tento účel je významná analýza genů rezistence. Analýza genů rezistence ke rzi travní byla uskutečněna již dříve (Košner, Bartoš, 1987; Bartoš et al., 1991). Lokalizace genů rezistence ke rzi pšeničné je předmětem tohoto příspěvku. Lokalizace byla založena na monosomické analýze s využitím monosomické série odrůdy Zlatka. Potomstva křížení v F_2 generaci 20 monosomických linií Zlatka-mono x Sylva a křížení Zlatka (disomik) x Sylva byla testována ve skleníku při teplotě 18–20 °C ve fázi 1. listu. Rostliny jsme inokulovali rasou 61SaBa (izolát 628). Všechna potomstva štěpila ve štěpném poměru 15 odolných : 1 náchylná, svědčícím o přítomnosti dvou genů rezistence, vyjma potomstev z křížení s monosomickými liniemi 1D a 5A s vyšším podílem rezistentních rostlin a 4D a 6B s nižším podílem rezistentních rostlin než bylo očekáváno. Geny rezistence ke rzi pšeničné v odrůdě Sylva jsou tedy lokalizovány na chromozomech 1D a 5A. Nejsou

totožné s žádnými popsánymi geny rezistence, jejichž lokalizaci uvedl McIntosh (1988). Na chromozomech 4D a 6B se pravděpodobně nacházejí supresory rezistence.

pšenice jarní; odrůda Sylva; rez pšeničná; geny rezistence; monosomická analýza

Contact address:

Ing. Jindřich Košner, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 00 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/365 229

GENETICKÝ ZÁKLAD REZISTENCE ODRŮD PŠENICE JARNÍ
JARA, LINDA, MAJA, SANDRA A SAXANA KE RZI TRAVNÍ
A RZI PŠENIČNÉ

Genetics of Stem and Leaf Rust Resistance of Spring Wheat Cultivars
Jara, Linda, Maja, Sandra and Saxana

Pavel BARTOŠ, Eva STUHLÍKOVÁ, Renata HANUŠOVÁ

Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic

Abstract: Reactions of Czech registered spring wheats Jara, Sandra, Saxana, Linda and Maja to five stem rust races and six leaf rust races were compared mutually and with cultivars Zdar and Rena. Cultivar **Jara** has identical reactions with the winter wheat Zdar, resistance gene of which was preliminarily designated as *SrZdar*. It is effective only to a less common stem rust race 14. Cultivars **Saxana** and **Linda** displayed the identical reaction pattern to the stem rust. Segregation of F₂ population of the cross Saxana x Jara and Saxana x Zdar after inoculation with races 34 and 14 indicates that stem rust resistance of the cultivar Saxana is governed by one gene. Judging from reactions and resistance genes of parental cultivars (Nadadores 63 possesses *Sr11* and *yISr17*, Siete Cerros *Sr6* and *Sr11*, Mironovská *SrTmp*) gene *Sr17* or *Sr6* may be responsible for resistance. Cultivar **Sandra** has similar reactions as cultivars Saxana and Linda to three stem rust races but lower resistance to two stem rust races. Cultivars Sandra, Saxana and Linda have one parental cultivar, Rena, in common. Stem rust resistance of Rena is derived from Nadadores 63 (*Sr11*, *Sr17*). Judging from rust reactions gene *Sr17* may govern the resistance of Sandra. The above mentioned reactions and some differences between reactions of Saxana and Linda on the one hand and Sandra on the other hand can indicate that either all varieties have a gene in common (probably *Sr17*), the reactions of which are modified in the cultivar Sandra, or that Saxana and Linda possess another stem rust resistance gene (probably *Sr6*). Cultivar **Maja** was resistant to all five stem rust races. Populations of F₂ generation of the crosses Maja x Jara (*SrZdar*) and Maja x Iris (*Sr11*, *Sr31*) did not segregate after inoculation with stem rust race 14. This indicates that Maja has probably the gene *SrZdar* (first cross) as well as gene *Sr11* (second cross). Presence of *Sr11* was confirmed by inoculation with a stem rust isolate showing typical 2-3 reaction on *Sr11*. Reactions on a near isogenic line possessing *Sr11* was identical with that on Maja. Of the studied cultivars, only Sandra

and Maja were resistant to several leaf rust races. Leaf rust resistance of Maja was governed by one dominant gene. According to leaf rust reactions, Sandra has leaf rust resistance gene(s) different from the resistance gene of Maja.

stem rust; leaf rust; resistance; spring wheats registered in Czech Republic

Abstrakt: Byly srovnávány reakce českých povolených odrůd jarní pšenice Jara, Sandra, Saxana, Linda a Maja k pěti rasám rzi travní a šesti rasám rzi pšeničné vzájemně a s odrůdami Zdar (pšenice ozimá) a Rena. Odrůda **Jara** měla shodné reakce ke rzi travní s odrůdou Zdar, jejíž gen předběžně označený symbolem *SrZdar* je účinný jen k méně rozšířené rase 14. Odrůdy **Saxana** a **Linda** měly vzájemně shodné reakce k rasám rzi travní. Štěpení v F_2 generaci křížení odrůdy Saxana s odrůdami Jara a Zdar po inokulaci rasami 34 a 14 ukázalo, že rezistenci odrůdy Saxana řídí jeden gen. Podle reakcí genů rezistence rodičovských odrůd může jít o gen *Sr17* nebo *Sr6*. Odrůda **Sandra** má podobné reakce ke rzi travní jako odrůdy Saxana a Linda ke třem rasám, avšak nižší rezistenci k dvěma rasám. Tento rozdíl může být způsoben geny-modifikátory, ale i rozdílným major genem rezistence. Podle rodičovských odrůd a reakcí může rezistenci řídit gen *Sr17*. Odrůda **Maja** byla rezistentní ke všem pěti rasám rzi travní. Populace F_2 generace křížení Maja x Jara ani Maja x Iris po inokulaci rasou 14 neštěpily. To ukazuje u odrůdy Maja na pravděpodobnou přítomnost dvou genů, genu *SrZdar* (první křížení) a genu *Sr11* (druhé křížení). Přítomnosti genu *Sr11* nasvědčovaly i intermediární reakce, charakteristické pro použitý izolát a gen *Sr11*. Ze studovaných odrůd jsou k některým rasám rzi pšeničné odolné jen Sandra a Maja. Rezistenci odrůdy Maja řídil jeden dominantní gen. Odrůda Sandra má podle reakcí odlišný genetický základ rezistence ke rzi pšeničné.

rez travní; rez pšeničná; odolnost; pšenice jarní povolené v ČR

Jarní pšenice vzhledem k pozdějšímu dozrávání mohou značně trpět napadením rzi travní a rzi pšeničnou. Znalost rezistence povolených odrůd jarní pšenice k těmto rzím je výhodná pro volbu odrůdy pro oblasti ohrožované těmito rzemi. Údaje o genetickém základu rezistence jsou významné také pro šlechtitele, poněvadž umožňují racionální výběr genů rezistence pro další šlechtění. Vzhledem k stále častějšímu využívání jarních pšenic i ve šlechtění ozimých pšenic mají údaje o genech rezistence ke rzi pšeničné a rzi travní v povolených odrůdách jarní pšenice význam nejen pro šlechtění jarních pšenic, ale i pro šlechtění hospodářsky významnější pšenice ozimé.

MATERIÁL A METODY

Osivo použité k pokusům pocházelo ze SKZÚZ Sedlec, rasy rzi z rasových analýz, které se každoročně prováděly 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 *Sr* a *Lr* geny povolených odrůd pšenice jarní – Year of registration, pedigree and *Sr* and *Lr* genes of registered spring wheat cultivars

Odrůda ¹	Rok povolení ²	Původ ³	Geny rezistence ⁴	
			<i>Sr</i>	<i>Lr</i>
Jara	1975	Peko x Uhřetická 400 (Heines Koga x Kaštická 63)	Zdar	–
Sandra	1984	Rena x ST 44-74	Sandra	Sandra
Saxana	1990	Rena x ST 802-74 (Mironov. 808 x Siete Cerros)	Saxana	–
Linda	1992	Rena x ST 80-74 (Mironov. 808 x Siete Cerros)	Saxana	–
Maja	1990	Jara x UH 205 (Nadadores 63 x Kolibri)	11, Zdar	Maja

¹cultivar; ²year of registration; ³pedigree; ⁴resistance genes (preliminary designation)

Testy probíhaly ve skleníku při teplotách 17–22 °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 48 hodin. Napadení jsme hodnotili infekčními typy, které popsali St a k m a n et al. (1962).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jara

Z tab. II je patrné, že odrůda Jara je náchylná ke všem našim nejvýznamnějším rasám rzi pšeničné. Z ras rzi travní ji nenapadá pouze rasa 14. Jenom k této rase jsou z odrůd pěstovaných v České republice odolné také odrůdy Zdar a Simona. Shoda reakcí odrůdy Jara s odrůdou Zdar k souboru ras rzi travní vede k domněnce, že odrůda Jara má stejný gen rezistence ke rzi travní jako odrůda Zdar, předběžně označený *SrZdar*.

Sandra

Odrůda Sandra se vyznačuje střední odolností k nejvýznamnějším rasám rzi travní i rzi pšeničné (tab. II). Její odolnost ke rzi travní pochází pravděpodobně od rodičovské odrůdy Rena (tab. II), která má ve svém původu odolnou mexickou odrůdu Nadadores 63. U ní byly popsány geny *Sr11* a *Sr17*. Reakce řízená genem *Sr11* se vyznačuje chlorózami a jen ojedinělými kupkami, což neodpovídá reakcím odrůdy Sandra. Gen *Sr17* řídil vyšší rezistenci ve vzorku Combination VII, než byla zjištěna u odrůdy Sandra (L u i g, 1983), což se však připisuje genu *Sr13*, rovněž přítomnému v uvedeném vzorku. Ve vzorku LCSr17KH, popsali Roelfs a McVey (1979) reakce X – N, tedy podobné odrůdě Sandra. Odolnost ke rzi pšeničné je vyšší než u odrůdy Rena, takže se na ní podílí pravděpodobně druhý rodič, totiž kmen ST 44-74.

II. Reakce ke rzi travní a rzi pšeničné – Reaction fo stem and leaf rust of wheat

Odrů- da ¹	Rez travní ²					Rez pšeničná ³					
	102 G964	14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	53SaBa 2049	14Sa- Ba 600	61 1887	61Sa- Ba 628	77 243	77SaBa 1947
Jara	3	;1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Sandra	3	2-3	;1-2+	;1-2+	2-3	2-3	2-3	3	;1	;1;	
Saxana	3	;1-2+	;1-2+	;1-2+	1-2+	3	3	3	3	3	3
Linda	3	1-2	1-2+	1-2	1-2+	3	3	3	3	3	3
Maja	;1	;1	0;	0;	0;	;	;	;	;1	3	3
Rena	–	1-2	1-2	–	2-3	–	3	–	2-3	3-	–

¹cultivar; ²stem rust; ³leaf rust

Saxana

Odrůda Saxana je odolná k většině ras rzi travní a má podobné reakce jako odrůda Sandra. Vzhledem k tomu, že odrůda Saxana má ve svém původu také odrůdu Rena (tab. I), je možný stejný genetický základ rezistence ke rzi travní. Poněkud vyšší rezistence odrůdy Saxana k rasám 14 a 11 než ukazovala odrůda Sandra může být ovlivněna odlišným genetickým pozadím – geny modifikátory. Odrůda Rena měla k rase 14 shodnou reakci s odrůdou

III. Štěpení reakcí ke rzi travní a rzi pšeničné v F₂ generaci kříženců – Segregation of reactions to stem and leaf rust of wheat in F₂ generation of crosses

Křížení ¹	Rez ²	Rasa/izolát ³	Počet rostlin ⁴			Předpokládané štěpení ⁸	χ^2	P
			celkem ⁵	odolných ⁶	náchylných ⁷			
<u>Saxana</u> x <u>Jara</u>	<i>P. gr.</i>	34/G334	185	140	45	3 : 1	0,04	0,95–0,8
<u>Saxana</u> x <u>Zdar</u>	<i>P. gr.</i>	34/G334	208	54	154	1 : 3	0,1	0,8–0,5
<u>Saxana</u> x <u>Zdar</u>	<i>P. gr.</i>	14/G530	181	172	9	15 : 1	0,5	0,5–0,2
<u>Maja</u> x <u>Jara</u>	<i>P. gr.</i>	14/G530	176	176	0	–	–	–
<u>Maja</u> x <u>Iris</u>	<i>P. gr.</i>	14/G530	187	187	0	–	–	–
<u>Maja</u> x <u>Iris</u>	<i>P. gr.</i>	34/G2219	266	188	78*	3 : 1	1,65	0,2–0,05
<u>Maja</u> x <u>Jara</u>	<i>P. rec.</i>	14SaBa(600)	155	111	44	3 : 1	0,95	0,5–0,2
	<i>P. rec.</i>	61SaBa(628)	148	116	32	3 : 1	0,9	0,5–0,2
<u>Maja</u> x <u>Iris</u>	<i>P. rec.</i>	14SaBa(600)	215	157	58	3 : 1	0,42	0,8–0,5
	<i>P. rec.</i>	61SaBa(628)	209	163	46	3 : 1	0,99	0,5–0,2

* intermediární reakce – intermediate reaction

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 persistent* Plow. var. *tritricina* (Eriks.) Urban et Marková (*P. recondita*) = rez pšeničná – leaf rust

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

Saxana, lišila se poněkud vyšším infekčním typem k rase 11, avšak shodným s odrůdou Sandra. Menší odchylky v reakcích by však mohly být způsobeny i dalšími geny rezistence z druhého rodiče, křížence odrůd Mironovská 808 (*SrTmp*) a Siete Cerros (*Sr11*, *Sr6*). Gen *SrTmp* má nižší účinnost k rasám 34 a 11, gen *Sr11* naopak vyšší účinnost k rasám 14 a 21. Přítomnost genu *Sr6* nelze podle reakcí vyloučit. Rezistenci odrůdy Saxana k rase 34 (G334) rzi travní řídí jeden gen (tab. III), který byl v kombinaci Saxana x Zdar recesivní. V téže křížení se však jevil jako dominantní k rase 14 (G530). Štěpení 15 : 1 v tomto křížení je výsledkem účinku jednoho genu rezistence k rase 14 v odrůdě Saxana a jednoho v odrůdě Zdar (*SrZdar*). Je možné, že v odrůdě Saxana jde o gen *Sr17*. McIntosh (1988) uvádí, že gen *Sr17* je recesivní. Recesivitu jsme však prokázali jen v jednom případě. Ke rzi pšeničné je odrůda Saxana na rozdíl od odrůdy Sandra náchylná.

Linda

Odrůda Linda má stejné reakce ke rzi travní jako odrůda Saxana a je rovněž náchylná ke rzi pšeničné. Ve svém původu má také odrůdu Rena (tab. I). Druhý rodič je kmen ST 80-74, pocházející z křížení Mironovská 808 x Siete Cerros. Má stejný původ jako kmen ST 802-74, který je jedním z rodičů odrůdy Saxana. Na základě shodných reakcí i stejného původu s odrůdou Saxana je možné tedy předpokládat, že odrůda Linda má stejný genetický základ rezistence ke rzi travní jako odrůda Saxana.

Maja

Odrůda Maja je vysoce odolná k nejrozšířenějším rasám rzi travní a rzi pšeničné, vyjma rasy 77 a 77SaBa rzi pšeničné. Její odolnost ke rzi travní je odvozena od rodičovského kmene UH 205, který pochází z křížení Nadadores 63 x Kolibri a jeden gen rezistence pochází i od odrůdy Jara. To ukazuje křížení Maja x Jara (tab. III), v němž v F₂ generaci po inokulaci rasou 14 (G530) rzi travní nevyštěpila žádná náchylná rostlina. Ani v F₂ generaci křížení Maja x Iris po inokulaci stejnou rasou se nevyskytly náchylné rostliny. Má tedy odrůda Maja alespoň jeden stejný gen jako odrůda Iris. U odrůdy Iris byly stanoveny geny *Sr31* a *Sr11*. K zjištění, o který z obou genů se jedná, byla odrůda Maja inokulována rasou rzi travní avirulentní ke genu *Sr31*, středně virulentní ke genu *Sr11* a virulentní ke genu *SrZdar*. Tato rasa vyvolala infekční typ 2–3, což podporuje domněnku o přítomnosti genu

Sr11 v odrůdě Iris. Kdyby byl přítomen i gen *Sr31*, zůstala by odrůda Maja odolná. V F₂ generaci křížení Maja x Iris (tab. III) bylo zjištěno po inokulaci stejnou rasou štěpení 3 (IT;1) : 1 (IT 2-3). Nízké *P* (0,2–0,05) je způsobeno nadbytkem rostlin s IT 2-3. Infekční typ ;1 je charakteristický pro gen *Sr31*, infekční typ 2-3 pro reakci genu *Sr11* po inokulaci použitou středně virulentní rasou (izolát G2219). Tento výsledek rovněž podporuje domněnku, že odrůda Maja má gen *Sr11*. Gen *Sr11* byl popsán i v odrůdě Nadadores 63 (Luig, 1983), jednoho z rodičů odrůdy Maja.

Odolnost k rasám 14SaBa (600) i 61SaBa (628) rzi pšeničné řídí jeden dominantní gen, jak prokázalo štěpení F₂ generace kříženců Maja x Iris a Maja x Jara (tab. III). Tento gen pochází z kmene UH 205. Z genů rezistence testovacího sortimentu podle reakcí mohlo jít o gen *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*; není však vyloučena ani přítomnost genu nezastoupeného v testovacím sortimentu. V odrůdě Nadadores 63 byla popsána rezistence ke rzi pšeničné (Martynov et al., 1992) bez označení genu.

Uvedené výsledky shrnuté v tab. I ukazují, že všechny povolené odrůdy mají alespoň jeden gen rezistence ke rzi travní. Zatímco gen rezistence ke rzi travní v odrůdě Jara, označený předběžně jako *SrZdar*, je účinný jen k málo významné rase 14, gen rezistence ke rzi travní v odrůdách Sandra, Saxana a Linda je středně účinný k hlavním rasám této rzi. Může jít o gen *Sr17*, u odrůd Saxana a Linda nelze vyloučit gen *Sr6*. Vysoce účinný k hlavním rasám rzi travní je gen *Sr11* v odrůdě Maja. Tato odrůda má kromě genu *Sr11* též gen *SrZdar*, který je však z praktického hlediska málo významný.

Ke rzi pšeničné mají odolnost k několika rasám jen odrůdy Sandra a Maja. Odlišné spektrum reakcí k rasám této rzi ukazuje, že mají různé geny rezistence k této rzi.

L i t e r a t u r a

- LUIG, N. H.: A survey of virulence genes in wheat stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Advances in Plant Breeding. 11. Berlin – Hamburg, Paul Parey 1983: 199 s.
- MARTYNOV, S. P. – DOBROTVORSKAYA, T. V. – STEHNO, Z. – DOTLAČIL, L. – FABEROVÁ, I. – HOLUBEC, V.: Catalogue. Genealogies and gene alleles identified in 31 000 cultivars and lines of wheat. Information and Computation Centre [Tver, Russia] – Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Czechoslovakia, 1992.

McINTOSH, R. A.: Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proc. 7th Intern. Wheat Genetics Symp. Cambridge, 1988: 1225–1323.

ROELFS, A. P. – McVEY, D. V.: Low infection types produced by *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* and wheat lines with designated genes for resistance. *Phytopathology*, 62, 1979: 722–730.

STAKMAN, E. C. – STEWART, D. M. – LOEGERING, W. C.: Identification of physiological races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. U.S. Dep. Agr. ARS Bull., E617, 1962.

Došlo 29. 7. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Bartoš, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/325 229

DETEKCE GENŮ ZAKRSLOSTI U TŘÍ ČESKÝCH ODRŮD PŠENICE JARNÍ

Identification of *Rht* Genes in the three Czech Spring Wheat Varieties

Václav ŠÍP, Miroslav ŠKORPÍK, Jana CHRPOVÁ

Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic

Abstract: Among the five registered spring wheat varieties, the varieties Linda, Sandra and Saxana showed insensitivity to applied gibberellic acid (GA), indicating the presence of dwarfing genes. After crossing with the tester varieties Siete Cerros (*Rht 1* gene), Avalon (*Rht 2* gene), event. Maringá – near isogenic line for *Rht 1+2*, the GA response was classified in F₂ hybrid generation (Table I). The tests showed that the GA insensitive varieties Linda, Sandra and Saxana carry *Rht 1* gene. The presence of *Rht 2* gene in the varieties Linda and Saxana was eliminated owing to segregation in the 1 : 15 ratio, with the dominance for insensitivity. In the populations segregating for *Rht* genes variance in the length of above-ground plant part to the tip of second leaf lamina was significantly higher, which implies that dominance for insensitivity was partial (also in the cross Sandra/Maringá, *Rht 1+2*). The presence of *Rht 1* gene in the tested varieties can also be deduced from pedigree studies (Fig. 1 and 2). The likely donor of *Rht 1* gene to the varieties Linda and Saxana (Rena/ST 802-74) is the variety Siete Cerros, a parent of the line ST 802-74. In the variety Sandra (Rena/ST 44-74) the gene *Rht 1* comes with a high probability from the variety Nadadores 63 via the line ST 44-74.

spring wheat varieties; GA response; *Rht* genes; genetic analysis; pedigree studies

Abstrakt: V sortimentu pěti povolených odrůd pšenice jarní byla přítomnost genu zakrslosti a necitlivosti na aplikovaný giberelin zjištěna u odrůd Linda, Sandra a Saxana. Po křížení těchto odrůd s nositeli genu *Rht 1* (Siete Cerros) a *Rht 2* (Avalon), případně *Rht 1+2* (téměř izogenní linie Maringá 1+2) byla zjišťována reakce na aplikovaný giberelin v F₂ hybridní generaci. Hybridologická analýza ukázala přítomnost genu *Rht 1* u všech tří zkoušených odrůd (Linda, Sandra i Saxana). Přítomnost genu *Rht 2* u odrůd Linda a Saxana byla vyloučena na základě štěpení v poměru 1 : 15 s dominancí pro necitlivost. Ve štěpících populacích

rostlin byl rozptýl v délce nadzemní části ke konci čepele druhého listu významně vyšší, což potvrzuje zjištění, že dominance pro necitlivost není úplná (podobně i u křížence Sandra/Maringá, *Rht 1+2*). Přítomnost genu *Rht 1* podporují i analýzy rodokmenů. U odrůd Linda a Saxana (Rena/ST 802-74) je zjevně donorem genu *Rht 1* odrůda Siete Cerros, tj. rodičovská odrůda linie ST 802-74. U odrůdy Sandra (Rena/ST 44-74) pochází gen *Rht 1* zřejmě z odrůdy Nadadores 63, rodičovské komponenty linie ST 44-74.

pšenice jarní; reakce na GA; geny *Rht*; hybridologická analýza; rodokmeny

Významný pokrok ve šlechtění pšenice souvisí mimo jiné s introdukcí genů zakrslosti. Tyto geny umožňují zkrácení stébla většinou bez poklesu produktivity klasů a porostu, současně se zvyšuje odolnost k poléhání.

V komerčních odrůdách se vyskytují především geny *Rht 1*, *Rht 2*, *Rht 1S* a *Rht 8*. Přítomnost genů *Rht 1*, *Rht 2* a *Rht 1S* lze prokázat na základě necitlivosti na aplikovaný giberelin (GA₃).

Škorpík et al. (1990) a Yamada (1990) uvádějí následující procentní zastoupení genotypů necitlivých na GA₃:

střední Evropa	19,2 %
západní Evropa	37,5 %
východní Evropa	22,2 %
jihovýchodní Evropa	51,4 %
Velká Británie	58,1 %
USA	59,4 %
Mexiko	88,9 %
Japonsko (Norin)	77,4 %

Geny *Rht 1*, *Rht 2* a *Rht 1S* mají velký význam ve šlechtění pšenice na celém světě. Gen *Rht 1* se uplatňuje též ve šlechtění tvrdé pšenice a tritikale. Ve Velké Británii je četnější výskyt genu *Rht 2* a v Austrálii genu *Rht 1* (Bobková et al., 1988). Významným zdrojem genů zakrslosti (zvláště *Rht 1*) pro naše šlechtění jarní pšenice byly odrůdy vyšlechtěné v CIMMYT Mexiko.

Podle katalogu, který sestavili Martynov et al. (1992), byl sestaven přehled počtu genotypů s jednotlivými geny *Rht 1*, *2*, *1S* a *1+2* v různých oblastech:

Geny	<i>Rht 2</i>	<i>Rht 1</i>	<i>Rht 1S</i>	<i>Rht 1+2</i>
Střední Evropa	2	8	–	–
Jihovýchodní Evropa	2	8	19	10
Velká Británie	14	4	–	–
Mexiko	147	96	1	11
USA	14	7	0	6
Japonsko	114	72	0	3

Zdá se, že převládá v celosvětovém měřítku gen *Rht 2*, nikoliv však ve střední a jihovýchodní Evropě.

Gen *Rht 1S* z odrůdy Saitama 27 se vyskytuje především u italských a jugoslávských pšeníc, zvláště těch, které byly vyšlechtěny v Záhřebu. Gen *Rht 1S* byl z italské odrůdy Produttore introdukován do šlechtitelských programů v Martonvásáru (Maďarsko). Dále je tento gen zastoupen v polské odrůdě Alfa a v rumunské odrůdě Transilvania (Worland, 1986).

Podle katalogu (Martynov et al., 1992) je zastoupení jednotlivých detekovaných genů zakrslosti v jarních a ozimých odrůdách pšenice následující:

	<i>Rht 1</i>	<i>Rht 2</i>	<i>Rht 1S</i>
Jarní odrůdy	240	239	16
Ozimé odrůdy	58	82	23

Naše pracoviště si dalo za cíl otestovat odrůdy pšenice ze současného sortimentu na citlivost ke giberelinu (GA₃) a vybrané odrůdy na přítomnost genů *Rht 1* a *Rht 2* hybridologickou cestou.

MATERIÁL A METODY

Odrůdy pšenice jarní Linda a Saxana byly kříženy s odrůdami Siete Cerros (nositel genu *Rht 1*) a Avalon (*Rht 2*). Odrůda Sandra byla křížena s odrůdou Siete Cerros (*Rht 1*) a Maringá (*Rht 1+2*).

V hybridní generaci F₂ a u rodičovských odrůd byl aplikován giberelin (podle metodiky, kterou popsali Šíp et al., 1986, Škorpík et al., 1991) a byla vyhodnocena reakce na aplikovaný giberelin. U kříženců a u rodičovských odrůd byla v době, kdy rostliny měly dva listy, změřena délka nadzemní části rostlin ke konci čepele druhého listu a z jednotlivých údajů byl

vypočten průměr a rozptyl. Pro hodnocení významnosti rozdílu mezi dvěma rozptyly byl použit F test. Štěpný poměr byl u kříženců ověřen pomocí χ^2 testu.

V průběhu let, kdy jsou ve VÚRV prováděny giberelinové testy, byl zkoušen sortiment povolených odrůd. Výsledky jsou zde uvedeny.

Údaje o přítomnosti genů *Rht* jsou uvedeny podle katalogů, které sestavili Škorpík et al. (1991) a Marty nov et al. (1992). U odrůd, které nejsou označeny symbolem příslušného *Rht* genu, chybí literární evidence o přítomnosti *Rht* genu nebo byla prokázána citlivost na aplikovaný giberelin (např. odrůda Rena). Linie ST 802-74 a ST 44-74 byly na aplikovaný giberelin necitlivé.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z pěti odrůd pšenice jarní zapsaných v Listině povolených odrůd (1994) jsou na aplikovaný giberelin necitlivé odrůdy Linda, Sandra a Saxana.

Z tab. I je zřejmé, že u křížence Linda/Siete Cerros se vyskytovaly pouze rostliny necitlivé na GA_3 . U křížence Linda/Avalon došlo ke štěpení na rostliny necitlivé na GA_3 (93) a citlivé na GA_3 (6), což odpovídá štěpnému poměru 15 : 1 ($\chi^2 = 0,00688 < \chi^2_{0,95}(1) = 3,84$).

U křížence Saxana/Siete Cerros byly všechny rostliny necitlivé k GA_3 . U křížence Saxana/Avalon bylo detekováno 94 rostlin necitlivých k GA_3 a šest rostlin citlivých k GA_3 . Tento poměr odpovídá opět štěpnému poměru 15 : 1 ($\chi^2 = 0,0218 < \chi^2_{0,95}(1) = 3,84$).

Rozptyl v délce nadzemní části ke konci čepele druhého listu byl vždy statisticky významně vyšší u štěpících kříženců (Linda/Avalon, Saxana/Avalon) než u kříženců neštěpících (Linda/Siete Cerros, Saxana/Siete Cerros) a u rodičovských odrůd. Vyšší variabilita ve vzrůstu rostlin je evidentně způsobena segregací při neúplnosti dominance (Šíp, Škorpík, 1993a). Gale a Law (1976) označili dominanci alel pro insensitivitu na GA_3 jako neúplnou (z odrůdy Norin 10).

Pouze rostliny necitlivé na GA_3 se vyskytovaly též u křížence Sandra/Siete Cerros a rozptyl v délce rostlin se nelišil od rodičovských odrůd, což ukazuje na přítomnost genu *Rht 1*. Přítomnost kombinace genů *Rht 1+2* lze vyloučit na základě testovacího křížení s linií Maringá *Rht 1+2*, proti níž je rozptyl u křížence Sandra/Maringá 1+2 významně vyšší ($7,29/2,89 = 2,52 > F_{0,05} = 1,67$), jakož i proti druhé rodičovské odrůdě Sandra

I. Typ reakce na GA₃, průměr (\bar{x}) a rozptyl (s^2) v délce nadzemní části ke konci čepele druhého listu v (cm) u rostlin kříženců F₂ a u rodičovských odrůd pšenice jarní – Classification of GA₃ response, mean values (\bar{x}) and variances (s^2) in the above-ground plant part to the tip of second leaf lamina (cm) of F₂ generation crosses and parental varieties of spring wheat

Kříženec – rodičovská odrůda ¹	I+S		I			S		
	\bar{x}	s^2	\bar{x}	s^2	n	\bar{x}	s^2	n
Linda/Siete Cerros	–	–	13,4	2,72	99	–	–	–
Linda/Avalon	16,3	16,20	15,6	9,63	93	25,6	43,55	6
Linda	–	–	13,6	3,24	90	–	–	–
Siete Cerros	–	–	12,6	4,58	63	–	–	–
Avalon	–	–	12,1	1,69	38	–	–	–
Saxana/Siete Cerros	–	–	9,0	2,65	90	–	–	–
Saxana/Avalon	16,0	22,50	15,1	8,86	94	30,5	12,96	6
Siete Cerros	–	–	12,6	4,58	63	–	–	–
Avalon	–	–	12,1	1,69	38	–	–	–
Sandra/Siete Cerros	–	–	13,3	4,00	97	–	–	–
Sandra/Maringá 1+2	–	–	11,2	7,29	90	–	–	–
Sandra	–	–	11,8	4,00	79	–	–	–
Siete Cerros	–	–	12,6	4,58	63	–	–	–
Maringá 1+2.	–	–	9,7	2,89	83	–	–	–

I = necitlivé rostliny ke GA₃ – plants insensitive to GA₃

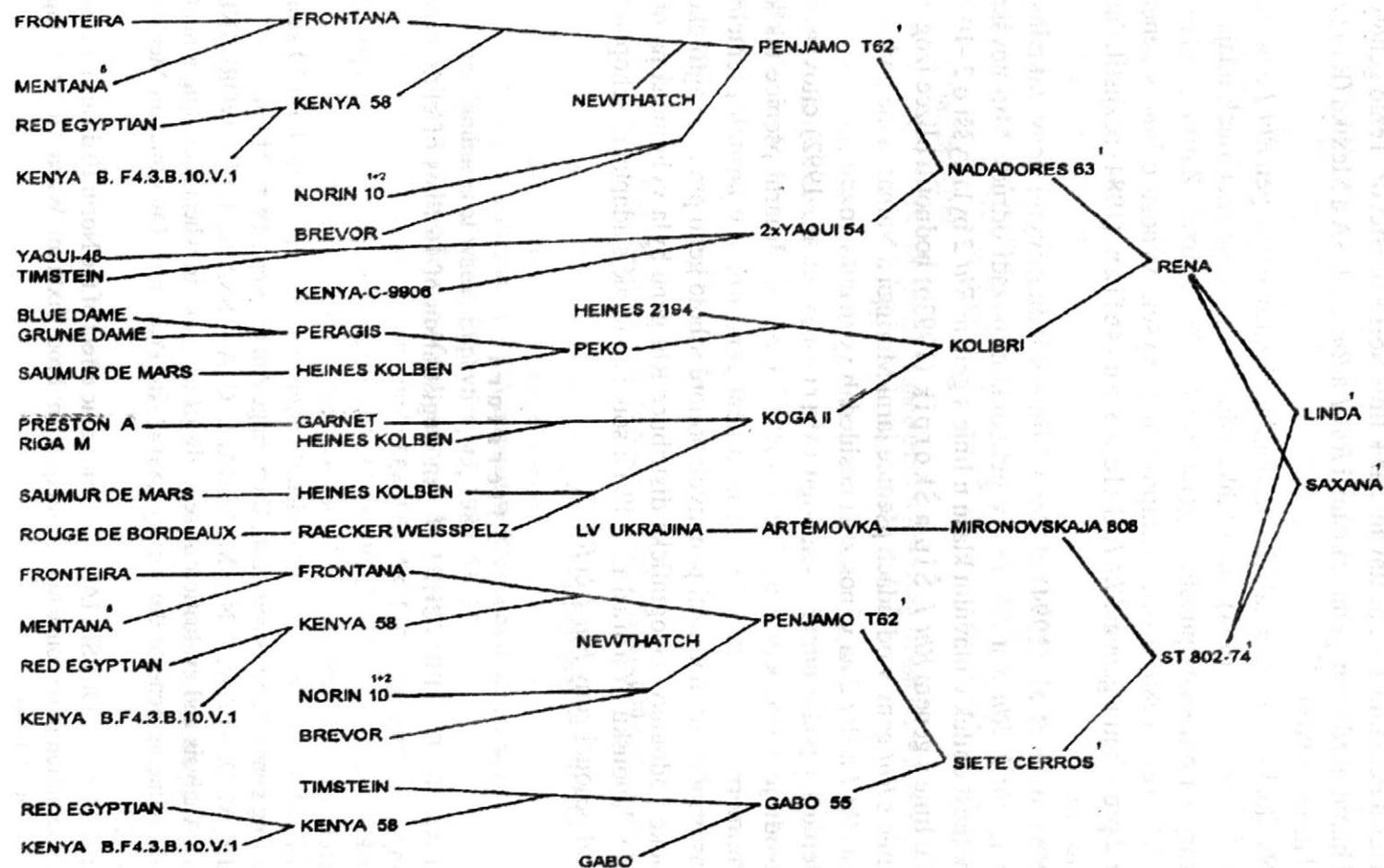
S = citlivé rostliny ke GA₃ – plants sensitive to GA₃

¹cross – parental variety

(7,29/4,00 = 1,82 > $F_{0,05} = 1,67$). Také rodokmen odrůdy Sandra (obr.1) ukazuje, že donorem genu zakrslosti byla zřejmě odrůda Nadadores 63 s genem *Rht 1* (Gale et al., 1982).

Odrůdy Linda a Saxana (obr. 2) mají shodný původ (Rena// Mironovskaja 808/ Siete Cerros). Gen *Rht 1* byl do těchto odrůd s velkou pravděpodobností introdukován z odrůdy Siete Cerros, která byla v 70. letech často používána ve šlechtitelských programech nejen u nás. Při analýze adaptačních schopností odrůd jarní pšenice (Šíp, Škorpiák, 1979) byla efektivní reakce na prostředí zjištěna právě u odrůdy Siete Cerros a souvisela s plným využitím podmínek prostředí pro tvorbu počtu a hmotnosti zrn na klas.

Na základě předložených rodokmenů dále vidíme, že u použitých rodičovských odrůd (Rena, ST 802-74, ST 44-74) se přes Nadadores 63 či Siete



Cerros a Penjamo T 62 dostáváme až k linii Norin 10/Brevor. Tento genotyp byl hlavním zdrojem genů zakrslosti *Rht 1* a *Rht 2* v USA a Mexiku (Reitz, Salmon, 1968).

Na otázku, proč se u našich odrůd uplatnil zatím pouze gen *Rht 1* a ne gen *Rht 2* (Šíp et al., 1994), není lehké odpovědět. Podle literárních údajů se názory na odlišnost působení genu *Rht 1* a *Rht 2* různí. Zatímco Allan a Pritchett (1980) zjistili osmiprocentní zvýšení výnosu u linie s genem *Rht 2* proti linii s genem *Rht 1*, Gale a Youssefian (1984) nezjistili žádný rozdíl.

Nátrová et al. (1994) sledovali linie s jednotlivými geny zakrslosti *Rht 1*, *Rht 2*, *Rht 3* a *Rht 1+2* v genetickém pozadí odrůdy Mironovská. Hmotnost obilek v hlavním klasu u linie s genem *Rht 2* byla vyšší o 2–10 % než u linie s genem *Rht 1*. Šíp a Škorpík (1993b) hodnotili blízce izogenní linie s *Rht* geny v odrůdách pšenice jarní Maringá a Nainari a mezi vlivem genů *Rht 1* a *Rht 2* na výnos zrna neshledali významný rozdíl.

Jelikož i podle údajů z katalogu (Martynov et al., 1992) citovaných v úvodu je zastoupení genů *Rht 1* a *Rht 2* v odrůdách jarní pšenice takřka rovnoměrné, může se výhradní uplatnění genu *Rht 1* v jarních pšenicích u nás připisovat vhodnosti použitých donorů tohoto genu pro naše agro-ekologické podmínky. Geografická distribuce *Rht* genů byla vyhraněná na příklad v Japonsku (Yamada, 1989) a souvisí zřejmě s adaptační schopností odrůd nesoucí geny *Rht 1* či *Rht 2*.

Literatura

- ALLAN, R. E. – PRITCHETT, J. A.: Registration of 16 lines of club wheat germplasm. *Crop Sci.*, 20, 1980: 832–833.
- BOBKOVÁ, L. – ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M.: Využití metody detekce *Rht* genů pomocí giberelinu ve šlechtění pšenice. *Genet. a Šlecht.*, 24, 1988: 65–74.
- GALE, M. D. – LAW, C. N.: The identification and exploitation of Norin 10 semi-dwarfing genes. *Plant Breed. Inst., Cambridge Annual Rep.*, 1976: 21–34.
- GALE, M. D. – LAW, C. N. – MARSHALL, G. A. – SNAPE, J. W. – WORLAND, A. J.: Analysis and evaluation of semi-dwarfing genes in wheat including a major height reducing gene in the variety „Sava“. In: *Proc. Res. Coordination Meeting*, 1982: 23.
- GALE, M. D. – YOUSSEFIAN, S.: Pleiotropic effect of the Norin 10 dwarfing genes and interaction in response to chlormequat. In: *Proc. Sixth int. Wheat Genet. Symp.*, Kyoto, Japan 1984.

- 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.
- NÁTROVÁ, Z. – ŠKORPÍK, M. – ŠÍP, V.: Vliv genů zakrslosti na morfologicko-fyziologické charakteristiky stébla a klasu ozimé pšenice odrůdy Mironovská. Rostl. Vyr., 40, 1994: 529–543.
- REITZ, L. P. – SALMON, S. C.: Origin, history and use of Norin 10 wheat. Crop Sci., 8, 1968: 686–689.
- ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M.: Effective response to the environment in spring wheat. Z.Pfl.-Züchtg., 83, 1979: 263–271.
- ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M. – TÁBORSKÁ, J.: Metoda testování reakce na aplikovaný giberelin pro detekci genů zakrslosti u pšenice. Genet. a Šlecht., 22, 1986: 133–141.
- ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M.: Gen *Rht 1* u odrůdy pšenice ozimé Vlada. Genet. a Šlecht., 29, 1993a: 289–290.
- ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M.: Performance trials with spring wheat lines isogenic for the dwarfing genes. Genet. a Šlecht., 29, 1993b: 1–10.
- ŠÍP, V. – ŠKORPÍK, M. – CHRPOVÁ, J.: Characteristics of wheat varieties with GA insensitive dwarfing genes. RICP Prague-Ruzyně A. Rep. 1994: in press.
- ŠKORPÍK, M. – BARTOŠ, P. – ŠÍP, V.: Závislost jakosti zrna a odolnosti pšenice ke rzem na původu genotypu a jeho citlivosti na GA₃. In: Genetika, genetické zdroje a teoretické základy šlechtění pšenice. VÚRV Praha-Ruzyně, Genetické zdroje č. 50, 1990: 83–91.
- 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.: Identification of GA-insensitive *Rht* genes in Japanese modern varieties and landraces of wheat. Euphytica, 43, 1989: 53–57.
- YAMADA, T.: Classification of GA response, *Rht* genes and culm length in Japanese varieties and landraces of wheat. Euphytica, 50, 1990: 221–239.

Došlo 11. 1. 1995

Kontaktní adresa:

Ing. Václav Šíp, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně,
Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/365 229

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7, 120 56 Praha 2

Tel. (02) 257 541 Fax: (02) 257 090

Z pověření České akademie zemědělských věd vydává 10 vědeckých časopisů, které uveřejňují původní vědecké práce, vědecká pojednání, studie a přehledy zahraniční literatury z odvětví zemědělství, potravinářství a lesnictví. Časopisy jsou určeny především pracovníkům výzkumu, vysokých škol, vedoucím pracovníkům, odborníkům ve šlechtitelství a semenářství, plemenářství, ochraně rostlin, veterinářství, vývojových pracovišť zemědělské techniky, zemědělských staveb aj.

Časopis	Periodicita	Cena Kč
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	468,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	468,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	468,-
Lesnictví – Forestry	12	468,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	396,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	220,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	140,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	140,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	140,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	132,-

Uvedené časopisy je možné objednat na adrese:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 Praha 2

ELEKTROFORETICKÁ SPEKTRA HORDEINŮ ODRŮD JEČMENE SETÉHO DOMÁCIHO A ZAHRANIČNÍHO PŮVODU

Electrophoretic Spectra of Hordein Barley Varieties of Domestic and Foreign Provenance

Antonín ŠAŠEK, Jiří ČERNÝ¹, Jana BRADOVÁ, Pavel PAŘÍZEK²

Research Institute of Plant Production, Prague;

¹*Czech University of Agriculture, Prague;*

²*Central Control and Testing Institute for Agriculture, Brno, Czech Republic*

Abstract: To determine the genetic structure of varieties and new breedings of spring and winter barley of domestic and foreign provenance, as well as to identify barley varieties in seed samples and to determine varietal purity of seed doses and barley mercantile, the set of 170 domestic and foreign barleys was analyzed through the elpha HRD in starch gel. Testing of proportions of pure hordein lines in different subsets (Czech restringed varieties, Czech new breedings, foreign spring barley varieties, Czech multi-owed new breedings, Czech two-owed new breedings, foreign two-owed varieties, foreign multi-owed new breeds, foreign serial varieties, foreign distichous varieties, foreign serial new breedings of winter barleys) testifies high homogeneity of Czech restringed varieties of spring barley and foreign varieties of two-owed winter barley and the low homogeneity of multi-owed new breedings and winter barley varieties. The lower degree of hordein polymorphism has an adverse effect on identification of varieties and new breedings. However, through the elpha HRD it is possible, with some exceptions, to distinct varieties and new breeds of spring and winter types by analysis in seed samples. Out of the total number of 115 classes of electrophoretic hordein spectra found, only 10 classes are common for spring and winter barleys.

electrophoresis; starch gel; hordeins; barley; hordein polymorphism; genetic structure; identification of varieties

Abstrakt: Byla uskutečněna elfa HRD v škrobovém gelu 170 odrůd a nových šlechtění ječmene setého jarní a ozimé formy domácího i zahraničního původu. Podle elektroforetické skladby HRD byla posuzována genetická struktura hodnocených ječmenů a možnost identifikace hodnocených genotypů ve vzorku semen.

elektroforéza; škrobový gel; hordeiny; ječmen setý; hordeinový polymorfismus; genetická struktura; identifikace odrůd

Elektroforéza hordeinů umožňuje hodnotit genetickou strukturu odrůd ječmene setého, markerovat některé hospodářské vlastnosti odrůd ječmene setého a stanovit odrůdovou pravost a odrůdovou čistotu vzorků semen, dávek osiv a merkantilu.

Pro tyto účely byla publikována elektroforetická spektra hordeinů odrůd československého sortimentu ječmenů jarních a ozimých (Šašek et al., 1990a, b). Tento přehled hordeinových spekter bývalého československého sortimentu povolených odrůd byl doplněn inovovaným souborem signálních hordeinových genů 25 povolených českých a slovenských odrůd ječmene setého (Šašek et al., 1995). Na zmíněný dodatek navazují autoři této práce studiem elektroforetické skladby hordeinů registrovaných odrůd, nových šlechtění a nově povolených odrůd ječmene jarního a ozimého domácího i zahraničního původu.

MATERIÁL A METODY

Bylo hodnoceno 7 restringovaných odrůd ječmene jarního československého původu, 46 českých novošlechtění ječmene jarního a 50 zahraničních odrůd ječmene jarního. Z ječmenů ozimých bylo analyzováno 11 českých novošlechtění víceřadého typu, 8 novošlechtění dvouřadého typu, 16 víceřadých zahraničních odrůd, 23 dvouřadých zahraničních odrůd a 9 zahraničních víceřadých nových šlechtění. Názvy a označení hodnocených odrůd a nových šlechtění včetně uvedení státu původu jsou uvedeny v tab. I (ječmeny jarní) a v tab. II (ječmeny ozimé).

Metodika odběru laboratorních vzorků určených pro analýzy počet individuálně analyzovaných zrn, použitý postup vertikální elektroforézy ve sloupcích škrobového gelu s Al-laktátovým pufrem o pH 3,1 s 2 M močoviny v 1 litru pufru, právě tak jako vyčlenění hordeinových alelických bloků zón a jejich charakteristika byly již publikovány (Šašek et al., 1994).

K statistickému hodnocení rozdílných podílů čistých linií při posuzování stupně homogenity bylo použito *t*-testu kvalitativních znaků (Myslivec, 1957).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získaná elektroforetická spektra hordeinů jsou představena v podobě souborů hordeinových alelických bloků v tab. I a II. Charakteristiky zjištěných alelických hordeinových bloků jsou uvedeny v tab. III.

Genetická struktura hodnocených odrůd a nových šlechtění

Podle homogenity či heterogenity hodnocených odrůd a nových šlechtění ječmene v elektroforetické skladbě hordeinů lze usuzovat na celkovou genetickou homogenitu či heterogenitu analyzovaných odrůd a charakterizovat jejich genetickou strukturu jako čisté linie homogenní v skladbě hordeinů, či jako populace složené ze dvou či více hordeinových linií.

Stupeň hordeinového polymorfismu, resp. charakter genetické struktury hodnocených odrůd a novošlechtění hodnotí přehled v tab. IV. U jarních ječmenů byla zjištěna maximální četnost odrůd typu čistých linií u skupiny českých registrovaných odrůd. Vysoká homogenita odrůd této skupiny (86,7 % odrůd čistých linií) odpovídá účinkům dlouhodobého udržovacího šlechtění. Naproti tomu skupina českých novošlechtění se vyznačuje výrazně nižší homogenitou (celkem 52,12 % odrůd této skupiny připadá na populace složené ze 2 až 4 hlavních linií). Pozorovaná vysoká heterogenita těchto nových šlechtění souvisí zřejmě s krátkou dobou udržovacího šlechtění, během níž nedošlo dosud k odstranění nežádoucích sesterských linií tvořících odrůdovou populaci. Tomuto předpokladu odpovídá i vysoký podíl nových šlechtění složených ze tří až čtyř hordeinových linií.

Nejnižší homogenitu vykazují zahraniční odrůdy ječmene jarního. Tato nízká homogenita je vyvolána vysokým podílem (48,8 %) dvouliniových odrůd. Pokud bychom heterogenitu těchto odrůd posuzovali podle podílu odrůd složených ze tří a čtyř linií, klesla by tato heterogenita na hodnotu 14 %. Dvouliniové odrůdy mohou být výsledkem záměrné konstrukce, skladby odrůdy ze dvou doplňujících se linií. Mohou se však skládat i ze dvou morfologicky a fyziologicky podobných, avšak nezjištěných sesterských linií.

U ječmenů ozimých byla vysoká homogenita vyjádřená podílem odrůd – čistých linií zjištěna u zahraničních dvouřadých odrůd (87,0 %) a u českých dvouřadých nových šlechtění (62,5 %). Odrůdy a novošlechtění víceřadých ječmenů ozimých jsou charakterizovány podstatně vyšší heterogenitou, vyšším podílem odrůd – populací.

Statistická významnost rozdílů v podílu odrůd - čistých linií mezi osmi hodnocenými skupinami ječmenů je uvedena v tab. V. Testování rozdílných podílů čistých linií ve skupinách hodnocených genotypů (tab. IV) svědčí o vysoké homogenitě českých restringovaných odrůd ječmene jarního a zahraničních odrůd dvouřadého ječmene ozimého a naopak o nízké homogenitě českých víceřadých novošlechtění ječmene ozimého a zahraničních víceřadých odrůd ječmene ozimého.

I. Soubory hordeinových alelických bloků hodnocených odrůd a novošlechtění ječmene jarního – Sets of hordein allelic blocks of assessed varieties and new breedings of spring barley

No	Název odrůdy, nšl. ¹	Linie ²	HRD alelické bloky zón ³				Stát původu ⁵	No	Název odrůdy, nšl.	Linie	HRD alelické bloky zón				Stát původu
			A	B	F	ostatní ⁴					A	B	F	ostatní	
A. České restringované odrůdy⁵															
1.	Dvoran	A	1	19	1			5.	Rapid	C	23	29	3		
2.	Dukát	A	2	19	1			6.	Zefír	A	2	29	3		
3.	Fatran	A	12	21	1	G		7.	Zenit	A	2	47	1		
4.	Karát	A	2	47	1	E				B	2	47	1	1	E
5.	Rapid	A	2	25	1					C	2	47	1	D, E	
		B	21	25	1										
B. Česká novošlechtění⁶															
1.	BR 3583	A	2	17 ^x	2			14.	HE 082	A	23	19	1		
		B	21	17 ^x	2					B	23	17	3		
		C	18	17	2			15.	HE 5089	A	2	17	3		
2.	BR 3776	A	23	29	3			16.	HE 5237	A	21	25	1		
		B	32	21	0					B	2	25	1		
		C	2	19	1					(C)	23	8	2		
3.	BR 4148	A	5	17	2			17.	HE 6124	A	12	21	1		
4.	BR 4415	A	4	21	1	G				(B)	4	45	3		
		B	5	17	2			18.	KM 43	A	12	21	3	(E)	
		(C)	5	17	3					B	2	47	1	E	
5.	CE 431	A	2	47	1	E				C	2	47	1		
		B	2	47	1			19.	KM 974	A	2	17	3		

6.	CE 590	A	12	25	1	E	19.	KM 974	B	(9)	17	3	E
7.	CE 685	A	2	47	1	E			C	2	17	3	
8.	CE 686	B	2	47	1				(D)	23	21	1	
		A	2	47	1	E	20.	KM 1070-496	A	32	21	0	
		(B)	21	47	1				B	2	17	2	
9.	HE 1728	C	2	47	1		21.	KM 1220	A	2	43	2	
		A	18	52	1		22.	KM 1252	A	4	52	1	
		B	32	11	0				B	18	52	1	
10.	HE 4809	C	2	47	1				C	4	45	3	
		A	2	47	1	E			D	18	45	3	
		B	2	47	1		23.	KM-1844/85	A	2	17	2	
		C	2	N2	2		24.	KM-8-686	A	32	21	0	
		D	2	N2	2	E			B	32	21	0	
		(E)	23	29	3				C	2	8	2	
11.	HE 4886	A	2	47	1				A	12	21	1	
		B	2	47	1	E	25.	SH-S 159	A	12	21	1	
		C	32	21	0		26.	SG-S 160	A	12	471	1	(EC)
		A	2	17	2		27.	SG-S 167	A	21	25	1	
12.	HE 4912	B	14	N	N		28.	SK-3084	A	21	25	1	
		A	(9)	25	1		29.	SK-3212	A	21	91	1	
13.	HE 5038	B	2	25	1				(B)	18	17	2	
		(C)	23	29	3		30.	SK-3214	A	2	19	1	
							31.	SK-3247	A	2	47	1	

No	Název odrůdy, nšl. ¹	Linie ²	HRD alelické bloky zón ³				Stát původu ⁵	No	Název odrůdy, nšl.	Linie	HRD alelické bloky zón				Stát původu
			A	B	F	ostatní ⁴					A	B	F	ostatní	
31.	SK-3247	B	2	47	1	E		38.	ST-167	A	21	25	1		
32.	SK-3507	A	2	19	2					(B)	18	17	2		
		B	2	8	2			39.	ST-765/91	A	32	52	1		
		(C)	2	(32)	1					B	12	45	3		
33.	SK-3662	A	21	17 ^x	2					C	32	45	3		
34.	ST-146	A	12	21	1			40.	ST-768/91	A	2	25	1		
35.	ST-158	A	2	19	1			41.	ST-790/91	A	12	45	3		
		B	2	29	3			42.	ST-794/91	A	12	21	1		
36.	ST-159	A	12	21	1			43.	ST-1053/91	A	23	29	3		
		B	12	21	1	(EG)		44.	ST-1054/91	A	23	29	3		
		C	12	21	1	(ECG)		45.	ST-1058/91	A	23	29	3		
37.	ST-160	A	12	47	1	(EC)		46.	ST-1060/91	A	23	29	3		
C. Zahraniční odrůdy ⁷															
1.	Alexis	A	2	19	1		DEU	19.	Golf	A	2	8	2	GBR	
2.	Amazona	A	2	8	2		DEU			B	2	17	2		
		B	21	21	0					C	2	17	3		
3.	Apex	A	2	17 ^x	3		NLD	20.	Grit	A	32	21	1	DEU	
		B	2	17 ^x	2					B	2	8	2		
4.	Aspa	A	2	1	0		DEU	21.	Grosso	A	23	29	3	NLD	
5.	Aramir	A	23	29	3		NLD	22.	Hart	A	23	29	3	GBR	

6.	Aru royal	A	1	21	1	G	GBR	23.	Helena	A	23	29	3		DEU
		B	1	8	3	G		24.	Cheri	A	23	29	3		
7.	Athos	A	23	29	3		FRA	25.	Ismene	A	2	N	1	(EG)	DEU
8.	Blenheim	A	23	29	3		GBR			B	12	21	1	(G)	
		B	2	N	1					C	12	21	1	(DG)	
		C	18	N	1			26.	Jenisej	A	2	1	2		SUN
		D	18	17	2					B	13	1	3		
9.	Breuns	A	2	1	0	G	DEU	27.	Korn	A	2	17	2		GBR
		B	2	19	1					B	2	10	2		
10.	Carlsberg II.	A	2	8	2		DMK	28.	Krona	A	23	29	3	E	DEU
11.	Černohorec	A	2	1	2	CDE	SUN	29.	Luč	A	2	19	1		SUN
		B	1	19	1					B	2	17	2		
12.	Digger	A	12	(32)	1			30.	Magda	A	23	29	3		NLD
		B	2	21	1	D				B	12	29	3	(E)	
13.	Ditta	A	32	21	1		DEU	31.	Mandolin	A	32	21	1	(G)	NLD
14.	Fink	A	12	3	2		DEU			B	12	21	1	(EG)	
		B	12	21	1					C	2	21	1	(G)	
15.	Flare	A	2	12	3		GBR			D	12	21	1	(G)	
16.	Galina	A	1	19	1		SUN	32.	Montalm	A	2	1	2		CAN
17.	Gerlinde	A	23	29	3		DEU	33.	Nancy	A	23	29	3		SWE
		B	2	21	1			34.	Nomad	A	18	17	3		GBR
18.	Gimpel	A	1	21	1	G	DEU			B	18	17	3		
		B	2	21	1			35.	Perle	A	2	N	1		

No	Název odrůdy, nšl. ¹	Linie ²	HRD alelické bloky zón ³				Stát původu ⁵	No	Název odrůdy, nšl.	Linie	HRD alelické bloky zón				Stát původu
			A	B	F	ostatní ⁴					A	B	F	ostatní	
35.	Perle	B	23	N	1			44.	Steffi	A	21	19	1		DEU
36.	Peroga	A	2	1	0	G	DEU			B	2	(8)	2		
		B	23	1	3			45.	Steina	A	2	8	2		DEU
		C	2	20	1			46.	Trumph	A	2	19	1		
37.	Prisma	A	23	29	3		NLD			B	2	21	1		
38.	Proctor	A	2	8	2		GBR			C	2	8	2		
39.	Regatta	A	2	N	1	E	GBR			D	2	21	2		
		B	2	N	1			47.	Vanja	A	23	29	3		
40.	Reggae	A	2	(17)	3		NLD	48.	Veras	A	18	52	1		
		B	2	(17)	3	E			B	18	17 ^x	2			
41.	Riff	A	2	17*	2		NLD	49.	Zephyr	A	2	19	1		NLD
42.	Salome	A	1	21	1	G	DEU	50.	Zgoda	A	2	19	1		SUN
		B	2	8	2	E			B	32	21	0			
43.	Signal	A	N	N	N		AUT								
		B	N	23	3										

¹name of variety, new breeding; ²lines; ³zones; ⁴the others; ⁵country of origin; ⁵Czech restringed varieties; ⁶Czech new breedings; ⁷foreign varieties

Identifikace hodnocených odrůd, nových šlechtění pomocí elektroforetické skladby hordeinů

Nižší stupeň hordeinového polymorfismu ovlivňuje nepříznivě identifikaci odrůd ječmene setého pomocí odrůdových elektroforetických spekter. Řada odrůd, linií ječmene setého, vykazuje v důsledku zmíněného nižšího polymorfismu hordeinů zcela totožná hordeinová spektra a nelze je proto rozlišit elektroforézou hordeinů (Šašek et al., 1990a, b, 1991). Analogické výsledky uvádějí Šašek et al. (1994).

Hodnocené odrůdy a nová šlechtění, resp. jejich hordeinové linie (tab. I) lze rozřadit podle specifických elektroforetických hordeinových spekter. Některá spektra jsou výlučná, specifická pro jednu odrůdu, linii, jiná jsou společná pro několik odrůd, hordeinových linií. Třídy elektroforetických hordeinových spekter uvedli Černý et al. (v tisku) v tabulkovém přehledu.

Bylo zjištěno, že odrůdy či nová šlechtění typu čistých linií s jedinečným hordeinovým elektroforetickým spektrem představují kupříkladu odrůdy Aspra, Flare, Zephyr či novošlechtění HE 5089, KM-L-844/85, ST 768/91. Takovéto hordeinově jednodliniové odrůdy a novošlechtění lze spolehlivě identifikovat pomocí elektroforézy hordeinů. V řadě případů však hordeinově jednodliniové odrůdy a novošlechtění mají společná hordeinová spektra a nelze je pomocí hordeinů identifikovat. Kupříkladu odrůdy Carlsberg II. a Steina mají identická spektra HRD-A2, HRD-B8, HRD-F2 a nelze je proto elektroforézou hordeinů rozlišit.

V případě odrůd či nových šlechtění typu populací složených ze dvou i více hordeinových linií je nutné ke stanovení odrůdové pravosti či odrůdové čistoty analyzovat dostatečný počet zrn odebraných z ramšového vzorku či klasů a odpovídající pravděpodobnosti manifestace všech linií tvořících hodnocenou populaci. Z celkového počtu 311 hodnocených čistých odrůd a hordeinových linií odrůd–populací vykazuje pouze 67 unikátních hordeinových vzorců (souborů HRD alelických bloků) unikátní, pro jednotlivou čistou odrůdu či hordeinovou linii specifickou třídu hordeinového elektroforetického spektra (tj. 21 %). Vysoký podíl (79 %) čistých odrůd a hordeinových linií se společnými hordeinovými spektry ztěžuje identifikaci odrůd pomocí elektroforézy hordeinů.

Rozlišení jarních a ozimých odrůd, resp. hordeinových linií pomocí elektroforézy hordeinů je schůdnější. Z celkového počtu 121 zjištěných tříd elektroforetických spekter hordeinů pouze 10 tříd je společných pro jarní a ozimé ječmeny.

II. Soubory hordeinových alelických bloků hodnocených odrůd a novošlechtění ječmene ozimého – Sets of hordein allelic blocks of assessed varieties and new breedings of winter barley

No	Název odrůdy, nšl. ¹	Linie ²	HRD alelické bloky zón ³				Stát původu ⁵	No	Název odrůdy, nšl.	Linie	HRD alelické bloky zón				Stát původu
			A	B	F	ostatní ⁴					A	B	F	ostatní	
A. Česká víceřadá novošlechtění ⁶															
1.	KM 60	A	3	N1	1			6.	LU 20	A	3	N1	1		
2.	KM 67	A	14	3	2			7.	LU 25	B	14	3	2		
		B	3	3	2	8.	LU 36			A	14	3	2		
		(C)	4	3	2					A	3	N1	1		
		(D)	2	3	2					B	3	3	2		
		(E)	3	N1	1					9.	LU 37	A	3		
3.	KM 920	A	2	8	2			10.	LU 45	B	14	3	2		
		B	3	N1	1	C	14			N1	1				
		C	2	21	1	A	3			3	2				
		D	2	N1	1	B	14			3	2				
4.	LU 5	A	3	N1	1			11.	LU 46	C	14	N1	1	C	
		B	3	3	2	A	3			N1	1				
		C	14	3	2	B	3			N1	1				
5.	LU 9	A	3	3	2			C	14	3	2				
		B	3	N1	1										

B. Česká dvouřadá novošlechtění ⁷														
1.	KM 799	A	12	3	2			4.	KM 1490	C	3	NI	1	
2.	KM 914	A	12	3	2			5.	KM 1779	D	3	3	2	
3.	KM 948	A	12	3	2			6.	LM 868	A	3	3	2	
		B	3	NI	1			7.	18763	A	2	NI	1	
		C	12	NI	1				MHB	B	23	NI	1	
		(D)	3	3	2			8.	3883 UH1	A	3	NI	1	
4.	KM 1490	A	21	25	1									
		B	23	NI	1									
C. Zahraniční víceřadá odrůdy ⁸														
1.	Ares	A	13	7	2			5.	Erfa	B	3	7	2	DEU
		B	3	7	2			6.	Erno	C	2	7	2	DEU
		C	3	10	2					A	5	NI	1	
		D	14	3	2			7.	Hauters	B	21	3	2	
2.	Bollo	A	2	8	2					A	3	7	2	
		B	2	25	1					B	3	27	1	
3.	Diana	A	3	3	2					C	3	5	1	
4.	Cyklon	A	21	7	2					D	14	7	2	USA
		B	3	6	4			8.	Harbine	A	2	1	1	
		C	3	7	2					B	2	1	0	
5.	Erfa	A	3	3	2			9.	Jama	A	3	6	4	SUN

No	Název odrůdy, nšl. ¹	Linie ²	HRD alelické bloky zón ³				Stát původu ⁵	No	Název odrůdy, nšl.	Linie	HRD alelické bloky zón				Stát původu
			A	B	F	ostatní ⁴					A	B	F	ostatní	
9.	Jarna	B	3	5	1			14.	Oděsskij 31	A	3	6	4		SUN
		C	1	10	2					B	1	6	4		
10.	Kirwin	A	2	8	2		USA			C	21	7	2		
		B	2	7	2			15.	Oděsskij 86	A	2	8	2		SUN
11.	Igri	A	3	5	1		DEU			B	3	8	2		
12.	Malta	A	3	5	1		DEU			C	13	7	2		
13.	Merkator	A	2	7	2		DEU	16.	Oksamit	A	1	7	2		SUN
		B	3	7	2					B	2	7	2		
D. Zahraniční dvouřadé odrůdy ⁹															
1.	Alraune	A	21	25	1		FRA	13.	Marianne	A	12	19	1		
2.	Arizona	A	3	N1	1			14.	Marlen	A	3	N1	1		
3.	Barlana	A	21	3	2			15.	Meluzine	A	3	N1	1		
		B	21	N1				16.	Mimoza	A	3	29	3		
4.	Baraka	A	2	N	1			17.	Mossar	A	3	29	3		
5.	Canette	A	2	N1	1			18.	Pamír	A	3	N1	1		
6.	Clarine	A	3	N1	1			19.	Panda	A	2	17	3		

7.	Danilo	A	3	8	2					B	23	N1	1				
8.	Emerande	A	25	N1	1			20.	Pastorale	A	3	N1	1				
9.	Flamenco	A	3	N1	1			21.	Petula	A	2	N1	1				
10.	Kaskade	A	23	N1	1			22.	Tamara	A	3	19	1				
11.	Magie	A	2	3	2			23.	Trixi	A	3	N1	1				
12.	Manaco	A	3	(8)	2					B	3	19	1				
E. Zahraniční víceřadá novošlechtění ¹⁰																	
1.	HVW 217	A	32	21	1		DEU	4.	HVW 427	A	14	3	2		DEU		
		B	14	3	2					B	2	N1	1				
2.	HVW 247	A	3	3	2		DEU	5.	HVW 464	A	3	21	1	C	DEU		
		B	13	3	2					A	14	3	2		DEU		
		C	13	N1	1					A	3	21	1	C	DEU		
		D	3	N1	1					B	2	21	1				
3.	HVW 315	E	14		3	2		8.	HVW 1066	A	3	3	2		DEU		
		A	2		21	1	DEU			9.	HVW 12739	A	21	3	2		DEU
		B	14		3	2						B	3	N1	1		

¹name of variety, new breeding; ²lines; ³zones; ⁴the others; ⁵country of origin; ⁶Czech multi-owed new breedings; ⁷Czech two-owed new breedings; ⁸foreign multi-owed varieties; ⁹foreign two-owed varieties; ¹⁰foreign multi-owed new breedings

III. Charakteristiky hordeinových alelických bloků hodnocených odrůd a novošlechtění ječmene jarního – Characteristics of hordein allelic blocks of assessed varieties and new breedings of spring barley

Lokus	HRD alelický blok ²	Počet zón ³
A	1	21,5(3)-26,5(5)-29,0(5)
	2	28,04-29,5(2-3(-31,0(5)-35,0(4)-39,0(5)
	3	23,5(3)-27,0(2)-30,0(4)-31,0(5)-34,0(1)-36,0(5)-37,5(5)-42,0(5)
	4	28,0(4)-29,5(2)-31,0(5)-36,5(4)
	5	23,5(2)-28,0(4)-29,5(2)-31,0(5)-36,5(4)-40,0(2)
	9	28,0(1-2)-29,5(2-3)-31,0(5)-35,0(4)-39,0(5)
	12	27,0(3)-31,0(5)-34,0(5)-35,0(5)
	13	27,0(1)-30,5(2)-35,0(4)-39,5(5)-42,5(5)
	14	27,0(3)-31,5(5)-33,0(1)-36,5(5)-37,5(4)-41,5(5)-42,0(5)-48,5(3)-50,5(3)-53,0(3)
	18	27,0(3)-31,0(5)-34,5(5)-37,5(4)
	21	25,0(2)-27,0(3)-30,0(4)-31,0(5)-34,5(5)-36,0(1)-39,5(2)
	23	27,0(3)-31,0(4)-32,0(5)-35,5(5)-40,0(4)-41,0(5)
	25	23,5(2)-27,5(2)-30,5(5)-31,5(5)-34,0(1)-37,0(5)-40,0(5)-42,5(5)
	32	28,0(4)-29,5(3)-31,0(5)-33,5(3)-35,0(4)-36,0(3)-39,0(5)
	N	dosud nekatalogizován ⁴
B	1	53,0(3)-58,0(4)-59,0(4)-64,5(3)
	3	62,0(1)-66,0(3)-69,5(4)-70,0(5)
	5	51,5(2)-53,0(3)-56,5(2)-57,5(4)-62,5(3)-63,5(1)-68,0(3)-70,5(1)-73,5(4)-75,0(1)-77,0(1)
	6	53,0(3)-54,5(2)-54,5(1)-62,5(2)-64,5(3)
	7	62,0(1)-66,0(4)-69,5(4)-70,0(1)-75,0(2)
	8	62,0(1)-66,0(3)-69,5(4)-70,0(5)-85,0(3)
	10	62,0(3)-65,0(3)-67,5(1)-70,5(1)-72,0(5)-84,0(3)
	11	62,0(4)-64,5(3)-66,0(3)-69,0(1)-71,0(3)
	17	60,5(4)-61,5(4)-67,5(1)-69,5(2)-72,5(3)-79,5(2)-86,5(4)

Lokus	HRD alelický blok ²	Počet zón ³
B	17 ^x	60,5(4)-61,5(4)-67,5(3)-69,5(2)-72,5(3)-76,5(1)-80,5(1)-86,5(4)
	19	58,0(2)-62,0(5)-66,5(3)-67,5(2)-71,5(2)-75,0(2)
	20	58,0(1-2)-62,0(5)-67,0(3)-69,0(1)-72,0(3)
	21	62,5(1-2)-66,0(5)-69,0(2)-71,0(2)
	25	58,5(4)-62,0(4)-64,5(1)-69,0(1)-70,5(3)-71,5(2)-74,5(2)-82,5(3)
	27	59,5(2)-61,5(3)-64,0(2-3)-67,0(3)-70,0(3)-72,0(1)
	29	60,5(4)-61,5(4)-68,0(3)-74,0(3)-83,0(3)-86,0(2)
	32	59,0(5)-65,0(4)-70,0(1)-71,5(1)-78,0(1)-82,5(5)
	43	60,0(2)-61,5(2)-65,0(5)-68,5(5)-74,0(2)-80,5(1)
	45	56,5(2)-60,5(4)-61,5(4)-65,5(2)-69,5(2)-74,0(4)-77,5(2)-78,5(1)-86,0(2)
	47	60,0(3)-61,5(3)-65,0(5)-68,5(3)-72,0(2)-81,5(4)
	52	55,0(3)-61,5(3)-63,0(4)-66,5(3)-70,5(3)
	N	dosud nekatalogizován ⁴
	N1	62,0(2)-63,5(3)-67,5(2)-69,0(4)-71,0(1)-73,5(2)-74,5(2)-78,5(2)
N2	60,0(3)-61,5(3)-65,0(5)-68,5(3)-72,0(2)-74,5(1)-80,0(1-2)-85,5(4-5)	
F	0	–
	1	86,0(4)
	2	88,0(4)
	3	90,0(3-4)
	4	78,0(3)-81,0(4)-84,0(1)
	N	dosud nekatalogizován
C	1	39,0(2)
D	1	41,0(2)
E	1	36,5(2)
G	1	76,5(2)

¹loci; ²HRD allelic block; ³number of zones; ⁴not catalogized yet

IV. Stupeň herdeinového polymorfismu – charakter genetické struktury hodnocených odrůd a nových šlechtění – Degree of hordein polymorphism – character of genetic structure of assessed varieties and new breedings

Forma ¹	Skupina ²	n	Čisté linie ³		Populace složené z několika linií ⁴							
					1 hlavní linie ⁵		2 hlavní linie		3 hlavní linie		4 hlavní linie	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Ječmen jarní ⁶	české restringované odrůdy ⁸	7	6	86,70	–	–	–	–	1	14,30	–	–
	česká novošlechtění ⁹	48	21	43,75	2	4,17	14	29,20	9	18,75	2	4,17
	zahradní odrůdy ¹⁰	43	16	37,21	–	–	21	48,80	3	7,00	3	7,00
	celkem ¹¹	98	43	43,90	2	2,04	35	35,70	13	13,26	5	5,10
Ječmen ozimý ⁷	česká víceřadá novošlechtění ¹²	11	2	18,20	–	–	4	36,40	4	36,40	1	9,00
	česká dvouřadá novošlechtění ¹³	8	5	62,50	–	–	1	12,50		12,50		12,50
	zahraníční víceřadá odrůdy ¹⁴	16	3	18,70	–	–	6	37,50	4	25,00	3	18,70
	zahraníční dvouřadá odrůdy ¹⁵	23	20	87,00	–	–	3	13,05	–	–	–	–
	zahraníční víceřadá novošlechtění ¹⁶	9	3	33,40	–	–	5	55,50	–	–	1	11,10
	celkem	67	33	49,25	–	–	19	28,36	9	13,40	6	8,90

¹form; ²group; ³pure lines; ⁴populations composed from several lines; ⁵primary line; ⁶spring barley; ⁷winter barley; ⁸Czech registred varieties; ⁹Czech new breedings; ¹⁰foreign varieties; ¹¹total; ¹²Czech multi-owed new breedings; ¹³Czech two-owed new breedings; ¹⁴foreign multi-owed varieties; ¹⁵foreign two-owed varieties; ¹⁶foreign multi-owed new breedings

V. Testování rozdílných podílů odrůd – čistých linií skupin genotypů – Testing of different proportions of varieties – pure lines of genotype groups

	2	3	4	5	6	7	8
České registrované odrůdy ¹	1,65	1,89	2,67 ^x	0,98	2,64 ^x	0,06	2,04
Česká novošlechtění ²		0,51	2,16 ^x	1,44	2,10 ^x	3,66 ^{xx}	0,82
Zahraniční odrůdy ³			1,47	1,75	1,42	3,72 ^{xx}	0,28
Česká víceřadá novošlechtění ⁴				1,23	0,02	1,98	0,45
Česká dvouřadá novošlechtění ⁵					1,63	1,01	1,04
Zahraniční víceřadá odrůdy ⁶						2,39 ^x	0,53
Zahraniční dvouřadá odrůdy ⁷							3,83 ^{xx}
Zahraniční víceřadá novošlechtění ⁸							

^x $P_{0,05}$
^{xx} $P_{0,01}$

¹Czech registered variety; ²Czech new breedings; ³foreign varieties; ⁴Czech multi-owed new breedings; ⁵Czech two-owed new breedings; ⁶foreign multi-owed varieties; ⁷foreign two-owed varieties; ⁸foreign multi-owed new breedings

Literatura

- MYSLIVEC, V.: Statistické metody zemědělského a lesnického výzkumnictví. Praha, ČSAV-SZN 1957.
- ŠAŠEK, A. – BRADOVÁ, J. – ČERNÝ, J. – NECVETAJEV, V. P.: A catalogue of electrophoretic hordein spectra in the assortment of winter barley varieties and new varieties. Scientia Agric. bohemoslov., 22, 1990a.: 11–21.
- ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – BRADOVÁ, J.: Kontrola odrůdové pravosti genetických zdrojů ječmene. Rostl. Vyr., 37, 1991: 565–573.
- ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – NECVETAJEV, V. P. – BRADOVÁ, J.: A catalogue of electrophoretic hordein spectra of Czechoslovak spring barley varieties. Scientia Agric. bohemoslov., 22, 1990b: 1–10.
- ŠAŠEK, A. – LANGR, I. – ČERNÝ, J. – BRADOVÁ, J.: Hordeinová elektroforetická spektra modelového souboru odrůd ječmene jarního. Potravn. Vědy, 13, 1995: 57–70.

ŠAŠEK, A. – SÝKOROVÁ, S. – BRADOVÁ, J. – ČERNÝ, J. : Využití elektroforézy bílkovinných genetických markerů pšenice a ječmen v kontrole odrůd a osiv. [Podkladová zpráva RU.] Praha, VÚRV 1994: 283 s.

Došlo 8. 11. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Antonín Šašek, CSc. Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/352 952

TVORBA POPULACÍ JETELE LUČNÍHO REZISTENTNÍCH VŮČI VIRU ŽLUTÉ MOZAIKY FAZOLU

Development of Red Clover Populations Resistant to Bean Yellow Mosaic Virus

Radovan POKORNÝ

Research Institute for Fodder Plants, Troubsko, Czech Republic

Abstract: The resistance of clones of red clover (*Trifolium pratense*) cvs. Kvarta and Start to three isolates of bean yellow mosaic virus (BYMV – Tp-S11, Tv-T1 and B-6) was tested after mechanical inoculation under greenhouse conditions. Of a total of 26 Kvarta clones under test, six (23.1%) were not infected with any isolate, ten (38.5%) were infected with only one isolate, six (23.1%) with two isolates, and four (15.3%) with all the three isolates. As for the variety Start, seven clones (25.9% out of 27 clones) were uninfected, eleven (40.8%) were infected with one, six (22.2%) with two, and three (11.1%) with three isolates (Table I). Five clones of both varieties resistant to all the three isolates of BYMV were crossed in separate polycrosses. Polycrosses were also made from five clones of both varieties susceptible to at least isolate Tp-S11 of BYMV. The resistance of these progenies was also tested after mechanical inoculation in the greenhouse. The infection of the progeny of resistant clones of the variety Start ranged from 10.0 to 33.3% (the average being 20.9%). In the progeny of susceptible clones of the same variety, it ranged from 83.3 to 96.7% (the average being 90.0%). In the progeny of clones of the variety Kvarta resistant to BYMV, the infection was in the range 0.0–20.0% (the average being 11.3%). In susceptible clones the infection ranged from 93.3–100% (the average being 98%) (Table II). By separate mixing of the resistant or the susceptible progeny of individual varieties germplasms were obtained. The populations of Kvarta and Start, derived by mixing seed progenies of resistant clones, showed a significantly different course of BYMV infection after mechanical inoculation with BYMV in the greenhouse, compared with germ plasms derived by crossing susceptible clones (Fig 1). The percentage of plants with symptoms of infection were considerably lower in germplasms derived from resistant clones of the respective varieties than in germplasms from susceptible clones in all terms of evaluation. After 17 weeks the populations were evaluated as follows: Kvarta resistant – 40.4%, Kvarta susceptible – 90.5%, Start resistant – 9.5%, Start susceptible – 59.5%.

bean yellow mosaic virus; red clover; populations; resistance

Abstrakt: Ve skleníkových podmínkách po mechanické inokulaci byla testována rezistence klonů jetele lučního (*Trifolium pratense*) odrůd Kvarta a Start ke třem izolátům bean yellow mosaic virus (BYMV – Tp-S11, Tv-T1 a B-6). Pět klonů každé z odrůd rezistentních ke všem třem izolátům BYMV bylo kříženo v oddělených polykrosech, polykrosy byly vytvořeny rovněž z pěti klonů obou odrůd náchylných nejméně k izolátu BYMV-Tp-S11. Polykrošní potomstvo jednotlivých klonů rezistentních ke všem třem izolátům BYMV mělo ve skleníkových podmínkách po mechanické inokulaci BYMV výrazně vyšší úroveň rezistence k tomuto viru než potomstvo z náchylných klonů. Odděleným smícháním rezistentních nebo náchylných potomstev jednotlivých odrůd byly získány genové plazmy. Syntetické generace syn-1 pocházející z rezistentních klonů měly u testovaných odrůd rovněž výrazně vyšší úroveň rezistence než ty, které pocházely z náchylných klonů.

virus žluté mozaiky fazolu; jetele luční; populace; rezistence

Virus žluté mozaiky fazolu (bean yellow mosaic virus – BYMV) je nejrozšířenějším virovým patogenem jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) v České republice (Musil, Smrž, 1983) i ve světě (Barnett, Diachun, 1983). Na rostlinách jetele lučního vytváří tento virus příznaky o různé intenzitě – od žlutozelené mozaiky až po rozsáhlé nekrózy a zakrsllost rostlin. Napadení jetele lučního BYMV se nepříznivě projevuje nejenom snižováním výnosů zelené hmoty a semene, ale také snižováním vytrvalosti napadených rostlin, které hynou převážně přes zimní období (Pokorný, 1991).

Šlechtění na rezistenci je nejdůležitější metodou ochrany různých plodin proti virovým chorobám. U jetele lučního Sim et al. (1985) vybírali v několika cyklech screeningu v polních a skleníkových podmínkách rostliny odolné k BYMV a jejich vzájemným křížením získali genovou plazmu VR-1 odolnou k tomuto viru (Leath et al., 1987). Také Taylor et al. (1985) registrovali genovou plazmu jetele lučního, která byla rezistentní k jednomu izolátu BYMV.

BYMV vytváří celou řadu kmenů, které se mohou lišit svojí patogenitou pro jednotlivé populace jetele lučního (Pokorný, 1989a), ale i virulencí pro jednotlivé genotypy (Diachun, Henson, 1960). Proto jsme naši práci zaměřili na selekci klonů jetele lučního rezistentních ke třem izolátům BYMV z České republiky a na tvorbu populací rezistentních k tomuto viru.

MATERIÁL A METODY

Udržování a množení viru, příprava inokula

Izoláty BYMV Tp-S11 a Tv-T1 (Pokorný, 1989a) a B-6 (Jurík, 1981) byly dlouhodobě udržovány v rostlinách jetele lučního. Jednotlivé izoláty viru byly před inokulacemi množeny na hrachu (*Pisum sativum* L.) odrůdy Raman. Příprava inokula a postup mechanické inokulace ve skleníkových podmínkách byly popsány v našich dřívějších pracích (Pokorný, 1989a,b). Při přípravě inokula pro všechny testy byla šťáva z infikovaných rostlin hrachu ředěna fosfátovým pufrům pH 7,0 (1 g rostlinného materiálu na 4 až 6 ml pufru).

Reakce klonů jetele lučního na inokulaci izoláty BYMV

Řízkováním vrcholových částí lodyh náhodně vybraných rostlin jsme získali 26 klonů odrůdy Kvarta a 27 klonů odrůdy Start. Po řádném zakořenění (2 měsíce po odebrání řízků) jsme rostliny sestříhli a na obrůstající listy odděleně mechanicky inokulovali jednotlivé izoláty BYMV – Tp-S11, Tv-T1 a B-6. Každý izolát byl inokulován na dvě rostliny stejného klonu. Inokulace byla provedena čtyřikrát, přičemž mezi první, druhou a třetí inokulací byly čtrnáctidenní intervaly, čtvrtá inokulace následovala měsíc po třetí a rostliny byly týden před ní znovu sestříženy. Po dobu tří měsíců po poslední inokulaci jsme zaznamenávali příznaky virové infekce na jednotlivých klonových částech.

Křížení klonů

Z pěti klonů každé odrůdy, které byly odolné ke všem třem testovaným izolátům ve skleníkových testech, byly sestaveny dva oddělené polykrosy. Další dva polykrosy byly vytvořeny i z klonů náchylných alespoň k izolátu BYMV – Tp-S11. V polykrosu byl každý klon zastoupen čtyřmi částmi. Opylování bylo zajištěno čmeláky skalními (*Bombus lapidarius* L.) (Ptáček, 1987). Semeno jednotlivých klonů bylo sklizeno odděleně.

Test rezistence polykrosního potomstva klonů odrůd Kvarta a Start odolných nebo náchylných k BYMV

Při testování úrovně rezistence semenného potomstva jednotlivých klonů byly rostliny dvakrát inokulovány směsí izolátů BYMV Tp-S11 a Tv-T1, při-

čemž první inokulace proběhla ve fázi dvou pravých lístků, druhá inokulace následovala za šest týdnů na obrůstající listy týden po prvním sestřížení rostlin. Procento rostlin s příznaky infekce a průměrná intenzita příznaků na napadených rostlinách (PIP) vyjadřující stupeň poškození rostlin (P o k o r n ý , 1989b) byly zhodnoceny 83 dní po první inokulaci. Z každého původu bylo inokulováno a hodnoceno 30 rostlin.

Test genových plazem

Smícháním poměrného váhového podílu polykrosního potomstva klonů náchylných nebo rezistentních k BYMV byly vytvořeny čtyři populace (genové plazmy):

- Start náchylná (SN),
- Start rezistentní (SR),
- Kvarta náchylná (KN),
- Kvarta rezistentní (KN).

Každá populace byla v testu rezistence zastoupena 42 rostlinami. Rostliny jetele byly ve skleníku třikrát inokulovány směsí izolátů BYMV Tp-S11 a Tv-T1. První inokulace byla provedena ve fázi dvou pravých lístků, druhá za 2 týdny a třetí 10 týdnů po první inokulaci na obrůstající listy po první seči. Napadení jednotlivých populací bylo hodnoceno 5 týdnů po první inokulaci, další tři hodnocení proběhla ve čtyřtýdenních intervalech.

Statistické hodnocení

Průkaznost rozdílů v napadení polykrosních potomstev a populací byla zjištěna analýzou variance, přičemž data určující procento napadení jednotlivých populací byla transformována arcus sinovou metodou.

VÝSLEDKY

Reakce klonů jetele lučního na inokulaci izoláty BYMV

Z 26 testovaných klonů Kvarty nebylo žádným ze tří izolátů napadeno 6 klonů (tj. 23,1 % z celkového počtu), pouze jedním 10 klonů (38,5 %), dvěma 6 klonů (23,1 %) a všemi třemi izoláty 4 klony (15,3 %). U odrůdy Start nebylo žádným izolátem napadeno 7 klonů (25,9 % z 27 klonů), jedním 11 (40,8 %), dvěma 6 (22,2 %) a třemi 3 (11,1 %) (tab. I). Bezvirózní stav bezpříznakových rostlin byl potvrzen i biologickým testem na hrachu odrůda

I. Reakce klonů jetele lučního odrůd Kvarta a Start na inokulaci třemi izoláty BYMV – Reactions of the clones of red clover cvs. Kvarta and Start to inoculations with three BYMV isolates

Klon ¹	Kvarta			klon	Start		
	izolát ²				izolát		
	Tp-S11	Tv-T1	B-6		Tp-S11	Tv-T1	B-6
1	-	-	-	43	-	-	-
2	Mo	Mo	Mo	44	-	-	-
6	Mo	-	-	45	Mo	-	-
7	-	Mo	-	47	-	-	-
8	-	-	-	48	Mo	Mo	Mo
9	-	-	-	50	-	-	-
13	Mo	Mo	-	51	Mo	-	-
15	Mo	Mo	Mo	52	Mo	Mo	Mo
16	PD	-	-	53	-	Mo	-
17	Mo	Mo	-	54	-	-	Mo
18	Mo	Mo	Mo	55	-	-	-
19	Mo	Mo	Mo	56	-	Mo	-
22	Mo	Mo	-	57	Mo	Mo	Mo
23	Mo	Mo	-	58	Mo	-	-
24	Mo	Mo	-	59	-	Mo	Mo
25	Mo	-	-	60	-	-	-
28	Mo	-	-	61	-	Mo	Mo
29	Mo	-	-	62	Mo	Mo	-
30	Mo	Mo	-	65	Mo	Mo	-
31	-	-	-	66	KL, NŽ	-	-
32	-	-	-	67	Mo	-	-
33	-	-	-	68	Mo	-	-
35	Mo	-	-	69	Mo	Mo	-
36	Mo	-	-	70	Mo	-	-
37	Mo	-	-	71	KL, NŽ	KL, NŽ	-
38	Mo	-	-	75	-	-	Mo
				76	-	-	-

Mo = mozaika – mosaic; KL = kroucení listů – leaf curling; NŽ = nekróza žilek – vein necrosis

PD = úhyn – plant death

¹clone; ²isolate

Raman. Pokud došlo k infekci klonů jednotlivými izoláty BYMV, byly vždy napadeny oba klonové díly, a také příznaky na nich vytvářené byly stejné.

Test rezistence semenného potomstva klonů

V tab. II jsou uvedeny výsledky testu odolnosti semenného potomstva, které bylo vytvořeno v polykrosech 5 rezistentních nebo 5 náchylných klonů jak odrůdy Start, tak i odrůdy Kvarta. U potomstev klonů obou odrůd se projeví výrazné rozdíly v rezistenci k BYMV po mechanické inokulaci ve skleníkových podmínkách. Napadení potomstev rezistentních klonů odrůdy Start se pohybovalo od 10,0 do 33,3 % (průměr 20,9 %), zatímco napadení

II. Reakce polykrosního potomstva klonů jetele lučního Kvarta a Start odolných nebo náchylných k BYMV na infekci tímto virem – Reaction of polycross progeny of the clones of red clover cvs. Kvarta and Start resistant or susceptible to BYMV to infection with this virus

Odrůda ¹	Rezistentní ²			Náchylné ³		
	č. kmene ⁴	procento rostlin s příznaky ⁵	PIP	č. kmene	procento rostlin s příznaky	PIP
Kvarta	1	20,0	1,0	2	100,0	1,0
	8	13,3	1,0	13	96,7	1,2
	9	10,0	1,7	24	93,3	1,0
	32	0,0	–	35	100,0	1,0
	33	13,3	1,0	36	100,0	1,2
	\bar{x}_{KR}	11,3	1,18	\bar{x}_{KN}	98,0	1,0
Start	43	23,3	1,3	48	83,3	1,0
	44	26,7	1,0	62	90,0	1,4
	47	33,3	1,2	65	90,0	1,0
	50	10,0	1,3	67	96,7	1,3
	55	11,1	1,5	68	90,0	1,6
	\bar{x}_{SR}	20,9	1,26	\bar{x}_{SN}	90,0	1,26
	\bar{x}_R	16,1	1,22	\bar{x}_N	94,0	1,15

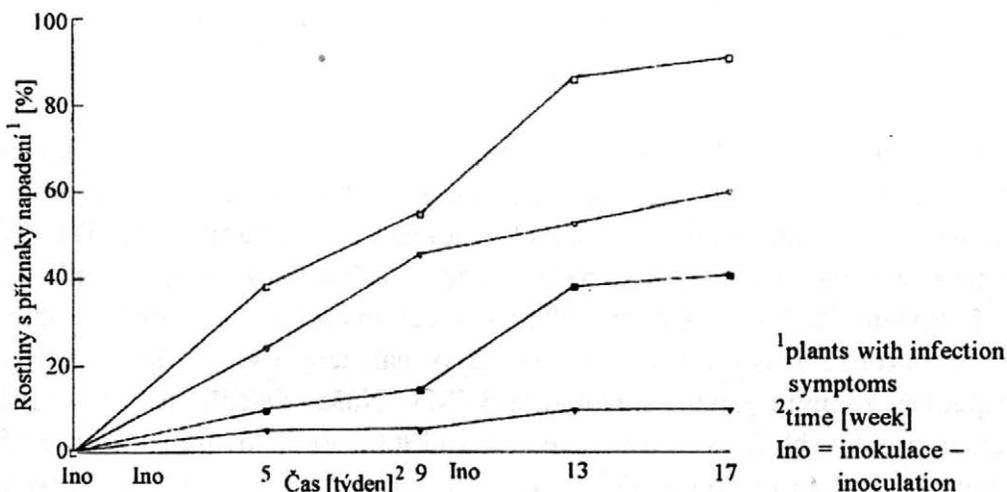
PIP = průměrná intenzita příznaků – average severity of symptoms

¹cultivar; ²resistant; ³susceptible; ⁴strain no.; ⁵percentage of plants with symptoms

potomstev náchylných klonů bylo od 83,3 do 96,7 % (průměr 90,0 %). Byl prokázán statisticky vysoce průkazný rozdíl mezi napadením téměř všech potomstev z rezistentních klonů a potomstvy z náchylných klonů, pouze mezi klony 1 a 24 byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ($F = 25,531$). U potomstev klonů odrůdy Kvarta odolných k BYMV bylo napadení v rozpětí od 0,0 do 20,0 % (průměr 11,3 %) a u náchylných klonů 93,3 až 100 % (průměr 98,0 %), přičemž byl prokázán statisticky vysoce průkazný rozdíl mezi skupinami potomstev pocházejících z rezistentních a náchylných klonů ($F = 104,950$).

Test genových plazem (GP)

Jak je zřejmé z obr. 1, genové plazmy odrůd Kvarta a Start vytvořené smícháním semenných potomstev odolných klonů se po mechanické inokulaci



1. Vývoj systemických symptomů BYMV na rostlinách populací jetele lučního získaných křížením odolných a náchylných klonů odrůd Kvarta a Start – Development of systemic symptoms of BYMV on the plants of red clover populations obtained by crossing resistant and susceptible clones of cvs. Kvarta and Start

BYMV ve skleníku výrazně lišily v průběhu napadení BYMV od populací vzniklých křížením náchylných klonů. Procento rostlin s příznaky napadení bylo u genových plazem vytvořených z odolných klonů příslušné odrůdy vždy výrazně nižší než u plazem z náchylných klonů a po 17 týdnech hodnocení dosáhlo těchto výsledků:

Kvarta rezistentní	– 40,4 %,
Kvarta náchylná	– 90,5 %,
Start rezistentní	– 9,5 %,
Start náchylný	– 59,5 %.

V tomto termínu hodnocení byl zjištěn statisticky vysoce průkazný rozdíl mezi napadením rezistentních a náchylných populací u každé odrůdy, mezi napadením populací pocházejících z náchylných klonů odrůd Start a Kvarta a také mezi napadením populací z rezistentních klonů sledovaných odrůd ($F = 198,106$).

Testované populace se ve všech termínech hodnocení výrazně nelišily v PIP, která se pohybovala v rozmezí 1,1 až 1,3. Je nutné ovšem upozornit, že PIP je pouze pomocným ukazatelem úrovně rezistence, hlavní důraz je kladen na procento napadených rostlin.

DISKUSE

Při šlechtění jetele lučního na odolnost k BYMV je důležité znát, jak reagují šlechtitelské materiály na různé izoláty tohoto viru. U klonů odrůd Kvarta a Start individuálně mechanicky inokulovaných třemi izoláty BYMV jsme pozorovali různou reakci na inokulaci. Nejčastějším projevem infekce byla systémová žlutozelená mozaika na listech rostlin, v menší míře se objevovalo kroucení listů a nekróza žilek. Byly nalezeny i klony, která nebyly napadeny žádným použitým izolátem BYMV. Naše výsledky jsou podobné těm, které dosáhli *Diachun* a *Henson* (1960) při testování rezistence 55 klonů ke čtyřem izolátům BYMV z USA. Na rozdíl od těchto autorů jsme nezískali rostliny s hypersenzitivní lokální reakcí (*Diachun*, *Henson*, 1974), které rovněž mohou být zdroji rezistence. Z těchto prací i našich výsledků tedy vyplývá nutnost používat při výběru materiálů jetele lučního více izolátů BYMV, neboť u genotypů odolných k jednomu či více izolátům může dojít k napadení jinými izoláty, což je známo i u jiných interakcí rostlinný hostitel - virový patogen (*Fraser*, 1986), kdy geny virulence kmene viru překonávají geny rezistence hostitele k jiným kmenům daného viru. Například rezistence genové plazmy jetele lučního GP-52 k izolátu BYMV 204-1 byla překonána izolátem RC (*Taylor et al.*, 1986).

Semenné potomstvo klonů rezistentních ke třem izolátům BYMV křížených v technické izolaci mělo ve skleníkových podmínkách po mechanické

inokulaci směsí dvou izolátů tohoto viru průkazně vyšší úroveň rezistence než semenné potomstvo z náchylných klonů jak u jednotlivě hodnocených potomstev (tab. II), tak i u jejich směsí (genové plazmy) – obr. 1. Tyto výsledky napovídají, že rezistence rostlin jetele lučního k použitým izolátům BYMV je dědičná a že výběr a křížení odolných genotypů může zajistit populace s rezistencí k izolátům BYMV z České republiky. Taylor et al. (1986) na základě celé řady pokusů s izolátem BYMV 204-1 z USA usuzují, že rezistence k tomuto izolátu je děděna dominantně. V Polsku Broda a Fiedorowicz (1984) zjistili, že rezistence k jejich izolátu BYMV je řízena dominantním genem. Výsledky naší práce proto vytvářejí předpoklady pro cílené šlechtění populací jetele lučního rezistentních k BYMV a jejich využití při tvorbě výkonnějších a vytrvalejších odrůd. Získaný materiál může být po křížení v dalších syntetických generacích základem zárodečné plazmy jetele lučního se zvýšenou rezistencí k BYMV. Je žádoucí, aby tato plazma byla otestována vůči velkému počtu izolátů tohoto viru, což vytvoří předpoklady pro trvalejší rezistenci.

Literatura

- BARNETT, O. W. – DIACHUN, S.: Virus diseases of clovers. In: TAYLOR, N. L. (Ed.): Clover Science and Technology. Am. Soc. Agron., Madison, Wisconsin 1983: 235–268.
- BRODA, Z. – FIEDOROWICZ, Z.: Inheritance of red clover (*Trifolium pratense* L.) resistance to bean yellow mosaic virus. *Genetica Polonica*, 25, 1984: 277–281.
- DIACHUN, S. – HENSON, L.: Clones of red clover resistant to four isolates of bean yellow mosaic virus. *Phytopathology*, 50, 1960: 323–324.
- DIACHUN, S. – HENSON, L.: Red clover clones with hypersensitive reaction to an isolate of bean yellow mosaic virus. *Phytopathology*, 664, 1974: 161–162.
- FRASER, R. S. S.: Genes for resistance to plant viruses. *CRC Critical Rev. Plant Sci.*, 3, 1986: 257–294.
- JURÍK, M.: Transmission of nonpersistent virus by aphids carrying a circulative virus. *Plant Virology. Proc. 9th Conf. Czechoslov. Plant Virol.*, 1981: 77–80.
- LEATH, K. T. – ROMAINE, C. P. – HILL, R. R. – SMITH, R. R.: Registration of red clover germplasm VR-1. *Crop Sci.* 27, 1987: 1095–1096.
- MUSIL, M. – SMRŽ, J.: Single and multiple virus infections of plants in the assortment of red clover and white clover. *Proc. IX. Czechoslov. Plant Protect. Conf.*, 1983: 227–228.

POKORNÝ, R.: Patogenita některých izolátů virů žluté mozaiky fazolu a žluté žilkovitosti jetele pro jetel luční. Ochr. Rostl., 25, 1989a: 9–15.

POKORNÝ, R.: Reakce některých odrůd jetele lučního na infekci virem žluté mozaiky fazolu. In: Sbor. Věd. Práci Výzk. šlecht. Úst. pícnin., Troubsko, 11, 1989b: 205–213.

POKORNÝ, R.: Evaluation of resistance of red clover strains to bean yellow mosaic virus and field resistance. [Výzkumná zpráva.] Troubsko, VÚP 12, 1991: 163 – 170.

PTÁČEK, V.: Technická izolace ve výzkumu a šlechtění jetelovin. In: Sbor. Věd. Práci Výzk. šlecht. Úst. pícnin., Troubsko, 10, 1987: 117–128.

SIM, S. T. – LEATH, K. T – ROMAINE, C. P.: Evaluation of red clover for resistance to bean yellow mosaic virus. Plant Dis., 69, 1985: 694–696.

TAYLOR, N. L. – DIACHUN, S. – GHABRIAL, S. A.: Registration of red clover germplasm resistant to bean yellow mosaic virus. Crop Sci., 25, 1985: 714.

TAYLOR, N. L. – GHABRIAL, S. A. – DIACHUN, S. – CORNELIUS, P. L.: Inheritance and backcross breeding of the hypersensitive reaction to bean yellow mosaic virus in red clover. Crop Sci., 26, 1986: 68–74.

Došlo 4. 11. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Radovan Pokorný, Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko u Brna, Česká republika,
tel. 05/432 101 45, fax: 05/432 101 49

POSTGRADUÁLNÍ STUDIUM Z OBORU GENETIKY

PŘÍLOHA ČASOPISU GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ, 31, 1995, ČÍSLO 1

**PERSPEKTIVNÍ SMĚRY VE VÝZKUMU A ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN
NA REZISTENCI K CHOROBÁM***Aleš LEBEDA**Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta, Olomouc, Czech Republic*

Moderní vysoce výkonné odrůdy většiny hlavních polních a zahradních rostlin jsou převážně cíleně prošlechtěny na odolnost k vybraným chorobám. Postrádají však většinou širší genetickou variabilitu a obecnou rezistenci k více patogenům, která je charakteristická pro řadu planých materiálů nebo krajových odrůd. Tento jev, tzv. eroze genů rezistence, byl v posledních letech experimentálně dokumentován u některých plodin (Davis et al., 1990). Hlavní příčinou tohoto stavu byla jednostranná orientace šlechtitelů pouze na určité znaky resp. geny rezistence, přičemž „široké“ genetické pozadí, často doprovázené řadou nepříznivých znaků, bylo ztraceno. Soustředování a studium genových zdrojů je jednou z významných cest výzkumu a šlechtění a tím také návratu k původním neprošlechtěným materiálům. Mezi základní předpoklady úspěšného šlechtění na rezistenci patří znalost genetické variability a účinné metody selekce. Kromě běžných přístupů byly poměrně často využívány k rozšíření genetické variability plané druhy (Lenne, Wood, 1991) a mutační šlechtění (Micke et al., 1987).

Jedním z perspektivních směrů je i aplikace metod buněčné a molekulární biologie rostlin. Základní informace o možnostech využití biotechnologických metod ve šlechtění na rezistenci, dostupné v druhé polovině 80. let, shrnul poměrně podrobně Lebeda (1988). Cílem této práce je volně navázat na již publikované údaje a dát je do kontextu s pokrokem buněčné a molekulární biologie v posledních přibližně pěti letech. Existuje řada nových nebo v poslední době rozpracovaných teoretických a metodických přístupů vycházejících z buněčné a molekulární biologie, které lze rovněž potenciálně využít ve šlechtění rostlin na rezistenci k chorobám.

Tkáňové a buněčné kultury**Somaklonální variabilita**

Rozpracování metod tkáňových a buněčných kultur rostlin (Novák, 1990) vytvořilo předpoklad pro jejich využití ve šlechtění na rezistenci. Rostliny regenerované z buněčných kultur mohou vykazovat určitou variabilitu nejen z hlediska

morfologického, ale i genetického založení rezistence. Genetická podstata somaklonální variability může být způsobena změnami ve struktuře a počtu chromozomů, bodovými mutacemi, mitotickou rekombinací nebo amplifikací, delecí, transpozicí a metylací DNA sekvencí v jaderných, mitochondriálních nebo chloroplastových genomech. Kromě toho může docházet k epigenetickým změnám, které však nejsou geneticky fixovány (Bulk, 1991). Somaklonální variabilitu lze z hlediska rezistence studovat na úrovni intaktních regenerovaných rostlin, kalusů nebo buněčných kultur.

Screening regenerovaných rostlin (somaklonů) *in vivo*

Tento selekční systém byl dosud úspěšně ověřován u více než 40 interakcí hostitel–patogen reprezentovaných asi 20 druhy hospodářsky významných rostlin. U dominantních a homozygotně recesivních znaků lze provádět přímou selekci. U heterozygotních regenerantů mohou být selektovány recesivní znaky v potomstvech. Asi u 50 % studovaných interakcí byla rezistence děděna stabilním způsobem. Rovněž u vegetativně rozmnožovaných plodin (např. brambor) došlo k přenosu rezistence vegetativní reprodukcí. Tento přístup byl úspěšně aplikován u všech skupin patogenů. Poměrně často však bylo nalezení nové rezistence spojeno s expresí agronomicky nevhodných vlastností (např. u rajčat). K odvození nových somaklonů může dojít z náchylných, ale i odolných rostlin (Bulk, 1991). U některých interakcí (např. rajče – *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, TMV) však nebylo dosaženo úspěchu i přesto, že bylo testováno několik tisíc rostlin odvozených ze somaklonů (Bulk et al., 1991). Úspěšnost resp. neúspěšnost této strategie je limitována celou řadou faktorů.

Prašníkové kultury, gametoklonální variabilita

Touto metodou jsou produkovány rostliny v podmínkách *in vitro* z mikrospor (nezralých pylových zrn) nebo prašníků. V populacích těchto rostlin mohou být po jejich diploidizaci nalezeny nové unikátní materiály s novými kombinacemi genů rezistence. Význam této metody spočívá v tom, že mohou být nalezeny nové kombinace genů v menším počtu individuí, než je tomu v diploidní populaci. Rovněž je možná přímá selekce recesivních genů. V literatuře je doloženo několik příkladů získání rezistentních rostlin tímto způsobem. U ječmene se jedná o rezistenci k BAYMV (Foroughi-Wehr, Wenzel, 1990), u tabáku byla získána linie s odolností k PVY (Witherspoon et al., 1991).

Somatická hybridizace

Použití metod somatické hybridizace může být rovněž přímo kombinováno se selekcí *in vitro* v případě exprese rezistence na buněčné úrovni. Sjödin a Glimeluis (1989) popsali přenos rezistence k *Phoma lingam* z několika druhů rodu

Brassica do *B. napus*. Produkty fúze s rezistencí k *P. lingam* byly selektovány *in vitro* pomocí toxinu sirodesminu PL.

Dosud získané výsledky v oblasti somatické hybridizace ukazují, že zvláště asymetrická somatická hybridizace může sehrát významnou roli v přenosu rezistence z planých druhů rostlin. Jde především o případy, kde klasické metody mezidruhově hybridizace selhávají. Jako příklad lze uvést zástupce čeledi Cucurbitaceae (Lebeda et al., 1993).

Selekce *in vitro* pomocí toxinů

Selekční tlak může být vyvíjen na tkáňové a buněčné kultury. Jedná se o zajímavý metodický přístup, neboť může být testováno velké množství individuí na poměrně malém prostoru. Toxické metabolity (toxiny, filtráty) patogenů (bakterií, hub) byly v posledních letech předmětem intenzivního studia z hlediska jejich využití v selekci na rezistenci. Screening byl prováděn na úrovni kalusů, ale i jednotlivých buněk. V poměrně malém rozsahu byl tento výzkum spojen se studiem genetické podstaty rezistence získaných materiálů (Bulk, 1991).

Základní myšlenkou použití toxinů je selekce regenerantů rostlin se zvýšenou hladinou rezistence. Hostitelsky specifické toxiny byly použity v řadě selekčních experimentů a u některých systému se podařilo demonstrovat závislost mezi stupněm citlivosti na buněčné úrovni a rezistencí regenerovaných intaktních rostlin (Ishida, Kumashiro, 1988). V řadě případů (např. toxin z *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*/rajče) však byl prokázán také opačný efekt, na buněčné úrovni k expresi nedocházelo (Witsenboer et al., 1988).

Selekce *in vitro* pomocí filtrátů

V mnoha selekčních experimentech byly rovněž použity filtráty z kultur bakterií a hub. Například při práci s filtráty z bakterie *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* u broskvoní bylo dosaženo pozitivního efektu (Hammerschlag, 1988). Ze série dalších pokusů však vyplývá, že použití filtrátů má spoustu úskalí, neboť ve filtrátech je často obsažena řada doprovodných látek (např. látky auxinové povahy), jež mají vliv na buněčné kultury, ale přitom se nepodílejí na procesu patogeneze a na expresi symptomů.

Selekce pomocí toxinů na úrovni populací mikrospor a pylových zrn

Selekci na rezistenci lze provádět nejen u rostlin odvozených z prašnickových kultur, ale i přímým působením na mikrospory nebo pylová zrna. V pokusech s pylem rajčat bylo prokázáno, že toxiny produkované *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* inhibovaly klíčení a růst láček *in vitro*. Zajímavé je, že pyl z náchylných genotypů byl podstatně citlivější vůči toxinům než pyl z odolných rostlin (Bino et

al., 1988). Obdobné pokusy byly prováděny i u řepy a některých druhů rodu *Brassica* ve vztahu k inhibičnímu efektu houbových toxinů. Obecně se ukazuje, že i u samčího gametofytu dochází k určité expresi rezistence, což může být zajímavé z teoretického i praktického hlediska.

Metody molekulární genetiky ve šlechtění na rezistenci

Molekulární biologie, ale i molekulární fytopatologie dosáhly v posledních deseti letech převratného pokroku. Týká se to zejména charakteristiky genů rezistence a virulence i poznání obranných mechanismů rostlin. Poznatky zásadního charakteru jsou k dispozici zejména u některých modelových systémů: *Brassica/Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Lactuca sativa/Bremia lactucae*, *Lycopersicon esculentum/Cladosporium fulvum* (Wit, 1992).

Základní metodický postup při využití metod molekulární genetiky ve šlechtění na rezistenci obecně spočívá ve znalosti genetiky daného znaku, izolaci genů(u), jejich klonování a přenosu do rostlinných buněk, detekci transformantů, regeneraci transgenních rostlin a genové expresi *in vivo* (Lebeda, 1988). V současné době je v rámci rostlinných biotechnologií k dispozici neobyčejně široká škála metodických přístupů, které lze využít k produkci rostlin odolných k virům, bakteriím a houbám (Chet, 1993; Ondřej, 1992; Webb, Morris, 1992). Zatím se však nepodařilo zvládnout proces genetické transformace u všech hospodářsky významných rostlin (tab. I).

I. Hlavní světové plodiny, u nichž bylo nebo nebylo dosaženo úspěchu při jejich transformaci metodami genového inženýrství (upraveno podle práce Hilder et al., 1992)

Produkce transgenních rostlin	Nepotvrzené zprávy o úspěchu	Transgenní rostliny dosud nepublikovány
Rýže	kasava	pšenice
Kukuřice	sladké brambory	cukrová třtina
Brambor	fazol	kávovník
Bavlník		podzemnice
Réva vinná		citrusovník
Tabák		oliva
Soja		hrách
Cukrová řepa		kakaovník
Jabloň		
Rajče		

Rezistence k virům

Většina rostlinných virů patří do skupiny virů s jednovláknovou molekulou RNA. Tato molekula přímo působí jako templátová pro syntézu proteinů. V poslední době byl vypracován biotechnologický přístup podmiňující rezistenci rostlin vůči virům, který je založen na expresi genu plášťového proteinu viru, jenž je lokalizován v genomu rostlin (coat protein-mediated virus resistance). Dosud se jedná o jediný biotechnologický přístup spolehlivě zabezpečující rezistenci rostlin k různým virům. Celá strategie je založena na principu křížové ochrany (cross protection), při níž rostlina infikovaná slabým kmenem viru je chráněna proti infekci silnějšími kmeny stejného viru. Zásadní úlohu na tomto efektu má plášťový protein. Transfer a exprese genů VCP v rostlině způsobuje zastavení množení viru a vývoj symptomů (Powell-Abel et al., 1986). U modelových druhů rostlin (tabák, brambor, rajče) byla takto získána rezistence k řadě virů. Tento mechanismus je značně specifický a je efektivní vůči virům, jež mají velkou homologii (cca 50%) v sekvenci aminokyselin jejich plášťových proteinů. Jedná se o skutečnou rezistenci, která z hlediska genetického má monogenně dominantní charakter (Stiekema et al., 1993). Vzhledem k tomu, že mechanismus CPMR působí na úrovni proteinů, není efektivní vůči RNA virům bez pláště (Beachy et al., 1990). V posledních letech jsou s CPMR rostlinami prováděny i polní pokusy.

Kromě dosud nejrozšířenější CPMR strategie se uvažuje v posledních letech o mnoha dalších. Patří mezi ně zejména využití: satelitní RNA, defektních interferenčních RNA molekul, antimediátorové RNA, rybozymů (hybridní RNA molekuly obsahující satelitní RNA pro specifické cílování). Využití těchto strategií u transgenních rostlin je však dosud relativně málo rozpracováno (Reavy, Mayo, 1992).

Rezistence k bakteriím

Podle dostupných údajů byla do roku 1993 publikována pouze jedna zpráva o přenosu rezistence (tolerance) vůči fytopatogenním bakteriím (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) pomocí biotechnologických metod (Anzai et al., 1989). Tato bakterie produkuje dipeptidový toxin tabtoxin, který u náchylných rostlin tabáku inhibuje glutamin syntetázu, což vede k nadprodukcí amoniaku a k odumírání buněk. Transferem bakteriálního genu do rostlin tabáku, jenž kóduje acetyltransferázu, která chrání bakterii před vlastním tabtoxinem, bylo dosaženo tolerance k tomuto patogenu. Acetyltransferáza má pouze detoxifikační účinek, nezabraňuje však množení bakterie.

Další možnou metodou ochrany proti bakteriálním chorobám je přenos genů kódujících antibakteriální proteiny. Mezi tyto peptidy patří například lysozomy, cytolytické peptidy, thioniny. Lysozomy projevují lytickou aktivitu vůči stěně

bakteriální buňky a byly lokalizovány v několika druzích rostlin. Největší prokázaná aktivita lysozymu je známa u bakteriofágu T4, jež je velmi účinný proti gram-negativním i gram pozitivním bakteriím. Introdukce a exprese genu T4 lysozymu u brambor může být efektivní vůči *Erwinia carotovora*, neboť u této bakterie je znám receptor pro tento enzym (Pirhonen, Palva, 1988).

Druhou skupinu představují cytolytické peptidy vytvářející póry, jež se váží na bakteriální membrány a tvoří v nich póry, což má za důsledek vznik iontové nerovnováhy a následnou osmotickou lýzu buňky. Tyto antibakteriální proteiny jsou součástí humorálního imunitního systému hmyzu (Boman, 1991). Kromě tohoto příkladu patří do této skupiny další proteiny, jako například cekropiny, attaciny, magaininy, apidaeciny. Všechny tyto proteiny mají původ v živočišné říši.

Thioniny jsou třetí skupinou antibakteriálních proteinů, jež jsou kódovány v rostlinách a působí toxicky na buněčné membrány. Součástí této skupiny jsou například viscotoxin, pyricularia toxin a krambin. Nejvýznamnější thioniny jsou však známy v obilovinách. Purothioniny byly izolovány z endospermu pšenice, hordothioniny z endospermu ječmene, některé další jsou známy i z listů obilovin (Florack et al., 1990). V současné době probíhají experimenty s introdukcí genů kódujících hordothioniny do tabáku a rajčat. Díky dobré znalosti nukleotidové sekvence (Garcia-Olmedo et al., 1989) byly konstruovány semisyntetické geny kódující tento toxin. Transformací pomocí *Agrobacterium tumefaciens* byly tyto geny introdukovány do tabáku a brambor, přičemž byla prokázána jejich exprese. Testováním transformovaných rajčat byla potvrzena jejich rezistence vůči *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Stiekema et al., 1993).

Rezistence k houbám

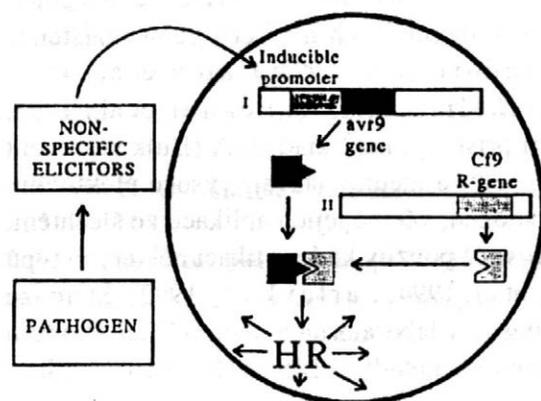
V oblasti využití molekulárně genetických metod ve šlechtění na rezistenci k houbám existuje řada přístupů. Mezi nejčastěji diskutované a používané koncepce lze zahrnout, jak uvádí Wit (1992):

- a) „map-based“ klonování,
- b) klonování transpozon nebo T-DNA tagging,
- c) klonování genů kódujících receptory rasově specifických elicitorů,
- d) klonování funkčním doplňováním.

Většina individuálních (pouze jedna složka patosystému) nebo komplexních (hostitel i patogen) studií byla dosud zaměřena na vývoj metod transformace a genetické manipulace u interakcí gen proti genu. Bohužel ve většině systémů nebyl zatím učiněn zásadní pokrok, neboť jeden nebo obě partnerské složky jsou obtížně transformovatelné (Wit, 1992). I když u hub bylo v posledních letech dosaženo řady úspěchů (Leong, Holden, 1989), u obligátních parazitů je metodologie transformace stále velkým problémem. První výrazný úspěch byl zaznamenán

u *Phytophthora infestans* (Judelson et al., 1991). V této práci není možné se detailně zabývat uvedenými přístupy.

Z dostupných informací je zřejmé, že většina současných strategií je založena na introdukci genů kódujících antimikrobiální proteiny s chitinázovou nebo 1,3- β -glukanasovou aktivitou, případně jiné. Většina těchto proteinů je indukována patogeny. Rostliny s těmito geny mohou být odolné pouze vůči určitým patogenům. Rovněž je známo, že v interakcích gen proti genu je rezistence často založena na jevu hypersenzitivní reakce (HR), jež je indukována rasově specifickým elicitorem produkovaným genem (geny) avirulence. Právě na introdukci HR je založena jedna z nejnovějších molekulárně genetických strategií. Jde o tzv. two component sensor system, který spočívá na introdukci, resp. kombinaci rasově specifického genu avirulence a komplementárního genu rezistence se specifickým receptorem v jedné rostlině, resp. genomu (Wit, Kan, 1993). Takto konstruovaná rostlina má genetický předpoklad k HR, pokud dojde k expresi obou genů. Ke koordinaci působení obou genů je nezbytná přítomnost regulačního promotoru, jenž je indukován patogenem a účinkuje rychle a lokálně. Promotor musí být indukován nesespecifickým elicitorem patogena. V tomto případě pak může TCSS zabezpečit rezistenci k širokému spektru patogenů (obr. 1). Tento teoretický přístup je nyní předmětem experimentální práce u modelového objektu *Lycopersicon esculentum* – *Cladosporium fulvum* (Wit, Kan, 1993).



1. Model indukce hypersenzitivní reakce (HR) v senzorem systému dvou komponent, který je založen na komplementárních genech *avr9* – *Cf9* (*Cladosporium fulvum* – *Lycopersicon esculentum*)

Celý systém je v jednom genomu (představován kružnicí) a je reprezentován senzorem (gen avirulence *avr9*, jež je kontrolován patogenem indukovatelným promotorem) a efektořem (gen rezistence *Cf9*). Fúze promotoru s genem *avr9* je aktivována indukcí nesespecifickým elicitorem patogena. Gen *avr9* produkuje peptidový elicitore, který interaguje s produktem genu *Cf9*, což vede k aktivaci HR (Wit, 1992).

Molekulární markery ve šlechtění na rezistenci

Ve výzkumu a šlechtění na rezistenci jsou stále více využívány některé nové molekulárně genetické přístupy. Jedná se především o RFLP (Restriction fragment

II. Přehled nejvýznamnějších plodin a jejich znaků modifikovaných metodami genetického inženýrství, u nichž byly v letech 1989–1992 podány přihlášky, resp. byly povoleny v USA ke komerčnímu využití (upraveno podle práce Witcombe, 1992)

Plodina	Znak/Počet přihlášek, resp. povolení					
	rezistence			ostatní choroby	obsahové látky	ostatní znaky
	herbicidy	viry	hmyz			
Brambor	3	10	8	10	7	8
Rajče	2	19	9	1	–	10
Bavlník	22	–	12	–	2	–
Kukuřice	20	4	3	–	–	4
Sója	30	–	–	–	2	–
Tabák	1	6	8	2	–	6
Meloun	–	13	–	–	–	–
Vojtěška	3	6	–	–	–	1

length polymorphism), RAPD (Random amplified polymorphic DNA), PCR (Polymerase chain reaction). Tyto metody, jež v podstatě studují polymorfismus genomové DNA, jsou využívány k detekci molekulárních markerů genů rezistence a virulence, včetně jejich mapování (Figdore et al., 1993; Haley et al., 1993; Jones, Dunkle, 1993; Paran, Michelmore, 1993; Penner et al., 1993; Samec, 1993). V kombinaci s dalšími přístupy, například BSA (Bulk segregant analysis) (Michelmore et al., 1991) se tyto metody stávají vysoce efektivním nástrojem výzkumu interakce hostitel-patogen, včetně jejich aplikace ve šlechtění. Izoenzymy a RFLP markery mohou být rovněž použity k identifikaci některých typů rezistence (polní rezistence) (Lebeda et al. 1994; Parlevliet, 1992), které lze obtížně determinovat infekčním screeningem v laboratorních podmínkách. Pro tyto účely je rovněž možné využít i imunologické metody (ELISA) (Newton, Thomas, 1993).

Závěr

Z uvedených poznatků je zřejmé, že z hlediska teoretické základny a metodických přístupů je i šlechtění na rezistenci stále více ovlivňováno nekonvenčními a molekulárně genetickými aspekty. Výrazného pokroku bylo dosaženo v rozpracování nových selekčních metod v kulturách *in vitro*. Nebývalý rozvoj molekulární biologie a genetiky rostlin a vybraných patogenů dává dobrý předpoklad k využití

těchto poznatků v praktickém šlechtění. Dopad těchto technik v zemědělské praxi je zatím poměrně malý, ale v dohledné době se očekává zásadní zvrát i v této sféře (Harms, 1992). Například v USA bylo jen v letech 1989 až 1992 povoleno nebo podáno více než 250 žádostí o registraci a následně možnost komerčního využití geneticky modifikovaných rostlin. Největší zastoupení přitom mají rostliny s rezistencí k herbicidům a virovým chorobám (tab. II). Z hlediska druhového zastoupení jsou na prvních místech brambory a rajčata (Witcombe, 1992).

Použité zkratky

VCP – plášťový protein viru (virus coat protein)

CPMP – rezistence zprostředkovaná VCP (coat protein mediated resistance)

TCSS – senzorový systém dvou komponent (two component sensor system)

Literatura

ANZAI, H. – YONEYAMA, K. – YAMAGUCHI, I.: Transgenic tobacco resistant to a bacterial disease by the detoxification of a pathogenic toxin. *Mol. Gen. Genet.*, 219, 1989: 492–494.

BEACHY, R. N. – LOESCH-FRIES, S. – TUMER, N. E.: Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 28, 1990: 451–471.

BINO, R. J. – FRANKEN, J. – WITSENBOER, H. M. A. – HILLE, J. – DONS, J. J. M.: Effects of *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxins on pollen. *Theor. Appl. Genet.*, 76, 1988: 204–208.

BOMAN, H. G.: Antibacterial peptides: key components needed in immunity. *Cell*, 65, 1990: 205.

BULK, R. W., van den: Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding – a review. *Euphytica*, 56, 1991: 269–285.

BULK, R. W., van den – JANSEN, J. – LINDHOUT, W. H. – LÖFFLER, H. J. M.: Screening of tomato somaclones for resistance to bacterial canker (*Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense*). *Plant Breed.*, 107, 1991: 190–196.

DAVIS, D. W. – ENGELKES, C. A. – GROTH, J. V.: Erosion of resistance to common leaf rust in exotic-derived maize during selection for other traits. *Phytopathology*, 80, 1990: 339–342.

FIGDORE, S. S. – FERREIRA, M. E. – SLOCUM, M. K. – WILLIAMS, P. H.: Association of RFLP markers with trait loci affecting clubroot resistance and morphological characters in *Brassica oleracea* L. *Euphytica*, 69, 1993: 33–44.

FLORACK, D. E. A. – VISSER, L. – VLOTEN-DOTING, L., van – HEIDEKAMP, F. – STIEKEMA, W. J.: Synthetic hordothionin genes as tools for bacterial disease

resistance breeding. In: DEKKERS, J. J. – PLAS, H. C. van der – VUIJK, D. H. (Eds.): Agricultural biotechnology in focus in the Netherlands. Wageningen, Pudoc 1990: 39–48.

FOROUGH-WEHR, B. – WENZEL, G.: Recurrent selection alternating with haploid steps - a rapid breeding procedure for combining agronomic traits in inbreeders. Theor. Appl. Genet., 80, 1990: 564–568.

GARCIA-OLMEDO, F. – RODRIGUEZ-PALENZUELA, P. – HERNANDEZ-LUCAS, C. – PONZ, F. – MARAÑA, C. – CARMONA, M.-J. – LOPEZ-FANDO, J. – FERNANDEZ, J. A. – CARBONERO, P.: The thionins: a protein family that includes purothionins, viscotoxins and crambins. In: Oxford Surveys of Plant Molecular and Cellular Biology, 6, 1989: 31–60.

HALEY, S. D. – MIKLAS, P. N. – STAVELY, J. R. – BYRUM, J. – KELLY, J. D.: Identification of RAPD markers linked to a major rust resistance gene block in common bean. Theor. Appl. Genet., 86, 1993: 505–512.

HAMMERSCHLAG, F. A.: Selection of peach cells for insensitivity to culture filtrates of *Xanthomonas campestris* pv. *pruni* and regeneration of resistant plants. Theor. Appl. Genet., 76, 1988: 865–869.

HARMS, Ch. T.: Engineering genetic disease resistance into crops: biotechnological approaches to crop protection. Crop Protection, 11, 1992: 291–306.

HILDER, V. A. – BOULTER, D. – GATEHOUSE, A. M. R.: Introduction. In: GATEHOUSE, A. M. R. – HILDER, V. A. – BOULTER, D. (Eds.): Plant Genetic Manipulation for Crop Protection. C.A.B. International, Wallingford (UK), 1992: 1–6.

CHET, I. (Ed.): Biotechnology in Plant Disease Control. New York, Wiley-Liss Publ. 1993.

ISHIDA, Y. – KUMASHIRO, T.: Expression of tolerance to the host-specific toxin of *Alternaria alternata* (AT toxin) in cultured cells and isolated protoplasts of tobacco. Plant Dis., 72, 1988: 892–895.

JONES, M. J. – DUNKLE, L. D.: Analysis of *Cochliobolus carbonum* races by PCR amplification with arbitrary and gene-specific primers. Phytopathology, 83, 1993: 366–370.

JUDELSON, H. S. – TYLER, B. M. – MICHELMORE, R. W.: Transformation of the Oomycete pathogen, *Phytophthora infestans*. Molec. Plant-Micr. Inter., 4, 1991: 602–607.

LEBEDA, A.: Biotechnologické přístupy a strategie šlechtění. In: LEBEDA, A. (Ed.): Šlechtění rostlin na odolnost k chorobám. Sbor. ČSAZ 120, 1988: 66–88.

LEBEDA, A. – KŘÍSTKOVÁ, E. – KUBALÁKOVÁ, M. – HAVLICKÝ, T. – VAGER, J. – BĪNAROVÁ, P.: Biotechnologické metody ve šlechtění tykvovitých zelenin. Rostl. Výr., 39, 1993: 171–179.

LEBEDA, A. – KŘÍSTKOVÁ, E. – PRÁŠIL, J. – DOLEŽEL, J. – DOLEŽAL, K. – FELLNER, M. – KUBALÁKOVÁ, M. – VAGER, J. – KOZELSKÁ, S.: Využití biotechnologických a fytopatologických metod ve šlechtění tykvovitých zelenin. In:

- GRIGA, M. – DOSTÁL, J. (Eds.): Sbor. Sem. projektů R 329-103 „Biotechnologie – výzkum a využití ve šlechtění kulturních rostlin“, Z 660 „Experimentální metody v geneticko-šlechtitelském procesu kulturních rostlin“. Průhonice, VÚOZ 1994: 52–59.
- LENNE, J. M. – WOOD, D.: Plant diseases and the use of wild germplasm. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 29, 1991: 35–63.
- LEONG, S. A. – HOLDEN, D. W.: Molecular genetic approaches to the study of fungal pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 27, 1989: 463–481.
- MICHELMORE, R. W. – PARAN, I. – KESSELI, R. V.: Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions using segregating populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 88, 1991: 9828–9838.
- MICKE, A. – DONINI, B. – MALUSZYNSKI, M.: Induced mutations for crop improvement – a review. *Trop. Agric.*, 64, 1987: 259–278.
- NEWTON, A. C. – THOMAS, W. T. B.: Evaluation of sources of partial resistance to mildew in barley using enzyme-linked immunosorbent assay and other assessment methods. *Euphytica*, 66, 1993: 27–34.
- NOVÁK, F. J.: Explantátové kultury a jejich využití ve šlechtění rostlin. Praha, Academia 1990.
- ONDŘEJ, M.: Genové inženýrství kulturních rostlin. Praha, Academia 1992.
- PARAN, I. – MICHELMORE, R. W.: Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. *Theor. Appl. Genet.*, 85, 1993: 985–993.
- PARLEVLIET, J. E.: Selecting components of partial resistance. In: STALKER, H. T. – MURPHY, J. P. (Eds.): *Plant breeding in the 1990s*. C.A.B International, Wallingford (UK), 1992: 281–302.
- PENNER, G. A. – CHONG, J. – WIGHT, C. P. – MOLNAR, S. J. – FEDAK, G.: Identification of an RAPD marker for the crown rust resistance gene Pc68 in oats. *Genome*, 36, 1993: 818–820.
- PIRHONEN, M. – PALVA, E. T.: Occurrence of bacteriophage T4 receptor in *Erwinia carotovora*. *Mol. Gen. Genet.*, 214, 1988: 170–172.
- POWELL-ABEL, P. – NELSON, R. S. – DE, B. – HOFFMAN, N. – ROGERS, S. G. – FRALEY, R. T. BEACHY, R. N.: Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232, 1986: 738–743.
- REAVY, B. – MAYO, M. A.: Genetic engineering of virus resistance. In: GATEHOUSE, A. M. R. – HILDER, V. A. – BOULTER, D. (Eds.): *Plant genetic manipulation for crop protection*. C.A.B. International, Wallingford (UK), 1992: 183–214.
- SAMEC, P.: DNA polymorphism and RAPD technology. *Genet. a Šlecht.*, 29, 1993: 291–320.

- SJÖDIN, C. – GLIMELIUS, K.: Transfer of resistance against *Phoma lingam* to *Brassica napus* by asymmetric somatic hybridization combined with toxin selection. *Theor. Appl. Genet.*, 74, 1989: 513–520.
- STIEKEMA, W. J. – VISSER, B. – FLORACK, D. E. A.: Is durable resistance against viruses and bacteria attainable via biotechnology. In: JACOBS, Th. – PARLEVLIE, J. E. (Eds.): Durability of disease resistance. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers 1993: 71–81.
- WEBB, K. J. – MORRIS, P.: Methodologies of plant transformation. In: GATEHOUSE, A. M. R. – HILDER, V. A. – BOULTER, D. (Eds.): Plant genetic manipulation for crop protection. C.A.B. International, Wallingford (UK), 1992: 7–44.
- WIT, P. J. G. M., de: Molecular characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 30, 1992: 391–418.
- WIT, P. J. G. M., de – KAN, J. A. L., van: Is durable resistance against fungi attainable through biotechnological procedures? In: JACOBS, Th. – PARLEVLIE, J. E. (Eds.): Durability of disease resistance. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers 1993: 57–70.
- WITCOMBE, J. R.: Overseas aid for biotechnology in agriculture. *Outlook on Agriculture*, 21, 1992: 189–195.
- WITHERSPOON, W. D. – WERNSMAN, E. A., Jr – GOODING, G. V. – RUFTY, R. C.: Characterization of a gametoclonal variant controlling virus resistance in tobacco. *Theor. Appl. Genet.*, 81, 1991: 1–5.
- WITSENBOER, H. M. A., SCHAİK, C. E., van – BINO, R. J. – LÖFFLER, H. J. M. – NIJKAMP, H. J. J. – HILLE, J.: Effects of *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxins at different levels of tomato plant cell development. *Plant Sci.*, 56, 1988: 253–260.

*A. Lebeda (University of Palacký, Faculty of Natural Sciences,
Department of Botany, Olomouc, Czech Republic)*

Perspectives of plant disease resistance research and breeding

This review highlights the recent progress in application of biotechnology in resistance plant breeding. There are three most important areas, i.e. plant tissue and cell culture in resistance breeding; genetically engineered resistance against viruses, bacteria and fungi; use of molecular markers in plant breeding.

Selection for disease resistance through cell and tissue culture made substantial advances. Somaclonal and gametoclonal variation offers an opportunity to broaden the genetic variation. There are available procedures for resistance selection *in vit-*

ro with toxins and culture filtrates at the plant, tissue, pollen and cell level. Protoplast fusion may generate symmetric and asymmetric hybrids with new disease resistance traits.

Resistance breeding and plant pathology is rapidly expanding to the application of molecular approaches. Genetically engineered resistance against viruses has been established in some plant species (potato, tobacco, tomato) by the expression of the viral genome encoding the viral coat protein. Transgenic plants with tolerance to plant pathogenic bacteria has also been reported. The strategy is based on inactivation of toxin and/or expression of bactericidal toxins and lytic enzymes in transgenic plants. In the area of plant resistance to fungi a strategy is demonstrated of the two component sensor system, which is based on combining both the resistance and the complementary avirulence genes in one genome of transgenic plants. The background of this strategy is on induction of hypersensitive response.

Use of molecular markers in resistance breeding is rapidly expanding. The polymorphism in the DNA base sequence in the host and pathogen populations is studied by various methods, e.g. RFLP, RAPD, PCR. Study of DNA markers will be a very important methodological approach in plant breeding for resistance in near future.

Kontatní adresa:

Doc. ing. Aleš Lebeda, DrSc., Univerzita Palackého, Přírodovědecká fakulta,
katedra botaniky, 772 36 Olomouc-Holice, Česká republika, tel.: 068/522 83 54,
fax.: 068/522 83 54

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Symposium „Perspektivy šlechtění obilnin v Evropě“

Ve dnech 4. až 7. září 1994 se v Plantahofu-Landquart ve Švýcarsku konalo symposium věnované perspektivám šlechtění obilnin v Evropě. Bylo pořádáno obilnářskou sekci společnosti EUCARPIA.

Prvním tematickým okruhem byly **nové metody ve šlechtění obilnin**. Současný stav a perspektivy jednotlivých oblastí biotechnologií rozebral v úvodním referátu B. Keller (Reckenholz, Švýcarsko). Široké uplatnění ve šlechtění skýtají genetické markery. Slouží pro zjišťování genetické odlišnosti materiálu, pro detekci genů a jejich záměrnou kumulaci (zvláště ve šlechtění na trvalou rezistenci k chorobám), při výběru během zpětných křížení, zjišťování lokusů odpovídajících za kvantitativní znaky (QTL), při identifikaci odrůd, směsí a kontrole jakosti. Problémem uplatnění bývá nižší diverzita na základě RFLP markerů, zvláště u genomu D *Triticum aestivum* L. Úspěchy jsou evidentní při přenosu genů z příbuzných i vzdálenějších druhů do pšenice obecné (M. M. Messmerová, Reckenholz). Novým aspektem zdůrazněným na sympoziu bylo využití komparativních studií genomů na základě RFLP markerů (D. Laurie, Norwich, Anglie). Tyto studie odhalily shodu v lokalizaci některých genů (*Vrn*, *Ppd*) u pšenice a ječmene.

Na úseku rostlinných transformací dosud existují značné rozdíly v úspěšnosti u jednotlivých plodin i v přenášených genech. Nejvíce úspěchů bylo dosaženo u rýže (o programu transformací rýže pro rozvojové země referoval I. Potrykus, Curych), dále následuje kukuřice, ječmen a na posledním místě je pšenice. Transformací se nejdříve podařilo získat odolnost rostlin k herbicidům. Programy univerzity v Hamburku (A. Jähneová) sledují získání transformantů s geny pro zlepšení jakosti a rezistence k chorobám u pšenice, tritikale a tritordea. Geny pro termostabilní enzymy se podařilo přenést u ječmene (K. K. Thomsen, Kodaň). Z technik je nyní nejvíce využíváno ostřelování tkání, s nejlepšími výsledky u nezralých embryí (L. Crossland, Triangle Park, USA).

Poněkud chudší na tomto sympoziu bylo zastoupení referátů pojednávajících o využití produkce dihaploidů (J. E. Schmid, Lindau, Švýcarsko; I. Belchev, General Toševo, Bulharsko; Z. Kertes, Szeged, Maďarsko). Současné výsledky výzkumu ukazují, že úspěšnost produkce dihaploidních rostlin lze mj. zvýšit vhodnými zásahy do pěstování donorových rostlin i složením kultivačního média. Výrazný efekt měl chladový zásah (10 °C po 10 dní) v kombinaci s L-prolinem.

Pracoviště v Szegedu informovalo o vyšlechtění dihaploidní odrůdy pšenice GK-Delibab.

H. Geiger (Stuttgart) referoval o významu rekurentní selekce u samosprašných plodin. Aktualizováno bylo rovněž šlechtění hybridní pšenice na široké bázi a s využitím účinných chemických gametocidů (firma HYBRINOVA, Francie).

Nové metody, jako tvorba dihaploidních linií a využití markerů, otevřely cestu k pohotovějšímu získání zdrojů zlepšené jakosti zrna. Zvláště se uplatňuje elektroforéza gluteninů, ale hledají se další cesty přes molekulární, genetické markery (E. Porceddu, Viterbo, Itálie). V Maďarsku se ve šlechtění potravinářské pšenice významně uplatnily některé starší odrůdy, např. Bánkúti 1201 (Z. Bedő, Martonvásár). Přehledem výsledků šlechtění pšenice v Bulharsku na jakost zrna a produktivitu byl referát I. Panayotova (General Toševo). Český příspěvek (J. Hrubý a kol., Hrušovany) byl analýzou komponent sladařské kvality ječmene. Vzhledem k vysoké interakci s prostředím se zdůrazňuje význam optimalizace pěstební technologie.

Široké zastoupení měl na sympoziu úsek **šlechtění na rezistenci**. C. H. A. Snijders (Wageningen, Holandsko) rozebral v úvodním příspěvku možnosti zvýšení efektivnosti výběru na rezistenci k chorobám u obilnin. Zkrácení doby tvorby homozygotních linií (o 2–4 roky) umožňuje využití dihaploidních linií či jednozrnkové metody (SSD) v procesu šlechtění. Markerovací systémy RFLP i PCR jsou atraktivní pro introdukci jak monogenní, tak polygenní rezistence. Selektce *in vitro* na hostitelsky specifické toxiny byla úspěšná u helminthosporióz ovsa, pšenice a ječmene a jeví se progresivní i pro dosažení rezistence k *Septoria nodorum*. Naproti tomu selektce na *Fusarium* – toxin deoxynivalenol nevedla k úspěchu (nebyla korelace s rezistencí rostlin).

Využití transformací pro dosažení rezistence k chorobám je zatím v začátcích, i když je hlášena celá řada úspěchů. Ve šlechtění na rezistenci, zvláště ke rzím a k padlí travnímu, je cílem nakupení efektivních genů. M. Winzeler (Reckenholtz) referoval o využití polymorfismu endopeptidas (alela Ep-D1c) k přenosu genu rezistence ke rzi pšeničné (*Lr 19*). Genetické markery RAPD byly využity pro kumulaci dalších genů (*Lr 9* a *Lr 24*). Založení rezistence více geny (trvalejší) je předmětem snah také u *Pseudocercospora herpotrichoides* u pšenice, kde je gen *Pch-1* z *Aegilops ventricosa* sice stále efektivní, ale rezistence není kompletní (V. Lind, Grünbach, Německo).

L. Szunics (Martonvásár) informoval o změnách ve virulenci ras padlí travního u pšenice. Efektivní rezistenci zajišťuje v Maďarsku gen *Pm 4a*. Geny *Pm 1+2+9* a *Pm 4b* podmiňují střední stupeň rezistence. Šlechtěním na rezistenci k mozaikovým virům přenášeným půdou se zabýval příspěvek F. Ordonea a W. Friedta (Giessen, Německo). Dokumentuje využívání technik RFLP a PCR pro introdukci genu *ym4* (BaYMV) a genů rezistence k BaMMV. Indikátory rezis-

tence k viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV) u pšenice a ovsa byly předmětem vlastního sdělení (V. Š í p a kol.). Přenosem rezistence k BYDV z *Agropyron intermedium* do pšenice se zabývali H. O h m a H. S h a r m a (Purdue University, USA). A. S p a n a k a k i s (Fr. Strube Saatuchtges, Německo) dokumentoval rozdíly v odolnosti odrůd pšenice k mšicím na základě reakce odrůd na ošetření insekticidy.

Druhá skupina příspěvků v této sekci se týkala **rezistence k nepříznivým faktorům prostředí**. O šlechtění na toleranci k hliníkovým iontům v Polsku pojednával příspěvek A. A n i o l a (Blonie). Úspěšně byly v tomto směru využity brazilské odrůdy pšenice. L. C a t t i v e l l i (Itálie) poukázal na klíčový význam ABA hormonu v reakci na sucho. Některé identifikované geny byly účinné pro odolnost jak k nízkým teplotám, tak k suchu. Odolnost k poléhání a zimovzdornost jsou významné šlechtitelské cíle i u tritikale. Splňuje je do značné míry nová odrůda Prego (T. W o l s k i, DANKO, Polsko). Využit byl dominantní gen zakrslosti (HI) ze žita. Podle sdělení A. B ö r n e r a (Gatersleben, Německo) je ve šlechtění žita perspektivní gen zakrslosti, lokalizovaný na chromozomu 5R, který lze detekovat na základě necitlivosti na aplikovaný giberelin.

Předmětem dvou plakátových sdělení pořadatelské instituce, Švýcarské výzkumné agronomické stanice Curych-Reckenholz byly šlechtitelské postupy u pšenice obecné a špaldy. Druhá švýcarská výzkumná stanice v Changins-Nyon (A. F o s s a t i) prezentovala výsledky šlechtitelského výzkumu u tritikale. Potenciální plodinou pro země severní Evropy je nahý oves (P. P e l t o n e n - S a i n i o, Helsinská univerzita). Sdělení jediného ruského účastníka (R. T s i l k e, Novosibirsk) pojednávalo o výsledcích rekombinačního šlechtění pro extrémní podmínky západní Sibíře.

Šlechtění obilnin pro alternativní účely bylo zastoupeno příspěvkem P. R u c k e n b a u e r a, univerzita ve Vídni, který pojednával o využití obilovin jako zdroje energie (paliva) v Rakousku.

Jeden tematický okruh byl zaměřen rovněž na problematiku **šlechtitelských práv**; na toto téma bylo předneseno šest příspěvků.

K 1. 5. 1994 pristoupilo ke konvenci UPOV 24 států včetně České republiky, další evropské státy mají vlastní právní ochranu kompatibilní s touto konvencí a chystají se k UPOV připojit. Dosud je platná právní úprava UPOV z roku 1978. Revize z roku 1991, která posiluje ochranu šlechtitele, ještě nenabyla platnost.

Pravidla právní ochrany odrůd přijatá nedávno v ES (Council Regulation on Community Plant Variety Rights) zajišťují, že šlechtitelé mohou na základě jednoduché žádosti a rychlého rozhodnutí získat právní ochranu pro své odrůdy v rámci EU.

Ve srovnání se systémy právní ochrany odrůd ve světě se úprava UPOV ukazuje jako nejvhodnější pro ochranu biologických materiálů; umožňuje dostupnost genetických zdrojů v souladu s dokumentem FAO International Undertaking on Plant Genetic Resources. Nevylučuje se přitom patentová ochrana u odvozených mate-

riálů nesoucích patentované geny a odvozených odrůd (essentially derived variety) získaných např. selekcí mutantů, somaklonálních variant, zpětným křížením či transformací využívající metod genetického inženýrství.

Klíčovým problémem zůstává metodika posuzování rozdílnosti, uniformity a stability odrůd (DUS test). Vedle morfologických testů (Klasifikátory UPOV) se uplatňuje elektroforéza zásobních bílkovin a DNA markery; do budoucna se předpokládá kombinace těchto technik. Současné možnosti biochemických metod se blíží rozlišovací schopnosti morfologické klasifikace.

Vzorně organizačně připravené sympozium bylo pro účastníky jedinečným odborným i společenským zážitkem.

Ing. Václav Štíp, CSc., ing. Ladislav Dotlačil, CSc.

Third Workshop on Integrated Control of Cereal Mildews across Europe COST Action 817

Zürich/Kappel am Albis (Switzerland), November 5–10 1994

Začátkem listopadu minulého roku byla uspořádána v pořadí již třetí specializovaná konference zaměřená na problematiku padlí travního na obilninách. Pořadí takového setkání evropských specialistů si vynutila prostá skutečnost, že padlí travní je v současnosti nejvážnější evropskou chorobou ječmene a jednou z nejškodlivějších chorob pšenice.

První konference zaměřená výhradně na problematiku padlí travního byla zorganizována v tradičním místě intenzivního studia možností snižování škodlivosti této choroby pomocí odolných odrůd (Weihenstephan – SRN, listopad 1986). Druhé setkání se uskutečnilo v neméně významném centru studia odolnosti k padlí (zvláště na ječmeni) v lednu 1990 v Dánsku (RisU National Laboratory). Nedávno uskutečněné třetí setkání bylo zorganizováno Phytopathology group of Swiss Federal Institute of Technology (na této polytechnice vystudoval i Albert Einstein). První dvě konference výrazně stimulovaly evropský výzkum padlí. Nové myšlenky a výsledky prezentované přednesenými příspěvky či postery dávají tušit, že obdobnou stimulační odezvu bude mít i tato třetí konference.

Akce byla pořádána jako první širší setkání účastníků v rámci evropského programu COST Action 817 „Population studies of airborne pathogens on cereals as a means of improving strategies for disease control“. Tento projekt byl otevřen 16. 12. 1993 podpisem „Memorandum of Understanding“ zástupci zakládajících zemí (také Českou republikou). Oficiálně byl tento pětiletý projekt zahájen v únoru 1994 v Bruselu zasedáním první „Management Committee“ (ta je tvořena aktivně zapojeným zástup-

cem z každé zúčastněné země). Problematika větrem přenosných chorob obilnin je rozdělena do pěti pracovních skupin. Při příležitosti konference v Zürichu se uskutečnilo pracovní jednání všech těchto skupin.

Na konferenci byla zvýrazněna naše aktivita při studiu odolnosti obilnin k padlí. Formou posteru byly uvedeny výsledky studia odolnosti českých a slovenských odrůd pšenice k padlí. Byl přednesen příspěvek Odolnost odrůd ječmene pěstovaných v zemích Visegrádské skupiny k padlí travnímu, v němž byly prezentovány výsledky studia odolnosti 90 odrůd ječmene jarního a ozimého.

Dále byla naše aktivita zaměřena na spolupráci při zpracování návrhu evropských kódů pro označování odolnosti k padlí travnímu a odpovídajících virulencí tohoto patogena. V mnoha zemích (např. v Německu, Dánsku, Velké Británii a jinde) byly k tomuto účelu používány národní kódy. Nyní však odrůdy registrované v některé z členských zemí jsou současně povoleny k pěstování i ve všech dalších zemích Evropské unie. Jelikož je v mnoha případech užívání kódů upřednostňováno před uváděním jednotlivých genů odolnosti (při popisu odrůd, při uvádění odolnosti v listinách povolených odrůd obilnin i jinde), znesnadňovaly tak národní kódy využívání informací o genetické podstatě odrůdových odolností.

Na náš návrh byly zavedeny tři kódy pro odolnosti, které dosud nebyly v národních kódech uváděny. Pro označení odolnosti k padlí travnímu pocházející z ječmene Atlas byla zaveden kód „At“. Tato odolnost byla poprvé v Evropě využita v našich odrůdách Orbit, Svit a pravděpodobně i Jaspis (ve všech případech společně s některou z alel Mla lokusu) a je obsažena v dalších šlechtitelských liniích. Dále byl přijat návrh na kód označující původní českou odolnost pocházející z kroměřížské linie KM 1192.

Tato linie (zkoušená ve SOZ v letech 1972–1974) se stala donorem odolnosti obsažené v odrůdách Kredit a Jarek. Kód „Kr“ byl navržen podle uvedené první odrůdy s touto odolností. Třetí návrh se týkal označení u nás nejrozšířenější odolnosti odrůd ozimého ječmene k padlí, která pochází z německé odrůdy Borwina (kód Bw). Její odolnost byla dosud v Německu označována jako „neznámá“. V České republice zaujímají odrůdy s touto odolností v posledních několika letech kolem 80 % ploch ječmene ozimého a také tato odolnost je obsažena v řadě nových šlechtitelských linií.

Lze předpokládat, že dosažení evropské dohody přispěje k všeobecnému uplatnění kódu (místo přímého uvádění genů odolnosti), které bylo dosud omezeno jejich národní nejednotností.

Ing. Antonín Dreiseitl, CSc.

člen Management committee COST Action 817

Instructions for authors

Manuscripts in duplicate should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic.

Authors have full responsibility for the contents of their papers, including any correction made by the editors. The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

Original papers should not consist of more than 12 typewritten pages (2-linespacing), short communications may not exceed 3 typewritten pages. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes. It is published in the language the paper is written in, it should comprise base numerical data including statistical data. Each manuscript must contain a short or a longer summary.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Material and Methods: Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. The same data should not be presented in both tables and figures. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited).

The **citations** shall be presented pursuant to the standard. They are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number.

OBSAH – CONTENTS

Macháň F., Nesvadba Z., Ohnoutková L.: Production of haploid plants of new wheat and oat donors through wheat x maize and oat x maize crosses – Produkce haploidních rostlin pšeničných a ovesných donorů pomocí vzdáleného křížení pšenice x kukuřice a ovsa x kukuřice	1
Košner J., Bartoš P.: Monosomic analysis of leaf rust resistance in the spring wheat cultivar Sylva – Monosomická analýza rezistence ke rzi pšeničné v odrůdě pšenice jarní Sylva	11
Bartoš P., Stuchlíková E., Hanušová R.: Genetický základ rezistence odrůd pšenice jarní Jara, Linda, Maja, Sandra a Saxana ke rzi travní a rzi pšeničné – Genetics of stem and leaf rust resistance of spring wheat cultivars Jara, Linda, Maja, Sandra and Saxana	17
Šíp V., Škorpík M., Chrpová J.: Detekce genů zakrslosti u tří českých odrůd pšenice jarní – Identification of <i>Rht</i> genes in the three Czech spring wheat varieties	25
Šašek A., Černý J., Bradová J., Pařízek P.: Elektroforetická spektra hordeinů odrůd ječmene setého domácího a zahraničního původu – Electrophoretic spektra of hordein barley varieties of domestic and foreign provenance	35
Pokorný R.: Tvorba populací jetele lučního rezistentních vůči viru žluté mozaiky fazolu – Development of red clover populations resistant to bean yellow mosaic virus	53

PŘÍLOHA – SUPPLEMENT

Lebeda A.: Perspektivní směry ve výzkumu a šlechtění rostlin na rezistenci k chorobám – Perspectives of plant disease resistance research and breeding	63
--	----

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Šíp V., Dotlačil L.: Sympozium „Perspektivy šlechtění obilnin v Evropě“	76
Dreiseitl A.: Third workshop on integrated control of cereal mildews across Europe COST action 817	79

Vědecký časopis GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ ❖ Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha ❖ Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/251 098, fax: 02/257 090 ❖ Sazba a tisk: ÚZPI Praha ❖ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995