

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ

GENETICS AND PLANT BREEDING

3

ROČNÍK 31 (LXVIII)
PRAHA 1995
CS ISSN 0862-8629

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ
GENETICS AND PLANT BREEDING

*An international journal published by the
Czech Academy of Agricultural Sciences
and with the promotion of Ministry
of Agriculture of the Czech Republic*

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

KARYOLOGICAL METHODS OF PLOIDY LEVEL DETERMINATION IN SUGAR BEET VARIETIES

Dagmar TOMÁŠKOVÁ, Barbora DOBÍÁŠOVÁ¹

Research Institute for Crop Production, Prague, ¹Central Control and Testing
Institute for Agriculture, Prague, Czech Republic

Abstract: In order to check ploidy level in sugar beet varieties, two karyological methods for counting of chromosomes were proved. Firstly, actively growing roots were collected and pretreated with para-dichlorobenzene for 90 min at 20 °C. They were fixed in ethanol-acetic acid solution (3:1) for 1 h, hydrolysed in 1N HCl, at 60 °C for 10 min, stained with Schiff's reagent for 1 h and squashed in 1% aceto-orceine stain. Storage of stained root tips in distilled water in refrigerator improved the quality of preparations. Secondly, La Cour's technique – maceration in a mixture of ten parts 1% aceto-orceine stain and one part 1N HCl, staining in 1% aceto-orceine also gave good results and could be useful because of its simple procedure. In order to establish the number of seeds with different ploidy level, 14 diploid and 36 triploid varieties of sugar beet were tested. It was found that 3 and 2 diploid varieties had less than 5% and 10–13% seeds with triploid chromosome number, respectively. Admixtures of diploid seeds in the range of 10–14%, 2–6% and 1% were found in 8, 19 and 8 triploid varieties, respectively. Only one triploid variety has 5% diploid and 2% tetraploid seeds. Methodologies mentioned above will be presented in the amendment of Czech State Standard (ČSN 46 0610): Seed Testing, the part Species and Variety True-ness Testing, which is being prepared for passing.

sugar beet; karyological methods; ploidy level determination

The ploidy level analysis based on the somatic chromosome counting is one of the valuable methods which may be applied to the testing and certification of sugar beet varieties. For a proper karyological evaluation of one variety sample, 400 root tip metaphase plates from 200 germinating seeds should be analysed and therefore the application of precise reproducible methods resulting in uniform and high quality preparations is indispensable.

The karyological studies in sugar beet (*Beta vulgaris* L. – $2n = 2x = 18$) have been considered rather difficult since the chromosomes of this species are very small, average length of 2.45 μm , and show only small differences

(0.89 μm) in length and arm ratio (Bosemarck, Bortomov, 1971; Jong, Bock, 1978; Löptien, 1985). Following the nomenclature suggested by Levan et al. (1964) eight sugar beet chromosomes of haploid set are metacentric, only the nucleolar chromosome has been regarded by Löptien (1985) as submetacentric. Producing good metaphase plates of sugar beet chromosomes is sometimes hindered by the combined difficulties in obtaining a large number of dividing cells and in spreading the chromosomes well.

The present contribution describes two methods which are suitable for a routine karyological analysis of ploidy level of sugar beet varieties.

MATERIALS AND METHODS

Two methods of the ploidy level determination in sugar beet (*Beta vulgaris* L. var. *altissima* Döll) were proved in the varieties Jitka (2n), Polyna (3n) and Triga (4n): firstly Feulgen chromosome staining procedure (Feulgen, Rosenbeck, 1921) combined with aceto-orceine application and secondly aceto-orceine chromosome staining technique (La Cour, 1941).

Feulgen Staining Procedure Combined with Aceto-orceine Application

1. Germination

The seeds of sugar beet hydrated in tap water for 2 h at 20 °C were allowed to germinate in Petri dishes in the dark at 22 °C.

2. Pretreatment

Actively growing roots were collected in the morning at 8 o'clock. They were cut and put into the saturated aqueous solution of para-dichlorobenzene for 90 min, at 20 °C.

3. Fixation

After 15 min washing in water the materials were fixed in fixation solution of three parts 96% ethanol and one part glacial acetic acid for 1–2 h. After washing in water the root tips could be stored in 70% ethanol in refrigerator until used.

4. Hydrolysis

After 15 min washing in water the objects were hydrolysed in 1N HCl for 10 min at 60 °C.

5. *Staining*

The roots were stained in Schiff's reagent at 20 °C for 1 h. After staining the objects were transferred to distilled water. Stained materials could be squashed immediately on a slide or kept in distilled water for several days in the refrigerator.

6. *Preparation of slides*

Stained meristematic region of the root tip was cut into small pieces and put to a drop of 1% aceto-orceine on a slide. The specimen was squashed under the cover slip by tapping pressure made with the tip of a lancet. Blotting paper was placed over the cover slip, pressed with a thumb to spread and flatten the cells and remove the excess of fluid. Ice dry method (Conger, Fairchild, 1953) was used to make the slide permanent. After freezing on dry ice the cover slip was removed. The slide was rinsed in 96% ethanol, air dried and mounted with solacryl.

Aceto-orceine staining method

1. *Germination*

Seeds of sugar beet were germinated and roots were pretreated as described above.

2. *Fixation and maceration*

After the fixation in glacial acetic acid for 1 h the root tips were transferred to a watch glass containing a mixture of 1N HCl (1 part) and 1% aceto-orceine stain (10 parts). They were gently heated three times over the flame. Note: Do not allow the liquid boil.

3. *Staining*

A macerated root tip was cut into small pieces and left in a drop of 1% aceto-orceine on a glass slide for 5 to 10 min.

4. *Preparation of slides*

The specimens were squashed under the cover slip as described above. The slides were gently heated over the flame. The cover slips were sealed with solacryl and the slides were stored in a refrigerator. Thus the preparations are suitable for observation for one week. Ice dry method was used to make slides permanent. Frozen cover slips were removed, the slides were rinsed in 96% ethanol and mounted immediately with Euparal.

The Feulgen stain preparation was prepared as follows:

1. Dissolve 1 g basic fuchsin in 200 ml boiling distilled water.
2. Stir well and allow to cool to 50 °C.
3. Filter and add 30 ml 1N HCl to the filtrate and 3 g potassium metabisulfite.
4. Stir well in an airtight container and store in the dark about 10 °C overnight.
5. Stir well and add 0.5 g activated charcoal.
6. Stir rapidly and filter after 1 min.
7. Repeat the charcoal filtering step until the filtrate is pale straw to colorless.
8. Do not continue the charcoal treatment far beyond the point of full decoloration.

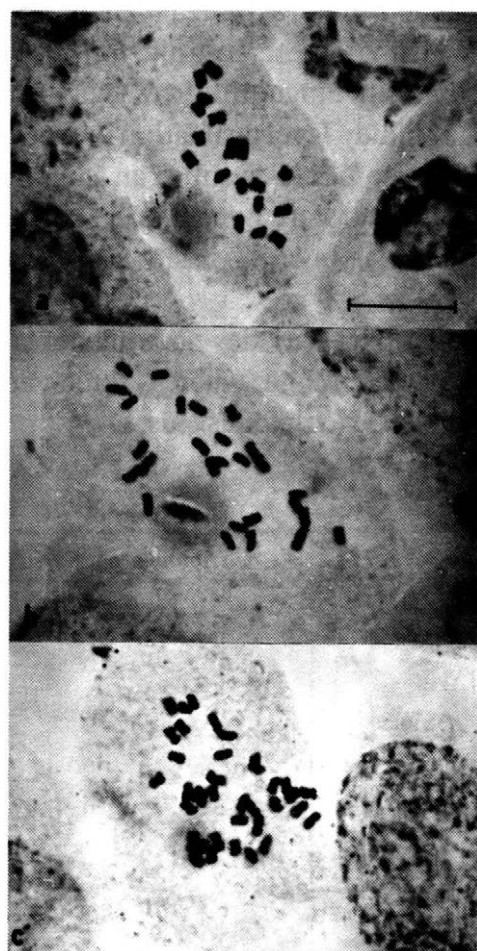
The stain should be stored in the dark, below 10 °C.

Aceto-orceine stain is prepared by dissolving 1 g solid orceine in 100 ml 45% acetic acid. The solution is brought to boiling, cooled and filtered. The stain is quite stable.

Note: In our experiments we used Fuchsin diamant crist. (E. Merck, Germany) and orceine (Loba, Austria).

RESULTS AND DISCUSSION

Over the years many methods have been developed for preparing plant somatic chromosomes and they are generally made up of four stages. First, the seed is germinated and the actively growing root tips are collected. Second, pretreatment (i. e. chemical or thermal – 0 °C) prior fixation is used to inhibit spindle formation and increase the proportion of cells with metaphase plates that are suitable for analysis. Third, fixation in any of a large range of solutions. Fourth, preparation of the root tips by hydrolysis followed by staining and squashing. For a successful study of somatic chromosomes of sugar beet (Fig. 1) it is necessary to keep the seed in healthy conditions. We found less divisions (mitotic index 5 to 10%) and poor chromosome stainability in the root tips collected from germinating pelleted seeds. The time of sampling appeared to influence the number of cells in active mitotic divisions. Collection of roots made from non-pelleted seeds at 8 o'clock produced good results, mitotic index was 19 to 35%. In spite of the karyological method published by P i r s o n (1985), who suggested the procedure in sugar beet without pretreatment, we proved the para-dichlorobenzene application



1. Mitotic chromosomes of sugar beet
a) $2n = 18$; b) $3n = 27$; c) $4n = 36$
Bar: $10\mu\text{m}$

that resulted in a quick and uniform penetration of the solution to the root meristem. The two fixatives, Farmer's fluid and glacial acetic acid, were very similar in their effect. Storage of Feulgen-stained root tips in distilled water in a refrigerator up two weeks improved the quality of squashes and spreading the chromosomes. Under our conditions 8 to 15 countable metaphase plates per root tip were usually visible in the preparations.

The above mentioned methodologies were worked out for amendment of the Czech State Standard (ČSN 46 0610): Seed Testing, the part Species and Variety Trueness Testing. The results obtained were used for the proposal of the ploidy level evaluation in sugar beet, which will be present in Annex No. 2.6, The Requirements for the Crops and Seed of the Seed Root Crops within legislation (Varieties and Cultivated Crop Seed and Seedling Plant Act and Realization Regulation) which is being prepared for passing.

The karyological method of chromosome counting in sugar beet has been used in the laboratories of the State Control and Testing Institute for Agriculture, Department of Seed and Seedling Plants in Prague and Havlíčkův Brod. The following tables present the results of ploidy level evaluation in root tips of diploid and triploid sugar beet varieties in order to establish an admixture of seeds with different chromosome number for variety testing. Total number of seeds used for the karyological analysis in each variety sample was 200.

Table I shows that in nine diploid sugar beet varieties no admixtures of seeds with different chromosome number were found, whereas three varieties have less than 4% and two varieties 10–13% triploid seeds.

I. Ploidy level evaluation in diploid varieties of sugar beet

Variety	Diploid seeds %	Triploid seeds %
M 9308	87	13
Eva	90	10
Dora	97	3
Blanka	98	2
Komet	98	2
Diabolo	100	0
Domino	100	0
Stefi	100	0
M 9217	100	0
Giselle	100	0
HM 1152	100	0
HM 1041	100	0
M 9227	100	0
KWS 156	100	0

From Table II it is evident that total number of karyologically analysed triploid sugar beet varieties was 36. Admixtures of diploid seeds in the range of 10–14%, 2–6% and 1% were found in 8, 19 and 8 varieties, respectively. Only variety Darysa has 5% diploid and 2% tetraploid seeds.

II. Ploidy level evaluation in triploid varieties of sugar beet

Variety	Triploid seeds %	Diploid seeds %	Tetraploid seeds %
Zenith	86	14	0
S 1204	86	14	0
Cobra	87	13	0
Extra	88	12	0
Fatima	88	12	0
Anca	89	11	0
M 9230	90	10	0
Jupiter	90	10	0
Darysa	93	5	2
Pilot	94	6	0
Lena	95	5	0
BU 82003	95	5	0
Viktor	96	4	0
Marion	96	4	0
S 1212	96	4	0
Marie	96	4	0
M 9325	96	4	0
Hana	97	3	0
Elan	97	3	0
Sofie	97	3	0
Tesyňa	98	2	0
Cleo	98	2	0
Gala	98	2	0
Format	98	2	0
Manager	98	2	0
Karanja	98	2	0
Action	98	2	0
S 1322	98	2	0

Table II continues

Variety	Triploid seeds %	Diploid seeds %	Tetraploid seeds %
Gration	99	1	0
Maestro	99	1	0
Marathon	99	1	0
M 9218	99	1	0
Amelie	99	1	0
Alice	99	1	0
Melanie	99	1	0
Agra	99	1	0

From the above mentioned results the following criteria for maximum percentage of seeds with different chromosome number in sugar beet varieties have been suggested:

Diploid and tetraploid – basic seed varieties	– 5% admixtures of seeds with different ploidy level
	certified seed – 10% admixtures of seeds with different ploidy level
Triploid varieties	– basic seed – 25 % admixtures of seeds with different ploidy level
	and certified seed

Drawing these conclusions we took into account the Standard used in the Federal Republic of Germany (Directive for the testing of homogeneity and stability distinction and for the application of sugar beet quality tests. Edit.: Federal Office for Variety Testing, FRG, January 1986) which permits in diploid and tetraploid sugar beet varieties 15% and in triploid varieties 25% maximum seeds with different ploidy level analysed by means of karyological methods.

The utilization of methodologies described above was also verified in fodder beet (*Beta vulgaris* L. var. *crassa* Mansf.) in triploid varieties Kyros, Vernov, Mammuth and Barbara.

References

CONGER, A. D. – FAIRCHILD, L. N.: A quick-freeze method for making smears slides permanent. Stain Technol., 28, 1953: 281-283.

- BOSEMARCK, N. O. – BORTOMOV, V. E.: Chromosome morphology in a homozygous line of sugar beet. *Hereditas*, 69, 1971: 205–212.
- FEULGEN, R. – ROSSENBECK, H.: Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nukleinsäure von Typus der Thymonukleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. *Z. Physiol. Chem.*, 135, 1924: 203–248.
- JONG, J. H. de – BOCK, T. S. M. de: Use of haploids of *Beta vulgaris* L. for the study of orcein and Giemsa stained chromosomes. *Euphytica*, 27, 1978: 41–47.
- LA COUR, L.: Acetic orcein – a new stain fixative for chromosomes. *Stain Technol.*, 16, 1941: 169–174.
- LEVAN, A. – FREDGA, K. – SANDGBERG, A. A.: Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52, 1964: 201–220.
- LÖPTIEN, H.: Breeding Nematode-resistant beets, III. C-banding patterns on mitotic chromosomes in *Beta vulgaris* L. and wild species of the section *Patellares* Tr. *Z. Pfl.-Zücht.*, 94, 1985: 41–49.
- PIRSON, H.: Die Untersuchung der Chromosomenzahl als Mittel zur Prüfung der Sortenechtheit.: *Seed Sci. Technol.*, 12, 1984: 935–941.
- Directive for the Testing of Homogeneity and Stability Distinction and for the Application of Sugar Beet Quality Tests. Edit.: Federal Office for Variety Testing. Federal Republic of Germany, January 1986.

Received July 22, 1994

Karyologické metody pro stanovení stupně ploidie u odrůd cukrovky

Karyologické postupy hodnocení stupně ploidie u cukrovky, kterými se zabývá předložená práce, patří mezi laboratorní metody ověřování odrůdové čistoty a pravosti odrůdy. U jednotlivých vzorků osiva diploidních, triploidních a tetraploidních odrůd se stanoví výskyt semen s odchylným počtem chromozomů, který se vyjadřuje v procentech jako příměs jiného kulturního druhu. Celkové minimální množství vyhodnocených kořenů u jedné odrůdy činí 200. Pro tyto účely je nutné, aby karyologické metody byly při rutinním použití reprodukovatelné a aby v preparátech byl dostatek metafázi s dobře rozlišitelnými chromozomy, které je možné bez potíží spočítat.

Pro stanovení počtu chromozomů v meristémech kořenových špiček cukrovky (*Beta vulgaris* L. var. *altissima* Döll.) $2n = 18$, $3n = 27$, $4n = 36$ byly ve VÚRV vyzkoušeny dvě metody:

1. Objekty byly po předpůsobení v nasyceném roztoku paradichlorbenzenu (90 min) a fixaci ve směsi etylalkoholu a kyseliny octové (3.1, 1 h) převedeny do 1N

HCl (60 °C) na 10 min. Potom proběhlo barvení ve Schiffově reagens (1 h) s následným dobarvením a roztlakem v 1% acetoorceinu. Uchovávání obarvených kořenů v ledničce v destilované vodě před zhotovením preparátů zlepšuje kvalitu roztlaků.

2. Metoda podle La Coura (La Cour, 1941) – macerace ve směsi 10 dílů 1% acetoorceinu a 1 dílu 1N HCl a barvení v 1% acetoorceinu – byla vhodná pro rychlé použití.

Podle uvedených postupů bylo v ÚKZÚZ hodnoceno 14 diploidních a 36 triploidních odrůd cukrovky, které jsou v odrůdových zkouškách. U devíti diploidních odrůd nebyly zjištěny žádné příměsi semen s odlišným počtem chromozomů, zatímco semena s triploidním počtem se vyskytovala v rozsahu 10–13 % u dvou odrůd a méně než 5 % u tří odrůd. Výskyt diploidních semen byl zjištěn v rozsahu 10–14 % u osmi, 2–6 % u devatenácti a 1 % u osmi triploidních odrůd. Pouze jedna odrůda měla příměs jak diploidních (5 %), tak tetraploidních (2 %) semen.

Uvedené karyologické metodiky byly zahrnuty do návrhu novelizace ČSN 46 0610: Zkoušení osiva, část zkoušení pravosti druhu a odrůdy. Získané výsledky byly použity jako kritérium hodnocení stupně ploidie u řepy v příloze č. 2.6: Požadavky na porosty a osivo semenných okopanin v rámci připravované legislativy (Zákon o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin a prováděcí vyhláška).

Použití uvedených postupů bylo ověřeno i u řepy krmné (*Beta vulgaris* L. var. *crassa* Mansf.) u triploidních odrůd Kyros, Vernov, Mamuth a Barbara, které jsou v odrůdových zkouškách.

cukrovka; karyologické metody; hodnocení stupně ploidie

Contact address:

RNDr. Dagmar Tomášková, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,
160 06 Praha 6 - Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/362 959

SHORT COMMUNICATION

Studies on Variability for Morphological Traits of Forage Sorghum

P. S. SABHARWAL, D. K. YADAVA and R. P. GREWAL

*Forage Research Section, CCS Haryana Agricultural University,
Hisar-125004, India*

The genetic variability is the basis of any crop improvement programme. Heritability is another parameter that measures the relative degree to which a character is transmitted from parents to progeny. The genetic coefficient of variation together with heritability estimates provide a clear picture of the extent of genetic advance to be expected from selection. The present study was conducted to estimate genetic advance for different morphological traits in sorghum.

Material and methods

Fifty-six strains of forage sorghum were grown at Hisar during Kharif 1993 and 1994 in a randomized block design with two replications. Each entry had two rows of 4 m length grown 45 cm apart with spacing of 15 cm between the plants. Data were recorded on five competitive plants selected at random from each strain in each replication for plant height, leaf length, leaf breadth, number of tillers, number of leaves, leaf weight and stem weight. Heritability, genetic advance, phenotypic and genotypic coefficient of variability for these characters were worked out according to Burton and Devane (1953) and Johnson et al. (1955).

Results and discussion

The analysis of variance showed highly significant differences for all the characters studied indicating the presence of sufficient amount of variability in the experimental material. The mean values, range, phenotypic and genotypic coefficient of variation, heritability and genetic advance expressed as percent of the mean are given in Table I. The range of variation was high for almost all the characters.

The large differences between phenotypic and genotypic coefficient of variation for leaf length and leaf weight indicated that this parameter was influenced by the environmental fluctuations. The closeness of the estimates of phenotypic and genotypic coefficients revealed that the traits like stem weight, number of leaves, number of tillers, leaf breadth and plant height were least affected by environmental fluctuations. The maximum genetic coefficient of variability was found in stem

I. Estimates of coefficient of variation, heritability and expected genetic advance for seven characters in sorghum in 1993 and 1994

Characters		Parameters of variability					
		mean	range	heritability (bs) [%]	coefficient of variation		genetic advance % of mean
					P	G	
Plant height (cm)	E ₁	139.18	53.0–225.0	87.41	26.68	24.94	48.04
	E ₂	178.08	100.5–271.0	94.70	21.57	20.99	42.07
Leaf length (cm)	E ₁	74.45	52.0–88.00	37.95	13.40	8.26	10.48
	E ₂	77.98	49.0–95.5	72.56	12.32	10.50	18.42
Leaf breadth (cm)	E ₁	5.72	3.0–8.6	74.92	28.69	24.84	44.28
	E ₂	6.11	3.2–9.9	96.70	27.95	27.48	55.67
Tillers (No. per plant)	E ₁	2.79	1.0–6.5	66.93	39.45	32.27	54.38
	E ₂	3.59	1.0–7.0	61.01	42.30	33.64	53.16
Number of leaves per plant	E ₁	34.59	9.5–60.5	81.65	39.47	35.46	66.38
	E ₂	39.04	14.0–64.5	88.91	31.88	30.06	58.38
Leaf weight (g)	E ₁	0.18	0.10–0.50	43.17	50.73	33.33	45.11
	E ₂	0.19	0.10–0.40	24.98	46.08	23.03	23.71
Stem weight (g)	E ₁	0.66	0.30–1.30	84.23	71.37	65.50	123.84
	E ₂	0.70	0.25–3.55	87.63	72.24	67.62	130.40

bs – broad sense; P – phenotypic; G – genotypic; E₁ – 1993; E₂ – 1994

weight followed by number of leaves, number of tillers and leaf weight (Table I) and hence these traits offer good opportunity for improvement through selection. As genotypic coefficient of variation together with heritability estimates would give the best results of the genetic advances to be expected from selection, the heritability was worked out. The high estimates of heritability were observed for traits like plant height, stem weight, leaf breadth, number of leaves, leaf length and number of tillers while leaf weight had moderate estimates of heritability.

The high heritability coupled with high genetic advance for stem weight, number of leaves, number of tillers, leaf breadth and plant height suggested that additive gene effects were probably more important for these traits.

These results are in accordance with those reported by Henry et al. (1983) and Rafiq and Rehman (1985). Patil et al. (1993) also observed high heritability coupled with high genetic advance for plant height.

Therefore, simple selection could be used to bring improvement in these traits. However, high heritability does not mean high genetic advance. In the case where high heritability is associated with low genetic advance, dominance and epistatic effects are of importance. This situation was revealed by our results. For the characters leaf length and leaf weight low heritability was associated with low genetic advance revealing the prevalence of non-additive type of gene action for these characters. To bring about the improvement for such traits some suitable technique would have to be applied. Whereas, Kaushik (1988) observed moderate heritability associated with moderate genetic advance for characters like leaf length and leaf weight.

References

- HENRY, A. – GUPTA, Y. K. – SISODIA, N. S.: Components of grain and dry matter yield in sorghum. *Forage Res.* 9(1), 1983: 43–48.
- KAUSHIK, V. S.: Variability & path-coefficient studies in forage sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) in relation to stem borer resistance. M. Sc. thesis submitted to HAU Hisar, 1986.
- PATIL, F. B. – GADEKAR, D. A. – BHOITE, A. G.: Studies on genetic variability and metroglyph analysis in forage sorghum. *Forage Res.* 19(1), 1993: 33–38.
- RAFIG, M. – REHMAN, A.: Heritability and genetic advance in some sorghum crosses. *I. Agric. Res.* 20(2), 1985: 77–82.

Received May 16, 1995

Abstract

Genetic variability was observed for almost all the seven morphological characters studied in fifty-six genotypes of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Both the genotypic and phenotypic coefficient of variation was high for stem weight, number of leaves, number of tillers and leaf weight. The genotypic variation appeared to be good indication of phenotypic variability. Heritability estimates were high for all the characters except leaf weight in environment II. However, genetic advance was high in all characters except leaf length in both environments.

Contact address:

Dr. Partap Singh, C/O Kamal Wool Store, 54, Bishnoi, Colony, Hisar - 125001, Haryana - India

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION

Slezská 7, 12056 Praha 2, Czech Republic

Fax: (0042 4) 257 090

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Czech Academy of Agricultural Sciences and Slovak Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with summaries in English or in English with summaries in Czech or Slovak.

Subscription to these journals be sent to the above-mentioned address

Journal	Number of issues per year	Yearly subscription in USD	
		Europe	overseas
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	118,-	123,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	118,-	123,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	118,-	123,-
Lesnictví – Forestry	12	118,-	123,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	92,-	96,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	48,-	56,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	35,-	37,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	35,-	37,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	35,-	37,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	35,-	37,-

**ZDVOJENÉ KLÁSKY V KLASU PŠENICE OBECNÉ
(*Triticum aestivum* L.) TYPU DUOSPICULUM: VARIETAS
VEL SUBVARIETAS?**

**Doubled Spikelets in the Ear of Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.)
of Duospiculum Type: Varietas vel Subvarietas?**

Jiří FOLTÝN[†]

Prague, Czech Republic

Abstract: Doubled spikelets of *duospiculum* type (in "one above the other" position, banana twin spikelets) occur only in hexaploid wheat (ABD genome). It is necessary to solve the problem of botanical classification of new-bred cultivars. The varieties of bread wheat are identified by corresponding traits, basically according to the elimination principle: –, vel, vel (–, or, or), and/or according to the principle: aut–aut (either–or), that means the moment of disjunction. But the ear type *duospiculum* is an expression of addition within the morphologically equivalent trait, that means the moment of conjunction. Therefore we recommend to respect the known varieties and to discriminate the type "duo" by the specification: subvarietas *duospiculum*. Besides the acropetal sequence from higher to lower taxa (varietas → subvarietas) it is possible to imagine also the basipetal sequence toward higher taxa (subspecies ← varietas). In this case it would be possible to omit subvarieties but within the hexaploid genome ABD, species *Triticum aestivum* L., it would be necessary to respect several subspecies, eg. subsp. *aestivum*, subsp. *vavilovii* Jakubz. ... and the new subsp. *duospiculum*; moreover, specification of varieties of the new subspecies would be needful. I consider this procedure as less suitable.

Triticum, genome ABD; banana twin spikelets; botanical nomenclature

Abstrakt: Zdvojené klásky typu *duospiculum* (v poloze „nad sebou“, banana twin spikelets) se vyskytují pouze v hexaploidní pšenici (genom ABD). Je nutné řešit problém, jak nově vyšlechtěné odrůdy botanicky zařadit. Variety pšenice obecné se určují korespondujícími znaky, zásadně podle výlučného principu: –, vel, vel (–, nebo, nebo), resp. podle principu: aut – aut (buď – anebo), tedy moment disjunkce. Typ klasu *duospiculum* je však výrazem adice v rámci morfologicky rovnocenného znaku, tedy moment konjunkce. Doporučujeme proto, aby byly respektovány známé variety a typ „duo“ odlišen doplňkem: subvarietas *duospiculum*. Vedle postupu akropetálního (od vyšších k nižším taxonům: varie-

tas → subvarietas) je možné si představit i postup bazipetální (k vyšším taxonům: subspecies ← varietas). Odpadly by subvariety, ale v rámci hexaploidního genomu ABD, species *Triticum aestivum* L., by bylo nutné respektovat několik subspecies, např. subs. *aestivum*, subsp. *vavilovii* Jakubz. ... a nově subsp. *duospiculum*; navíc by vznikla potřeba platného popisu variet nové subspecies. Toto řešení považuji za méně vhodné.

Triticum, genom ABD; banana twin spikelets; botanická nomenklatura

Zdvojené klásky typu *duospiculum* (v postavení „nad sebou“, banana twin spikelets – Foltýn, 1972 – obr. 1 a 2) se na rozdíl od jiných typů klasu pšenice, komplikujících plán klasu normálního, nevyskytují v jiném genomu než u hexaploidu ABD (Foltýn, Košner, 1995). Protože se z mutantů typu „duo“ tato vlastnost (děděná dominantně) dá nakřížit do všech komerčních odrůd pšenice obecné (Foltýn, Toman, 1987; Foltýn, 1989) a ve světovém sortimentu se již dvouklásková odrůda nachází (americká Florida 302), je nutné uvažovat o zařazení tohoto typu do botanického systému druhu *Triticum aestivum* L.

MATERIÁL

Mutanty a hybridy pšenice obecné (v ozimé a jarní formě) typu *duospiculum*, získané námi ve VÚRV Praha-Ruzyně, by bylo možné zařadit – s ponecháním stranou znaku „duo“ – do variet: a) *lutescens*, *milturum*, *aestivum* (*erythrospermum*), *graecum*; b) *hostianum*, *meridionale*, *villosum* (*velutinum*), *leucospermum*. Skupina b) s ochmýřenou plevou pochází výhradně z křížení s jarní odrůdou Gigas *Oligoculm*.

Typy *duospiculum*, popsané z Anatolie (Tumanjan, 1934; Gökçöl, 1939) a ze světového sortimentu ztracené, byly převzaty Mansfeldem (Foltýn, 1970) do soustavy *Triticum aestivum* L. jako „klásky zdvojené“ s označením variet *kurduculense* a *istanbulense*; s odhlédnutím od znaku „duo“ by se jednalo o variety *aureum* (*albidum*) a *alborubrum*.

METODA

Botanické klíče, včetně klíčů rodu *Triticum* L., využívají vylučovací metodu. V současnosti se u druhu *Triticum aestivum* L. respektuje nomenklatura variet, kterou sestavil Mansfeld (1951), případně Jakubciner (1957).

Pro uvažované rozlišovací znaky se uplatňuje princip: –, vel, vel (–, nebo, nebo), resp. princip: aut – aut (bud' – anebo). Princip první zahrnuje tři nebo i čtyři možnosti, např. v barvě osiny (bílá-žlutá, červená-hnědá, černá) a ve zhuštění klasu (řidký, hustý, kompaktní). Princip druhý operuje jen s dvěma možnostmi, např. osinatost pluchy – bezosinnost, ochmýřenost plevy – lysost. Vylučovací metodu (oba uvedené principy) v hodnocení dílčích znaků považujeme pro určení variet pšenice obecné za správnou.

VÝSLEDKY

Duplikace klásků na jednom článku klasového větene neodpovídá principům výlučnosti: –, vel, vel, respektive aut – aut, nýbrž je výrazem adice v rámci morfologicky rovnocenného znaku. Z toho důvodu není správné zdvojení klásků typu *duospiculum* brát za kritérium pro stanovení variet druhu *Triticum aestivum* L. Typ klasu *duospiculum* může být jen rozlišovacím znakem pro subvariety známých variet (varietas – subvarietas). Např. odrů-



1. *Triticum aestivum* L. var. *lutescens*, subvar. *duospiculum* (vlevo – left); *Triticum aestivum*, var. *aestivum*, subvar. *duospiculum* (vpravo – right)

2. Detail zdvojených klásků typu *duospiculum* na klasovém větenu pšenice obecné – A detail view of doubled spikelets of *duospiculum* type on the rachis of bread wheat

du ozimé pšenice Florida 302 lze botanicky charakterizovat jako *Triticum aestivum* var. *aestivum* subvar. *duospiculum*. V dalších případech je možné postupovat analogicky, s využitím stávajícího systému variet *Triticum aestivum* L.

DISKUSE

Základním klíčem pro členění druhů rodu *Triticum* L. na variety je dílo, které publikoval Körnicke (1885), v němž byla dána pojmenování pouze těm tehdy známým varietám, které odpovídaly teoretickým kombinacím znaků. Do rámce variet bylo též zařazeno větvení klasového větene, dnešní typ *turgidum* (Verästlung aus der Aehrenspindel: statt des Aehrchens – ein Seitenzweig). Jako varietální znak byly rovněž uvedeny dvouklásky či trojklásky vedle sebe, tedy dnešní typ *tetrastichon* (Verdoppelung oder Verdreifachung der Aehrchen neben einander), o němž dnes víme, že je rudimentárním projevem znaku *turgidum* (Foltýn, 1994). Autor zaznamenal též – výhradně u hexaploidu *Triticum vulgare* Vill. – výskyt dnešního typu *duospiculum* (Verdoppelung der Aehrchen über einander), avšak neuvedl jej jako znak varietální, nýbrž jej zařadil pouze do skupiny abnormalit (Missbildungen).

Naproti tomu Mansfeld (1951) – viz oddíl o materiálu – převzal do klíče *Triticum aestivum* L. dvě exotické variety s dvouklásky, popsané z třicátých let z Turecka (podle fotografie nepochybně typu *duospiculum*). Tento počín by bylo možné zaznamenat jako historický případ vztahující se k materiálu ve sbírkách již neexistujícímu.

Pro zařazení typu *duospiculum* do botanického systému *Triticum aestivum* L. se jeví jako správné a schůdné označení subvarieta ve věcné a názvoslovné hierarchii taxonů: species, subspecies, varietas, subvarietas ... (Novák, 1961). K charakteristice materiálů to postačí, nenaruší se tím ani zásady pro určování variet, ani stávající seznamy variet, a pro utvářená dvouklásková novošlechtění pšenice (křížením odrůdy jakékoli variety s mutanty a hybridy typu „duo“) bude předem jasné označení: výsledná tradiční varietas, subvar. *duospiculum*.

Uvedené řešení má k nižším taxonům směr akropetální (varietas → subvarietas). Problém lze teoreticky řešit i ve směru opačném, bazipetálním (subspecies ← varietas), což by ovšem předpokládalo rozlišovat v rámci hexaploidního genomu ABD, species *Triticum aestivum* L., např. subspecies: subsp.

aestivum, subsp. *sphaerococcum* Perc., subsp. *macha* Dek. et Men., subsp. *spelta* L., subsp. *T. vavilovii* Jakubz. a nově subsp. *duospiculum*. Tím by odpadlo zavádění subvariet, ale vnesl by se další rozruch do rozvířené hladiny taxonomie a nomenklatury rodu *Triticum* L. na úrovni historických „species“ a vznikla by potřeba platného popisu variet nové subspecies. Proto se přikláním k řešení prvému, se zavedením „subvarietas *duospiculum*“.

Descriptio subvarietatis *duospiculum*

Species *Triticum aestivum* L., varietates *historicae*, subvarietas *duospiculum*: spiculae numerus ad unum spicae internodium - duo, spiculae positus - verticalis.

L i t e r a t u r a

- FOLTÝN, J.: Větevnaté formy hexaploidní pšenice. Genet. a Šlecht., 18, 1972: 171–176.
 FOLTÝN, J.: Předání znaku dvojité klásek (typ *duospiculum*) jarním formám pšenice (*Triticum aestivum* L.). Genet. a Šlecht., 25, 1989: 117–123.
 FOLTÝN, J.: Princip opakování v orgánech pšenice a typ klasu *duospiculum*. Genet. a Šlecht., 30, 1994: 51–60.
 FOLTÝN, J. et al.: Pšenice. Praha, SZN 1970.
 FOLTÝN, J. – KOŠNER, J.: O původu zdvojených klásků typu *duospiculum* v klasu pšenice obecné (*Triticum aestivum* L.). Genet. a Šlecht., 31, 1995: 81–89.
 FOLTÝN, J. – TOMAN, K.: Dědičnost znaku dvouklásek (*duospiculum*) v hybridizaci pšenice ozimé. Genet. a Šlecht., 23, 1987: 41–47.
 GÖKGÖL, M.: Türkiye bugdaylari. Ankara-Istanbul, Tan Matbaası 1939.
 JAKUBCINER, M. M.: Botaničeskaja charakteristika pšenicy. In: ŽUKOVSKIJ, P. M.: Pšenica v SSSR. Moskva-Leningrad, Selchoziz 1957: 68–122.
 KÖRNICKE, F.: Die Arten und Varietäten des Getreides. Berlin, P. Parey 1885.
 MANSFELD, R.: Das morphologische System des Saatweizens *Triticum aestivum* L. Züchter, 21, 1951 (Suppl.): 41–60.
 NOVÁK, F. A.: Vyšší rostliny. Praha, nakl. ČSAV 1961.
 TUMANJAN, M.: Vetvistaja mjagkaja pšenica. Tr. prikl. Bot., Genet., Selek. – Zern. kultury, 5, 1934: 269–289.

Došlo 18. 4. 1995

Kontaktní adresa:

Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně, tel.: 02/360 851, fax: 02/362 952

Studijní informace 1995

řada Rostlinná výroba

**Tyto publikace shrnují nejnovější poznatky a hlavní trendy
z oboru rostlinná výroba.**

- | | |
|---|-------|
| Komberec S.: Ekonomika pěstování hlavních plodin
podle ekologických zásad | 30 Kč |
| Šifner F.: Synantropní zavíječi – významní škůdci
v zemědělství a potravinářství | 30 Kč |
| Prugar J., Hadačová V.: Vliv agrotechniky na obsah dusičnanů
v zelenině | 30 Kč |
| Břečka J., Vokál B.: Nové poznatky o pěstování
sadbových brambor | 30 Kč |
| Okrouhlá M.: Formulace pesticidů – přehled a trendy | 30 Kč |

Uvedené publikace si můžete objednat na adrese:

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

**TESTOVÁNÍ ODOLNOSTI PŘÍRŮSTKŮ PŠENICE Z GENOVÉ
BANKY VÚRV PRAHA-RUZYŇ KE RZI TRAVNÍ A PŠENIČNÉ**

**Testing of Wheat Accessions from the Gene Bank
RICP Prague-Ruzyně for Stem and Leaf Rust Resistance**

Eva STUCHLÍKOVÁ

Research Institute of Plant Protection, Prague, Czech Republic

Abstract: In the greenhouse we have tested reactions of 81 winter wheat cultivars from the gene bank Prague-Ruzyně at the 1–2 leaf stage to four stem rust and four leaf rust races and in the field to one stem rust race (11) and one yellow rust race virulent to *Yr9*. In several cultivars reactions to yellow rust race avirulent to *Yr9* were tested. According to reactions to stem rust and leaf rust in the greenhouse 65 cultivars were grouped into 11 groups (table IV) based on comparison of their reaction pattern with reaction patterns of cultivars with known genes. Sixteen cultivars were susceptible to both rusts, five of them had a part of plants resistant to two races of stem or leaf rust. A higher number of samples was resistant to stem rust than to leaf rust. Cultivars of group 1 (14 cvs.) show reactions to stem rust and leaf rust characteristic of resistance genes *Sr31* and *Lr26* (translocation 1BL/1RS), cultivars of group 2 (5 cvs.) have *Lr3* in addition to *Lr26* and *Sr31*. Cv. Haven of group 8 has gene (s) governing resistance to race 61 SaBa in addition to genes of 1BL/1RS translocation. Cultivars of group 3 (4 cvs.) are resistant to all used stem rust and leaf rust races and are therefore promising for the resistance breeding. Cultivars of group 4 (11 cvs.) are resistant to all used stem rust races, however, they are more or less susceptible to all leaf rust races (except cvs. Hornet and Peresvet II-2). Cultivars of group 5 (3 cvs.) have reactions characteristic of *Sr5*. Cultivar Tambo of group 6 has reactions to stem rust similar to Marquis. Cultivar of group 7 (9 cvs.) have reactions characteristic of *Lr3*, however pedigree of some cultivars does not confirm presence of *Lr3*. They have both resistant and susceptible reactions to stem rust. Group 9 (8 cvs.) comprises cultivars resistant to two or three stem rust isolates and they differ by reactions to leaf rust. In group 10 (3 cvs.) there are cultivars resistant to leaf rust and medium susceptible to susceptible to stem rust. In group 11 (6 cvs.) variability of leaf rust reactions and susceptibility to stem rust (except cv. Fresco) was found.

winter wheat; stem rust; leaf rust; yellow rust; resistance

Abstrakt: Ve skleníku jsme testovali 81 odrůd pšenice ozimé získané z genové banky ve fázi 1–2 listů na reakce ke čtyřem rasám rzi travní a čtyřem rasám rzi pšeničné a na poli k jedné rase rzi travní a plevové. U několika odrůd byla zkoušena rasa avirulentní ke genu *Yr9*. Na základě reakcí ke rzi travní a rzi pšeničné ve skleníku bylo 65 odrůd seřazeno do 11 skupin (tab. IV) a to podle porovnání jejich reakcí s reakcemi (odrůd, u nichž geny rezistence známe) např. charakteristickými pro geny na translokaci 1BL/1RS (*Sr31*, *Lr26*), gen *Sr5*, odolné odrůdy k jedné či oběma rzím (travní i pšeničné), s genem *Lr3* a další. 16 odrůd bylo náchylných k oběma rzím, z nichž pět odrůd mělo část rostlin odolných ke dvěma rasám rzi. Větší počet vzorků byl odolný ke rzi travní. Odrůdy 3. skupiny jsou odolné ke všem rasám rzi travní a pšeničné a jsou tedy perspektivní pro šlechtění.

pšenice ozimá; rez travní; rez pšeničná; rez plevová; rezistence

Rozdíly v genetickém základu rezistence ke rzím u různých odrůd umožňují výběr ze zdrojů rezistence pro šlechtění. Různé geny rezistence se mohou kombinovat, což přispívá ke stabilitě rezistence. Je-li genetický základ rezistence pěstovaných odrůd stejný, může se snadno rozšířit virulentní rasa patogena.

Aproximativní údaje o genetickém základu rezistence odrůd ke rzi travní a pšeničné, uvedené v tomto sdělení, jsme získali ve skleníkových pokusech. Je uvedena také informace o rezistenci ke rzi travní a plevové v adultní fázi pšenice.

Uvedené údaje by měly přispět při volbě zdrojů rezistence pro šlechtění na odolnost.

MATERIÁL A METODY

Rezistence pšenice ve fázi 1 až 2 listů byla studována k souboru čtyř izolátů rzi travní a čtyř izolátů rzi pšeničné. Infekční typ (IT) byl hodnocen podle Stakmana (Stakman et al., 1962) 10 dní po inokulaci, která spočívala v potření prvního listu směsí uredospor s talkem, ovlhčení a následovné 48hodinové inkubaci za vysoké vzdušné vlhkosti pod uzavřenými skleněnými válci.

Do testů byly zařazeny odrůdy z kolekce genových zdrojů VÚRV Praha-Ruzyně. Reakce izolátů rzi travní k mezinárodním testovacím odrůdám a té-

I. Původy odrůd pšenice – Origins of wheat cultivars

Odrůda ¹	Původ ²
Agronom (DEU)	Ural x Kronjuwel (<i>Sr23, Sr29, Sr31, Lr16, Lr26</i>)
Albrecht (DEU)	Disponent/M. Huntsman (<i>Sr31, Lr26, SrTt₁, Lr14a, Lr13</i>)
Ambassador (GBR)	Hobbit/Forester (<i>Lr14a, Lr13</i>)
Apollo (DEU)	Maris Beacon/Clement/Kronjuwel (<i>SrTt₁, Sr31, Lr26</i>)
Arber (DEU)	Kronjuwel/Weihenstephan-623-65/Nimbus/Maris Beacon (<i>Sr31, Lr26</i>)
Ariesan (ROM)	Rubin/Turda-141-65;Purdue-12/T-141-65 (<i>Sr5, Lr3, SrTt₁, Sr10, Sr35, Sr9</i>)
Aubaine (FRA)	INRA/CR-Mexique-7174//56-L/8116/192
Austerlitz (FRA)	US-43/Capest/Courtot//Argent
Banner (GBR)	MG-1470/RPG-60171-B//Stuart (<i>Sr31, Lr26</i>)
Boxer (GBR)	Tadorna/Caribo/3/TP-118/Perdi/Hybrid-46//Cappelle/Champlein // Viking/Tetrix/Jubilegen (<i>SrMcn</i>)
Century (USA)	Payne//Tam-W-101/Amigo (<i>SrTm_p, Lr24, Sr24</i>)
Clan (DEU)	Kronjuwel x Marksman (<i>Sr31, Lr26</i>)
Colt (USA)	Agate (SIB,NE-69441)/(TX-65-A-1503-1)391-56-D-8/KAW (<i>Sr5, Sr6, Sr17, SrTm_p</i>)
Compton (USA)	Compton-Parent-1/Compton-Parent-2//Compton-Parent-3
Damier (FRA)	M. Huntsman/Clement (<i>SrTt₁, Lr14a, Lr13, Sr31, Lr26</i>)
Dean (GBR)	Disponent x Norman (<i>Sr31, Lr26, Lr13, Lr14a</i>)
Dodge (FRA, USA)	Newton (S,Ks-73-H-530)/(S,Ks 76-HN-1978-1) Arkan (<i>Lr1, Sr6, Sr24, SrTt₁, Lr24</i>)
Donata (NLD)	Cebeco-150//Norin-10/Flevina/Cleo-7 (<i>Sr11, Sr9g, Sr18</i>)
Faust (FRA)	Cappelle/Franc-Nord//Cappelle/BASC (<i>Sr10</i>)
Florida (DEU)	Caribo/Disponent (<i>Sr31, Lr26, SrMcn</i>)
Foreman (GBR)	Mithras/Hobbit-Hedgehog-Line (<i>Lr14a, Lr13</i>)
Forno (CHE)	NR-72-837/Kormoran
Fresco (GBR)	Moulin/Monopol
Gavroche (FRA)	R-68(MH-2428-9
GK-Szoeke (HUN)	Tobari-66/8156-R/Bezostaya-1 (<i>Sr11, Sr5, Sr9, Sr35, Lr3a</i>)
Granta (GBR)	Caribo/Kranich (<i>SrMcn</i>)
Hamilcar (FRA)	Palmares/3/Cappelle/Franc-Nord//Cappelle/80-Choisy (<i>Sr10</i>)
Haven (GBR)	Hedgehog(Norman//Moulin (<i>Lr14a, Lr13, Lr26, Sr31</i>)
Horace (FRA)	Champlein//Cappelle/Magdalena/3/Splendeur//Cappelle/Magdalena/ /4/Palmares (<i>Sr10, Sr29, Sr23, Lr16</i>)
Hornet (GBR)	Norman/Hedgehog (<i>Lr14a, Lr13, Lr26, Sr31</i>)
Konsul (SWE)	Ertus/Norre//Homem/3/Cerc. Rest. St.

Odrůda ¹	Původ ²
Krinica (RUS)	Polukarlikovaya-49/Rostovchanka (Lr3a, Sr5)
Marignan (FRA)	362/Atou/Hardi (Sr9g)
Messidor (FRA)	Asso x Champlein/x/Mexico 50 x B21)
Mirleben (UKR, DEU)	(S5)23833-73/3/Heines/6*Mironovskaya-808//Alcedo (SrTnp, Lr3)
Norkan (FRA)	Plainsman-V/3/2*(KS-76-H-3705)Larned/Eagle//Sage (Lr1, Lr3, Sr9g, Sr26, Lr24, Sr24, Sr17)
Novosadska Brkulja (YUG)	NS-646/Bezostaja-1//Skorospelka-35 (Sr5, Sr31, Lr26, Sr10, Lr3)
Odesskaja Krasnokolosaja (UKR)	Odesskaya-75/Purdue-4920//Lerma-Rajo(Kavkaz/3/Chaika/4/Zaporozhskaya-Ostistaya (Lr3, Sr5, Sr31, Lr26)
Odiseja (UKR)	Lerma-Rajo/Kavkaz//Bezostaja-1/3/Odesskaya-16 (Sr31 Lr26, Sr5, Sr9, Sr35, Lr3a)
Promentin (FRA)	Promesse/Clement/Lutin (Sr31, Lr26, Sr29, Sr23, Lr16)
Prostor (BGR)	Rusalka/Nadadores (Sr7b, Sr8, Sr11, Sr17, Lr)
Purdue (USA)	Trumbull/(CI-11512)Fultz (SrTi ₁ , Sr10, Lr3)
Pursang (FRA)	Cappelle/FEC-28//25
Ramosa (CHE)	Bezostaja 1/Zenith//Minister 4 Probus/Weihenstephan 477/58 (Lr3, Sr5, Sr31, Lr26)
Tambo (CHE)	(M)Hoeser-52//Probus*2/Bankuti-1201 (Sr7b, Sr18, Sr19, Sr20, Sr5, Sr25)
Tara (GBR)	M. Marksman/Clement//Brock (Sr31, Lr26, Lr14a, Lr13, Sr5, Sr9g, SrMc _n)
Torfrida (GBR)	Rendezvous x (Moulin x Mercia) (Lr37)
Tjelvar (SWE)	B/-178383/Sture ³ /4/Sture ² (Lr26, Sr31)
Toronto (DEU)	Disponent/Weihenstephan-616-67//Kronjuwel (Sr31, Lr26)
Tristan (DEU)	Ural/Kronjuwel (Sr31, Lr26, Sr23, Sr29, Lr16)
Ulm (FRA)	Wattines/Courtot
Viktoria (YUG)	NS 845/Bezostaja 1 (Sr5, Sr35, Sr9, Lr3)
Voyage (GBR)	RPB-72-854/Armada (Lr26, Sr31)

Geny byly vyhledány podle původů. V závorce jsou souhrnně uvedeny geny, které byly zjištěny z literatury pro některé odrůdy, z nichž uvedená odrůda pochází, mohou tedy (ale nemusí) být obsaženy v odrůdě z nich vyšlechtěné. Některé firmy původy odrůd neuvádějí – Genes were searched for according to their origins. In brackets there are genes in aggregate form that were found out for some cultivars in literature, out of which the cultivar concerned has been made up; hence they can be (but they need not be) comprised in the cultivar selected. Some companies do not indicate the pedigree of cultivars

¹cultivar; ²pedigree

měř izogenním liniím s geny rezistence *Sr5*, *Sr6*, *Sr7* a *Sr11* jsou shrnuty v tab. II. Reakce k testům použitých izolátů rzi pšeničné na mezinárodních testovacích odrůdách a doplňkové odrůdě Salzmünder Bartweizen je uvedena v tab. III. Srovnatelné reakce vybraných odrůd, u nichž byly geny rezistence popsány, jsme uvedli v předcházející práci (Bartoš et al., 1994). Původy některých odrůd jsou uvedeny v tab. I.

II. Reakce použitých izolátů rzi travní na mezinárodních testovacích odrůdách a izogenních liniích - Reaction of the used isolates of stem rust in international test varieties and isogenic lines

Odrůda ¹	Izolát/rasa ²			
	G702/14	G69/21	G334/34	G425/11
Little Club	3	3	3	3
Marquis	;1-2	3	3	3
Reliance	0	0	3	3
Kota	0;	3	3	3
Arnautka	3	3	3	3
Mindum	3	3	3	3
Spelmar	3	3	3	3
Kubanka	3	2-3	3	3
Acme	3	2-3	3-	3-
Einkorn	3	2	2+	3-
Vernal	;	;	;1	;
Khapli	;	;	;	;
<i>Sr5</i>	0	0	3	3
<i>Sr6</i>	;1	;1	;	3-
<i>Sr7</i>	2+	3-	3	2+
<i>Sr11</i>	;1	;	;	;

¹variety; ²isolate/rase

Polní pokusy se rzi plevovou a travní

Inokulovali jsme náchylný řádek odrůdy Diana a Michigan Amber, vysetý podél parcelek, a rez se šířila na testované odrůdy. Pokusy jsme hodnotili stupnicí ÚKZÚZ (1 náchylná, 9 odolná). V polním pokuse bylo užito izolátu

III. Reakce k testům použitých izolátů rzi pšeničné na mezinárodních testovacích odrůdách a doplňkové odrůdě Salzmünder Bartweizen - Reaction of the used isolates on leaf rust on international test cultivars and additional cultivar Salzmünder Bartweizen

Odrůda ¹	Izolát/rasa ²			
	600/14SaBa	243/77	1887/61	628/61SaBa
Malakof	0;	3	0;	;
Carina	1-2	2-3	1-2	;1-2
Brevit	3	3	3	3-
Webster	;1-2	3	;1	;1
Loros	3-	3	3	3-
Mediterranean	0;	3	3	3
Hussar	3	3	;1-2	;1-2
Democrat	;	3	3	3
Salzmünder Bartweizen	3	0	0	3

¹variety; ²isolate/race

rzi plevové virulentního k *Yr9* (typ Clement), pro několik odrůd avirulentního izolátu ke genu *Yr9*. K inokulaci rzi travní jsme užili rasy 11 (izolát G 425).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Podle reakcí k použitým izolátům rzi travní jsme odrůdy zařadili do skupin s reakcemi charakteristickými pro gen *Sr31*, *Sr5*, odolné odrůdy k použitým izolátům rzi travní, rezistence typu Zdar, odolné ke třem izolátům, několik odrůd bylo rezistentních až středně odolných ke dvěma izolátům a ke dvěma izolátům náchylné či mírně náchylné, případně se ukázaly heterogenní k některému z použitých izolátů. Na základě reakcí k použitým izolátům rzi pšeničné bylo možné rozlišit skupinu odrůd s genem *Lr26*, genem *Lr3*, s kombinací těchto genů, odolné ke všem použitým izolátům, některé odrůdy se lišily od sebe reakcemi k použitým izolátům. Několik odrůd bylo odolných pouze k jednomu, jiné ke dvěma izolátům (odrůdy s diferencovanou reakcí k použitým izolátům) se specifickými geny rezistence a některé odrůdy byly náchylné. Přehled je uveden v tab. IV.

Odrůdy zařazené v 1. skupině mají reakce ke rzi travní a pšeničné charakteristické pro geny rezistence na translokaci 1BL/1RS, *Sr31*, *Lr26* a *Yr9*. V polních podmínkách jsou tyto odrůdy odolné až středně odolné k rase 11 rzi travní (s výjimkou odrůdy Imba). Polní reakce ke rzi plevové ukazují, že některé z odrůd mají polní rezistenci k virulenci typu Clement (typ 9), některé jsou středně odolné a jiné jsou náchylné.

Odrůdy zařazené do 2. skupiny mají reakce stejné s odrůdami s translokací 1BL/1RS a navíc gen *Lr3*, řídící rezistenci k rase 14SaBa. Polní reakce ke rzi travní i plevové jsou podobné jako u 1. skupiny.

Odrůdy 3. skupiny jsou odolné ke všem rasám rzi travní a pšeničné. Podle nahlédnutí do původu těchto odrůd může mít odrůda Century vedle jiných genů gen *Lr24* jako Norkan, který má ještě další geny (Marty nov et al., 1992). Century a Tam 200 mají translokaci 1A/1R, tudíž geny *Sr24*, *Sr* nepopsaný ze žita a *Lr24*. Má-li Century také *SrTnp*, který má např. Mironovská 808, pak se projevuje účinek epistatických genů *Sr24* nebo *Sr* žita. Polní reakce ke rzi travní je odolná, ke rzi plevové u Century a Sineronu odolná až středně odolná, u Tam 200 a Norkanu náchylná.

Odrůdy 4. skupiny se vyznačují odolností ke všem rasám rzi travní a jsou (s výjimkou odrůd Hornet a Peresvet II-2) více či méně náchylné ke rzi pšeničné. V polních podmínkách jsou tyto odrůdy odolné až středně odolné ke rzi travní a reakce ke rzi plevové vykazují celou stupnici typů od náchylného až po odolný. Odrůda Horace podle původu by mohla obsahovat gen *Sr29* s typickým projevem reakce (IT ;1-2), odrůda GK-Szoeke gen *Sr11*. Odrůda Hornet má asi 1BL/1RS, nesouhlasí tedy s reakce k rase 77.

Odrůdy 5. skupiny mají reakce ke rzi travní charakteristické pro gen *Sr5* a liší se reakcemi ke rzi pšeničné. Ke rzi travní v polních podmínkách byla Galaxie mírně náchylná (5), Compton a Donata mírně odolné. Compton má však v polních podmínkách ke rzi plevové náchylný typ 4; Donata a Galaxie jsou odolné.

Do 6. skupiny je zařazeno Tambo s reakcemi ke rzi travní podobnými odrůdě Marquis či Zdar. Ke rzi pšeničné je Tambo náchylné, ke rzi travní na poli mírně odolné a odolné ke rzi plevové.

Pro odrůdy 7. skupiny je charakteristická reakce pro gen *Lr3*, ale původy některých odrůd přítomnost tohoto genu nepotvrzují. Ke rzi travní mají reakce odolné i náchylné ke všem izolátům, některé jsou náchylné jen k rase 11, Heloy a Brigadier jsou náchylné k rase 21 a 34. Ke rzi travní na poli jsou

IV. Reakce ke rzi travní a pšeničné ve skleníku a polní reakce ke rzi travní a plevové - Reaction to stem rust and leaf rust in the greenhouse and field reactions to stem rust and yellow rust

Odrůda ¹	Země původu ²	Rez travní ³					Rez pšeničná ⁴				Rez plevová ⁵
		14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	11 pole	14SaBa 600	61 1887	61SaBa 628	77 347	Clement avir. 91
1. skupina⁶											
Albrecht	DEU	; (1)	;	; 1	;	6, 8	3	0	3	0	5-4
Apollo	DEU	; 1	;	; (1)	;	7, 8	3	0	2-3	0	9(4)
Arber	DEU	; (1)	;	; 1	;	6, 8	3	0	3	0	3, 4
Belavizo	FRA	; (1)	1;	; 1	; (1)	6	3	0	3	0	/9*
Damier	FRA	; 1	;	1	; (1)	6, 8	3-	0	3	0;	3, 4
Florida	DEU	; 1	; (1)	; 1	;	7, 8	3	0	3	0;	9
GK-Csila	HUN	0;	0	0	;	8	2-3	0	2-3	0;	6
Imba	DEU	; 1	; 1	; 1	; (1)	4-5	3	0	3	0;	9
Mirleben	SUN	; 1	; (1)	; 1	; (1)	7, 8	3	0	3	0	9
Promentin	FRA	0	0	; 1	0;	8	3	0	3	0	4-3
Ramosa	CHE	0	0	; 1	; 1	8, 7(4)	3	0	3	0;	6, 7, 9(4)
Tjelvar	SWE	; (1)	; 1	; 1	; (1)	7, 8	3	0	3	0	6, 9
Toronto	DEU	; 1	; 1	; 1	;	8, 5	3	0	3	0;	9
Voyage	GBR	; 1	; 1	1	; 1	6	3	0	3	0	/9*
2. skupina											
Berlioz	FRA	;	; 1	; 1	;	4,5	;	0	3	0;	9
Dean	GBR	; 1	; 1	; 1	; (1)	8	; (1)	0	2-3	0;	9(5)
Dodge	FRA	;	0	0	; (1)	(5)7, 8	; (1)	0	3	0	4, 3
Gavroche	FRA	; (1)	;	; 1	; (1)	7(4)	;	0	3	0	3, 5-4
Pursang	FRA	0;	; (1), (3)	; (1)	; (1), (3)	7, 8	; 1-2	; 1	Š2-3;/1-2	0;., (2-3)	3

Odrůda ¹	Země původu ²	Rez travní ³					Rez pšeničná ⁴				Rez plevová ⁵
		14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	11 pole	14SaBa 600	61 1887	61SaBa 628	77 347	Clement avir. 91
3. skupina											
Century	USA	;(1)	;1	;1	;	8	;(1)	;	;(1)	;	9
Sinaron	ROM	0	0	0	0	8	0	0	;(1)	0	6, 9
Tam 200	USA	0(;)	0(;)	;1	;1	8	;	0;	;1	0;	4
Norkan	FRA	;1	;(1)	;1	;	8	;	0	;	;	4-3
4. skupina											
Austerlitz	FRA	1-2	;(1)	1	1	8	2-3	3	3	2-3	9
Dowe	USA	0	0;	0;	0(2)	8	3	2-3	3	3	5-4
Faust	FRA	0	0	;1	;1	(5)6(8)	3-	2-3	3	3-	4, 6
Forno	CHE	;1(2)	0	0	1-2	7	3	3	3	3(;0)	9
GK-Szoeke	HUN	0	;(1)	;(1)	0	8	3	2-3	3	3	3
Hamilcar	FRA	;1-2	;(1)	;1	;1(2)	6, 8	3	3	3	3	6, 7
Horace	FRA	1-2	1	;1	1-2	6, 7	3	3	3	3	7, 3
Hornet	GBR	;	1-2	1-2	;1(2)	8(5-6)	0	0	0	3	9
Hussar	GBR	2	1	1	1	9	3-	;1-2+	2-3	3	9
Peresvet II-2	SUN	0	0	0	0	8	Š 0/3	Š 3/0	0, 1-2	0;(1-2)	3, 5-4
Purdue	USA	;(3)	;	0, ;1-2	0, ;1-2	8	2-3	3	3, (0)	3	4-3
5. skupina											
Compton	USA	0	0	3	2+(2-3)	8	3-	3	3	3-	(4)
Donata	NLD	0	0	2-3	3	8	3	2-2+	3	3	9
Galaxie	FRA	0	0	2-3	2-3	5	3	;1	2-2+	3	9

Odrůda ¹	Země původu ²	Rez travní ³					Rez pšeničná ⁴				Rez plevová ⁵
		14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	11 pole	14SaBa 600	61 1887	61SaBa 628	77 347	Clement avir. 91
6. skupina											
Tambo	CHE	;1-2	3	3	3	8	3	3	3	3	9
7. skupina											
Agronom	DEU	3	3	3	3	5	;	3	3	3	9
Brigadier	GBR	;1	3-	3	;1(2)	9	0	3	3	3	9
Granta	GBR	0	0	0	;1-2	9	0	3	3	3	/3*
Heloy	BGR	;1(1)	3-	3, (1-2)	;1-2	7, 8(3)	0	3	3	3	9
Mirao	POL	2	2-3	2-2+	3	6	0	3	3	3	9
Nov. Brkulja	YUG	0	0	0	3	9	0;	3	3	3	/9*
Pitonina	YUG	2+	0	0	3	8, 6, 5	0;	3	3	3	4, 7
Tristan	DEU	3	3	3	3-	5, 6	;	3	3	3	9
Viktoria	YUG	0	0	0	3	5, 4, 6	;0	3	3	3-	9
8. skupina											
Haven	GBR	0	0	;1	;	7, 9	2-3	0	;1	0	9
9. skupina											
Ariesan	ROM	0	0	;1-2	3	9	;1-2(2-3)	3	3	0;	/5*
Messidor	FRA	0(3)	0	;1-2	3	8	3	3	2+	;1-2(3)	9, 4
Oděs. Krasno- kol.	SUN	0	0	0;	2+, (;)	7, 8	;	Š ;/3	3	Š 3/1-2	4, 5
Prostor	BGR	2+	0	0	3	6, 7	3	3	3-	3	5, 9
Colt	USA	;1-2	0	0	2-3	8	3	3	3	3	6

Odrůda ¹	Země původu ²	Rez travní ³					Rez pšeničná ⁴				Rez plevová ⁵
		14 G702	21 G69	34 G334	11 G425	11 pole	14SaBa 600	61 1887	61SaBa 628	77 347	Clement avir. 91
Centurion	FRA	;1,(2)	0(;) (3)	Š 3/0	;1, (3)	6, 7	;1	2-3	Š ;1-2/3	Š ;1/3	(5)
Courtel	FRA	;1(3)	3	3(0)	Š 1/3	6	3-	3, (2)	Š ;1/3	3-, (;1)	9
Ulm	FRA	2-3	0;	1-2	3	8	3	3	3	;1	9, 5
10. skupina											
GK-Tape	HUN	;1-2(3)	2-3	2-3	;1(3)	8	0	0	0	;1	5
Chopin	FRA	3	2-3	2-2+	3-	4, 5, 6	0;	0, ;1	0;(3)	0;	4, 5, 6,
Torfrida	GBR	2-3	2-3	Š 1-2/2-3	3	5	2+	; (1)	; (1)	;1-2(2-3)	9
11. skupina											
Aubaine	FRA	3	3	3	3	8	3	;1	2-3	3	4
Konsul	SWE	3	3	3	3	5	3	; (1)	2-3	3	9(4)
Fresco	GBR	0	0	3-	;1	6	3	;1	;1-2	2-3	9
Marathon	FRA	3	3	3	3	4	3	;	;1	2-3	9(5)
Banner	GBR	3	3	3	3	7	3	3	3	0;	/9*
Pactole	FRA	2-3	2-3(1)	2-3	3, (;1)	5	;2-2+	2-2+	2-3	3	9

* = údaj pro hodnocení avirulentní rasou – data for evaluation by avirulent race

() = reakce menšího podílu rostlin – reactions of a smaller part of plants

Š = štěpi – segregating

¹variety; ²country of origin; ³stem rust; ⁴leaf rust; ⁵yellow rust; ⁶group

odolné až mírně odolné; Agronom, Tristan a Viktoria mírně náchylné. Ke rzi plevové jsou odolné s výjimkou odrůdy Granta, která je náchylná (izolát avirulentní *Yr9*) a Pitonina mírně náchylná (rasa Clement).

Odrůda Haven je zařazena do 8. skupiny. Má translokaci 1BL/1RS a dále gen(y), který řídí rezistenci k rase 61SaBa. V polních podmínkách je mírně odolná ke rzi travní a má polní rezistenci k virulenci typu Clement.

Do 9. skupiny jsou zařazeny odrůdy odolné ke dvěma a třem izolátům rzi travní. Někde se vyskytuje i dvojí reakce k téže rase. Příčinou může být příměs v osivu nebo více linií v odrůdě. Tyto odrůdy se liší reakcemi ke rzi pšeničné. Některé z nich jsou odolné k jedné či dvěma rasám a jiné jsou zcela náchylné. V polních podmínkách byly ke rzi travní mírně odolné. Odrůda Ariesan by mohla mít gen *SrTt* (Martynov et al. 1992) podle reakcí ve skleníku ke rzi travní. Ke rzi plevové byly reakce odolné i mírně náchylné Ariesan (izolát avirulentní *Yr9*), Odeskaja Krasnokolosaja, Centurion (rasa Clement).

V 10. skupině jsou odrůdy odolné ke rzi pšeničné a s reakcí mírně náchylnou až náchylnou ke rzi travní. Obě odrůdy Chopin i Torfrida jsou na poli mírně náchylné ke rzi travní, Chopin a GK Tape ke rzi plevové (rasa Clement).

V 11. skupině lze pozorovat proměnlivost reakcí odrůd ke rzi pšeničné. Několik odrůd bylo odolných pouze k jednomu, jiné k dvěma izolátům. Odrůda Fresco byla ve fázi 1-2 listů odolná ke třem izolátům rzi travní. Ke rzi travní jsou mírně náchylné až náchylné, jenom Aubaine a Banner mírně odolné. Ke rzi plevové jsou odolné, pouze Aubaine mírně náchylný.

V poslední testované skupině uvádím odrůdy náchylné k oběma rzím (travní i pšeničné); Ambassador (GBR), Boxer (GBR), Carco (USA), Clan (DEU), Follue (SWE), Foreman (GBR), Franko (DEU), Krinica (SUN), Malignan (FRA), Odesskaja 83 (SUN), Sevin (HUN). Pouze odrůdy Odesskaja 7685 (SUN), Odisseja (SUN), Ventour (AUS) ke dvěma rasám rzi travní štěpily a rovněž tak Passarinho (FRA), Tara (GBR) štěpily k jedné rase rzi pšeničné.

V uvedené studii se ukazují různé reakce odrůd k použitým izolátům rzi travní i pšeničné; jde tedy o různé kombinace genů v odrůdách. Větší počet vzorků byl odolný ke rzi travní. Podle původu odrůd a podle reakcí odrůd k rasám rzi je možné geny rezistence pouze odhadnout. Pro rychlou orientaci při výběru odrůd by to pro šlechtitelské využití mělo stačit. Spolehlivé závěry o genech lze vyvozovat až po genetické analýze.

ZÁVĚR

Ve skleníku jsme testovali získané odrůdy ozimé pšenice z genové banky ve fázi 1–2 listů na reakce ke čtyřem rasám rzi travní a čtyřem rasám rzi pšeničné a na poli k jedné rase rzi travní a plevové. U několika odrůd byla zkoušena rasa avirulentní ke genu *Yr9*

Na základě reakcí ke rzi travní a rzi pšeničné ve skleníku byly odrůdy seřazeny do 11. skupin (tab. IV), a to podle porovnání jejich reakcí s reakcemi (odrůd, u nichž geny rezistence známe) např. charakteristickými pro geny na translokaci 1BL/IRS (*Sr31*, *Lr26*), gen *Sr5*, odolné odrůdy k oběma rzím s genem *Lr3* a další. Větší počet vzorků byl odolný ke rzi travní.

Literatura

BARTOŠ, P. – STUHLÍKOVÁ, E. – HANUŠOVÁ, R. – MALÝ, J.: Zdroje rezistence ke rzím ze zahraničních odrůd pšenice ozimé zkoušených SKZÚZ. Genet. a Šlecht., 30, 1994: 19–27.

MARTYNOV, S. P. – DOBROTVORSKAJA, 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, Russian Academy of Agricultural Sciences. Tver, Russia; Research Institute of Crop Production, Prague 1992.

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

Došlo 22. 2. 1995

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Stuchlíková, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 06 Praha 6-Ruzyně, tel.: 02/360 851, fax: 02/352 952

Katalog videotéky
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny

AGROVIDEO

Katalog je určen všem zájemcům o videopořady z oboru
**zemědělství, lesnictví,
ochrany životního prostředí a potravinářství**

Katalog obsahuje asi 300 titulů, které jsou rozděleny do 27 tematických okruhů, např. věda a výzkum, mechanizace a automatizace rostlinné a živočišné výroby, alternativní zemědělství, půdoznalství, šlechtění rostlin, zahradnictví, chov zvířat, plemenářství, včelařství, rybářství, lesnictví, myslivost, tvorba a ochrana životního prostředí, vodní hospodářství apod. Cena katalogu je 40 Kč.

Videokazety si mohou zájemci osobně půjčit nebo lze objednat zásilku poštou na adrese:

Agrovideo Ústřední zemědělské a lesnické knihovny
Slezská 7, 120 56 Praha 2-Vinohrady

Uživatelé služeb Agrovidea se může stát každý zájemce, který se seznámí s výpůjčním řádem a zaplatí roční registrační poplatek 30 Kč.

Videokazety se půjčují zdarma. Při zasílání poštou je účtováno pouze poštovné.

Informace na tel. čísle:

257 541, l. 520 – dr. Bartošová (informace z databáze, rešerše na téma)

257 541, l. 304 – pí Hedvíková (výpůjční činnost)

259 096 – záznamník (mimo prac. dobu)

Objednávky katalogu:

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

RODOKMENY SOUČASNÝCH ČESKÝCH ODRŮD PŠENICE OZIMÉ

Pedigrees of the Present Czech Winter Wheat Varieties

Miroslav ŠKORPÍK, Jana CHRPOVÁ, Václav ŠÍP

Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic

Abstract: With the aim to study pedigrees the present Czech winter wheat varieties were divided into two groups: first the varieties enlisted in the period 1982–1991 and second the varieties enlisted in 1992 and later on (Fig. 1). It is characteristic of the first group (the varieties Senta, Vlada, Hana, Sparta, Simona, Sofia, Regina and Zdar) that these varieties prevalently have foreign varieties in their parentage. At least one Russian or Ukraine parent (mostly the variety Mironovskaya 808) is present in all these varieties except Zdar and Simona. The French variety (Artois Desprez and Moisson) is also a frequent parent. German breeding line Weihenstephan 378 is a common ancestor of six registered varieties; Maris Huntsman, coming from England, of four varieties. The varieties belonging to the second group (Mona, Vega, Bruta, Samanta, Sida, Siria, Asta, Alka, Boka, Ina and Samara) often have domestic varieties (breeding lines) in their parentage, which is referable to the progress of Czech wheat breeding. Namely the variety Hana, with outstanding bread making quality, occurs as parent four times and Regina three times. The ratio between Czech and foreign varieties has changed in favour of Czech varieties (Table I). Since 1975, when only three Czech varieties were registered (30%), the percentage of Czech varieties had increased to 100 in 1993.

winter wheat; Czech varieties; pedigree

Abstrakt: Současné české odrůdy pšenice ozimé lze rozdělit na dvě skupiny: odrůdy povolené v letech 1982–1991 a odrůdy povolené v roce 1992 a později. Pro první skupinu (odrůdy Senta, Vlada, Hana, Sparta, Simona, Sofia, Regina a Zdar) je charakteristické, že rodičovské odrůdy jsou převážně zahraničního původu. Všechny odrůdy kromě Zdaru a Simony mají ve svém rodokmenu zastoupenou alespoň jednu ruskou či ukrajinskou odrůdu. Nejčastěji byla použita odrůda Mironovskaja 808. Dalším rodičovským partnerem bývá často francouzská odrůda (Artois Desprez a Moisson). Německé novošlechtění Weihenstephan 378 je společným předkem šesti povolených odrůd; anglická odrůda Maris Huntsman čtyř odrůd. U odrůd patřících do druhé skupiny (Mona, Vega, Bruta, Samanta, Sida, Siria, Asta, Alka, Boka, Ina a Samara) se již v původu často

objevují domácí odrůdy (linie), což je dokladem zvyšující se úrovně domácího šlechtění. Jako velmi dobrý rodič se jeví zvláště odrůda Hana, která byla jako rodičovská odrůda použita čtyřikrát, zřejmě pro vysokou kvalitu zrna, a dále odrůda Regina, která byla použita třikrát. Poměr mezi českými a zahraničními odrůdami se v průběhu let obrátil ve prospěch českých odrůd. Od roku 1975, kdy byly v Listině povolených odrůd zapsány pouze tři české odrůdy (30 %), se jejich počet stále zvyšoval, až v roce 1993 dosáhl 100 %.

pšenice ozimá; české odrůdy; rodokmeny

První počátky cílené šlechtitelské práce můžeme sledovat od roku 1880. Teoretické zásady šlechtění formuloval v roce 1903 Erben (Foltýn et al., 1970). V jednotlivých oblastech Čech a Moravy byly kdysi pěstovány krajové odrůdy přizpůsobené místním podmínkám. Se vznášající intenzifikací zemědělské výroby se kladl stále větší důraz na jakost osiva a vzhledovou jednotnost porostů, jež svědčila o záměrném šlechtění na výnos (Foltýn, 1961).

Vývoj šlechtění lze zhruba rozdělit do několika etap: do roku 1920, 1921 až 1945 (Foltýn et al., 1970); 1945–1956, 1956–1965 (období pěstování starších českých a slovenských odrůd), 1964–1974 (období prudkého vzestupu výnosů), 1975–1985 (období nástupu progresivních českých a slovenských odrůd) (Šíp et al., 1987) a 1985–1995. Tento článek je věnován odrůdám vyšlechtěným v poslední etapě.

Rodokmeny odrůd přinášejí informace o tom, jaké šlechtitelské strategie byly využívány. V této práci chceme představit předky českých odrůd pšenice ozimé zapsaných v Listině povolených odrůd z roku 1994 a čtyř českých odrůd povolených v roce 1995. Všechny sledované odrůdy byly povoleny v rozmezí let 1985–1995. Výjimkou jsou pouze starší odrůdy Regina (1982) a Zdar (1983).

Podobné rodokmenové studie uvádějí Foltýn et al. (1970) pro italské odrůdy, Gale (1981) pro odrůdy s geny zakrslosti z odrůd Norin 10 a Tom Thumb a Yama da (1990) pro japonské odrůdy.

MATERIÁL A METODY

Při sestavování rodokmenů jsme vycházeli z katalogů, které sestavili Zevén (1976), Škorpík et al. (1991), Martynov et al. (1992) a z informací ze šlechtitelských stanic.

Údaje o zastoupení českých (slovenských) a zahraničních odrůd v jednotlivých letech byly převzaty z Listin povolených odrůd ÚKZÚZ.

VÝSLEDKY A DISKUSE

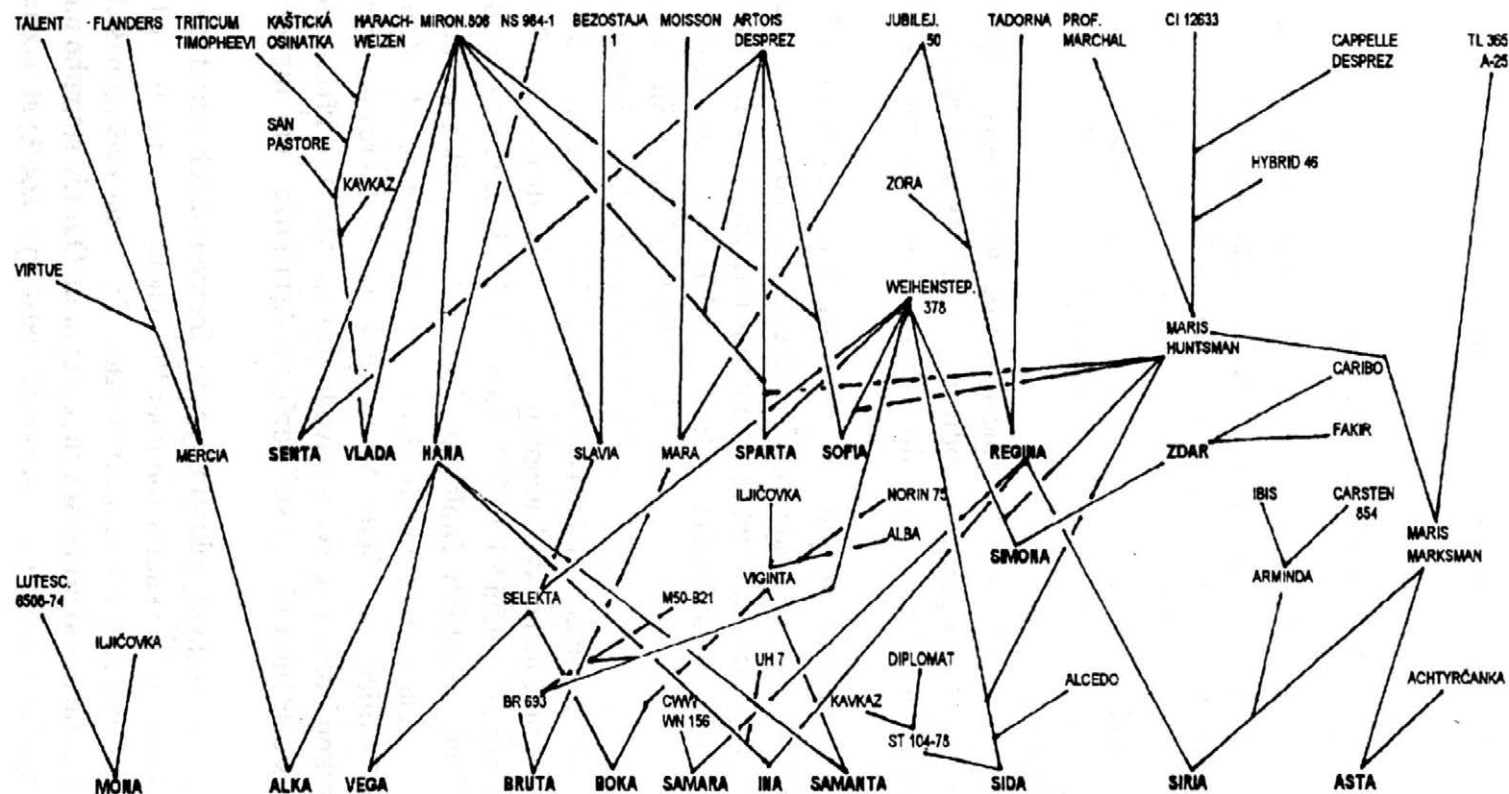
Odrůdy povolené v roce 1995 lze rozdělit na dvě skupiny: odrůdy povolené v letech 1982-1991 a odrůdy povolené v roce 1992 a později (obr. 1).

Pro první skupinu (odrůdy Senta, Vlada, Hana, Sparta, Simona, Sofia, Regina a Zdar) je charakteristické, že rodičovské odrůdy jsou převážně zahraničního původu. Všechny odrůdy kromě odrůd Zdar a Simona mají ve svém rodokmenu alespoň jednu ruskou (ukrajinskou) odrůdu. Nejčastěji byla použita odrůda Mironovskaja 808.

Rodičovským partnerem bývá často francouzská odrůda (Artois Desprez a Moisson). Dalším vícekrát použitým rodičem je v této skupině německý genotyp Weihenstephan 378 a anglická odrůda Maris Huntsman (např. Sofia a Sparta).

U odrůd patřících do druhé skupiny (Mona, Vega, Bruta, Samanta, Sida, Siria, Asta, Alka, Boka, Ina a Samara) se již v původu často objevují domácí odrůdy. Odrůdy Vega (Hana/Selekta), Samanta (Hana/Viginta), Bruta (BR 693/Mara), Boka (Viginta/Selekta) a Ina (Hana/UH 7//Regina) mají rodiče pouze českého, resp. slovenského původu. Odrůdy Samara a Siria také mají v rodokmenu českou odrůdu Regina. CWW WN 156 a Maris Marksman jsou odrůdy britské, Arminda je holandská. Odrůda Sida má složitý rodokmen, ve kterém je kromě německých genotypů Alcedo a Weihenstephan 378 zastoupeno české novošlechtění ST 104-78, které vzniklo křížením ruské odrůdy Kavkaz a německé odrůdy Diplomat. Odrůda Alka vznikla křížením anglické odrůdy Mercia a české odrůdy Hana. Zbývající dvě odrůdy Mona (Lutescens 6508-74/Iličovka) a Asta (Maris Marksman/Achtyrčanka) českou nebo slovenskou odrůdu ve svém původu nemají. Mona je křížencem německého novošlechtění a ukrajinské odrůdy a Asta křížencem anglické a ruské odrůdy.

Zdá se, že uplatnění ruských (ukrajinských) a francouzských odrůd jako rodičů většiny odrůd z první skupiny (do roku 1991) není náhodné. Již Foltýn et al. (1970) přináší následující informace: Převážná většina našich odrůd vznikla křížením odrůd přímořských se stepními. Odrůdy stepního původu mají vynikající zimovzdornost, suchovzdornost, vysokou kvalitu zrna



Odrůdy povolené v současné době (1995) jsou vtištěny tučně – The presently (1995) enlisted varieties are in bold letters

1. Rodokmeny odrůd pšenice ozimé – Pedigrees of winter wheat varieties

a jsou poměrně rané. Západní odrůdy pak přinášejí vysokou potenciální produktivitu a odolnost proti houbovým chorobám. Středoevropské přírodní podmínky skýtají možnosti uplatnění jak odrůdám domácím, tak některým odrůdám typu stepního (jsou-li dostatečně intenzivní) nebo přímořského (jsou-li dostatečně zimovzdorné a ne příliš pozdní).

Jako velmi dobrý rodič se uplatnilo i německé novošlechtění Weihenstephan 378. S využitím tohoto genotypu na Šlechtitelské stanici Stupice (SEL-GEN a.s.) vznikly odrůdy Sparta, Selekt, Sofia, Simona a Sida a na Šlechtitelské stanici Branišovice (MORSTAR a.s.) odrůda Bruta.

Od roku 1992 se jako rodiče již objevují odrůdy české a slovenské, což je dokladem zvýšení úrovně našeho šlechtění. Velmi úspěšným rodičem byla zvláště odrůda Hana, která se uplatnila jako rodič čtyřikrát, zřejmě pro vysokou kvalitu zrna, a také odrůda Regina, úspěšně použitá třikrát.

Ze zahraničních se objevují genotypy anglické, které byly použity především pro vysokou produktivitu klasu a kratší stéblo. Jejich slabá zimovzdornost je kompenzována křížením s českými odrůdami, které v sobě většinou mají zimovzdornost z ruských (ukrajinských) odrůd, popř. přímo použitím ruské odrůdy (Asta = Maris Marksman/Achtýrčanka).

Za zmínku stojí i zjištění, že celý současný sortiment českých odrůd pšenice ozimé se zúžil pouze na varietu *lutescens*.

Z tab. I je patrné, že poměr mezi českými a zahraničními odrůdami se v průběhu let obrátil ve prospěch českých odrůd. Od roku 1975, kdy byly v Listině povolených odrůd zapsány pouze tři české odrůdy (30 %), se jejich počet stále zvyšoval, až v roce 1993 dosáhl 100 %. Současně stoupal i počet slovenských odrůd, což v tabulce také uvádíme.

Z uvedených údajů je zřejmý především velký pokrok, který byl dosažen ve šlechtění v Čechách a na Moravě. Sortiment povolených odrůd dostatečně pokrývá požadavky pro jednotlivé klimatické oblasti naší republiky. Zahraniční odrůdy bývají zařazeny do Listiny povolených odrůd pouze pro doplnění.

O vysoké úrovni našeho šlechtění svědčí i povolení českých odrůd v zahraničí. Odrůda Zdar byla povolena v Německu pod názvem Boheme. V Německu byla též povolena odrůda Alka pod názvem Moldau. V Dánsku je povolena odrůda Siria. Pouze pro vývoz do zahraničí byla povolena odrůda Butin.

I. Přehled o zastoupení českých (slovenských) a zahraničních odrůd pšenice ozimé zapsaných v Listině povolených odrůd za období posledních 20 let - Number (percentage) of Czech, Slovak and foreign winter wheat varieties in the National variety list in the years 1975-1994

Rok ¹	Počet odrůd ²			České a zahraniční odrůdy celkem ⁶	Procento českých odrůd z celkového počtu českých a zahraničních ⁷
	českých ³	slovenských ⁴	zahraničních ⁵		
1975	3	0	7	10	30
1976	3	1	5	8	38
1977	3	1	5	8	38
1978	3	1	5	8	38
1979	4	2	6	10	40
1980	4	3	5	9	44
1981	5	4	5	10	50
1982	6	4	4	10	60
1983	8	5	4	12	67
1984	9	7	3	12	75
1985	10	8	2	12	83
1986	10	6	1	11	91
1987	10	6	1	11	91
1988	10	6	1	11	91
1989	8	7	1	9	89
1990	9	7	1	10	90
1991	10	7	1	11	91
1992	11	9	1	12	92
1993	12	9	0	12	100
1994	15	9	1	16	94

¹year; ²number of varieties; ³Czech; ⁴Slovak; ⁵foreign; ⁶total number of Czech and foreign varieties; ⁷percentage of Czech varieties out of the total number of Czech and foreign varieties

Literatura

FOLTÝN, J.: Agrotechnické lhůty setí ozimých obilovin. Praha, SZN 1961: 146 s.
FOLTÝN, J. a kol.: Pšenice. Praha, SZN 1970: 144-221.

GALE, M. D. - MARSHALL, G. A. - RAO, M. V.: A classification of the Norin 10 and Tom Thumb dwarfing genes in British, Mexican, Indian and other hexaploid bread wheat varieties. *Euphytica*, 30, 1981: 355-361.

MARTYNOV, S. - 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: 1311s.

ŠÍP, V. - VALKOUN, J. - MALÝ, J. - TÁBORSKÁ, J. - ŠKORPÍK, M.: Analýza výnosu zrna pšenice ozimé v ČSSR za třicetileté období. *Rostl. Výr.*, 33, 1987: 449-458.

ŠKORPÍK, M. et al.: Katalog odrůd pšenice s charakteristikou důležitých vlastností. Praha, VÚRV 1991: 107 s.

YAMADA, T.: Classification of GA response, Rht genes and culm length in Japanese varieties and landraces of wheat. *Euphytica*, 50, 1990: 221-239.

ZEVEN, A. C.: Genealogies of 14 000 wheat varieties. Wageningen, Netherlands Cereals Centre 1976.

Došlo 3. 4. 1995

Kontaktní adresa:

Miroslav Škorpík, Výzkumný ústav rostlinné výroby,
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851, fax: 02/365 229

**Nejčerstvější informace o časopiseckých článcích
poskytuje automatizovaný systém**

***CURRENT CONTENTS*
na disketách**

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis **Current Contents** řadu Agriculture, Biology and Environmental Sciences a řadu Life Sciences na disketách. Řada Agriculture, biology and Environmental Sciences je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z Current Contents na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla Current Contents, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádank o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech Current Contents najednou velice urychluje rešeršní práci.

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

- 1) **Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

- 2) **Self-service** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.

Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/25 75 41, l. 520, fax: 02/25 70 90

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

AKTUALITY

Mřížové pokusy

Oldřich CHLOUPEK, Jaroslava EHRENBARGEROVÁ

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, Česká republika

Používání mřížově uspořádaných pokusů je vhodné tehdy, je-li zkoušen velký počet variant. V případě blokového uspořádání by vzhledem k narůstající ploše bloků rostla i vnitrobloková proměnlivost, což je nežádoucí. Řešení tohoto typu pokusů je dosti pracné. Jednou z možností, jak tento postup zjednodušit, je tzv. stírání, jehož podstatu popsali Chloupek a Ehrenbergerová (1995). Praktický případ uvádíme pro 16 odrůd a dvojitou mříž (se dvěma opakováními). Je totiž správnější udělat pokus na třech lokalitách se dvěma opakováními, než se šesti opakováními na jedné lokalitě, poněvadž se tak omezi vliv interakce genotypu s prostředím. Počet hodnocených novošlechtění však musí být mocninou nějakého celého čísla, např. 9, 16, 25, 49, nebo zařadíme standardní odrůdu či zajímavé novošlechtění opakovaně, abychom tento počet dostali. Při srovnávání se standardní odrůdou je totiž ideální, je-li tato odrůda opakovaná a -krát více než odrůdy srovnávané, kde a je odmocnina počtu nových odrůd.

Například pro $v = 16$ (tj. A až P) bude třeba osm bloků, poněvadž $v = p^2$ a $2p = 8$ (p = odmocnina počtu pokusných variant).

Uspořádání bude následující:

v řadách					v sloupcích				
blok					blok				
I	A	B	C	D	V	A	E	I	M
II	E	F	G	H	VI	B	F	J	N
III	I	J	K	L	VII	C	G	K	O
IV	M	N	O	P	VIII	D	H	L	P

Bloky I–VIII mohou být umístěny vedle sebe nebo pod sebou.

Získané výsledky se hodnotí takto:

1. Seřeme průměrné hodnoty bloků, abychom dostali odchylky.

2. Sečteme odchylky variant (odrůd, tj. A–P), abychom dostali upravené součty $Q_A, Q_B \dots Q_P$, a seřadíme je do původní tabulky:

	Q_A	Q_B	Q_C	Q_D	součet řad
					R_1
	Q_E	Q_F	Q_G	Q_H	R_2
	Q_I	Q_J	Q_K	Q_L	R_3
	Q_M	Q_N	Q_O	Q_P	R_4
součet sloupců	S_1	S_2	S_3	S_4	O = celkový součet

Nyní se každá varianta (novošlechtění) označí dvěma indexy, přičemž jeden označuje příslušnost k řadě, kde se vyskytuje, a druhý index označuje příslušnost ke sloupci, takže např. Q_H bude označeno Q_{24} .

3. Hodnoty Q se sečtou v řádcích i sloupcích, abychom dostali součty řad i součty sloupců (R_1, R_2, R_3, R_4 , resp. S_1, S_2, S_3, S_4), jak již bylo uvedeno.
4. Suma čtverců pro varianty činí

$$\frac{1}{2} [\sum_i \sum_j Q_{ij}^2 + (\sum_i R_i^2 + \sum_j S_j^2) / p]$$

tzn. že se sečte suma čtverců hodnot R a suma čtverců hodnot S a vydělí počtem údajů, z nichž vznikly, a k tomu se přičte suma čtverců hodnot Q . Protože hodnoty Q vznikly součtem dvou hodnot, musíme vydělit dvěma.

5. Údaj pro varianty pak je $1/2 [Q_{ij} + (R_i + S_j) / p]$. Upravené průměrné hodnoty variant se stanoví, připočteme k nim celkový průměr pokusu.
6. Variance rozdílu mezi dvěma upravenými průměrnými hodnotami pro varianty pak je $[(p + 1) / p] s^2$, kde s^2 je variance pro chybu.

Jak již bylo dříve uvedeno (Chloupek, Ehrenbergerová, 1995) celková vrstva se dostane sečtením čtverců odchylek získaných ad 1 a má obvyklý počet stupňů volnosti. Suma čtverců pro chybu se dostane sečtením čtverců reziduí.

Příklad:

I	A 135	B 140	C 155	D 138	V	A 128	E 170	I 153	M 140
II	E 115	F 143	G 150	H 160	VI	B 85	F 143	J 180	N 130
III	I 135	J 88	K 180	L 165	VII	C 143	G 170	K 180	O 180
IV	M 143	N 183	O 180	P 193	VIII	D 170	H 195	L 220	P 150

Celkový průměr pokusu je 154,38

Po setření bloků dostaneme:

I	A	-7	B	-2	C	13	D	-4
II	E	-27	F	1	G	8	H	18
III	I	-7	J	-54	K	38	L	23
IV	M	-31,75	N	8,25	O	5,25	P	18,25
V	A	-19,75	E	22,25	I	5,25	M	-7,75
VI	B	-49,5	F	8,5	J	45,5	N	-4,5
VII	C	-25,25	G	1,75	K	11,75	O	11,75
VIII	D	-13,75	H	11,25	L	36,25	P	-33,75

Upravené součty jsou

				součet řad
Q_A	-26,75	Q_B	-51,5	$R_1 = -108,25$
Q_E	-4,75	Q_F	9,5	$R_2 = 43,75$
Q_I	-1,75	Q_J	-8,5	$R_3 = 98,75$
Q_M	-39,5	Q_N	3,75	$R_4 = -34,25$
součet sloupců				
$S_1 =$	-72,75	$S_2 =$	-46,75	$\Sigma = 0$
$S_3 =$	64,25	$S_4 =$	55,25	

Suma čtverců pro varianty pak činí $1/2 [13060,9 + (24556,7 + 14658,7)/4] = 11432,4$.

Celková suma čtverců je $(-7)^2 + (-27)^2 + \dots + (11,75)^2 + (-33,75)^2 = 17\,002$. Původně jsme měli 32 původních dat, které byly setřeny 8 hodnotami, takže zůstalo 24 stupňů volnosti (dF) celkem, z toho pro odrůdy přísluší 15 ($16-1$) a na chybu zbude 9 dF .

Analýza variance je pak následující:

příčina proměnlivosti	dF	SS	MS	F
odrůdy	15	11 434,4	762,2	1,23
chyba	9	5 569,6	618,8	
celkem (celková vrstva)	24	17 002,0		

Údaje pro varianty jsou:

pro A: $154,38 + 1/2[-26,75 + (-108,25 - 72,75)/4] = 118$; B109; ... P149.

Nejmenší průkazná variance rozdílu mezi dvěma variantami činí $[(4 + 1)/4] \times 618,8 = 773,5$; $s = 27,8$. Významně se tedy liší odrůdy A a B na straně jedné a odrůda P na straně druhé (je mezi nimi rozdíl větší než 27,8).

L i t e r a t u r a

CHLOUPEK, O.: Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Praha, Academia 1995: 186 s.

CHLOUPEK, O.- EHRENBERGEROVÁ, J.: Analýza variance pomocí „stírání“. Genet. a Šlecht., 31, 1995: 123–127.

MUNZERT, M.: Einführung in das pflanzenbauliche Versuchswesen. P. Parey 1992: 163 s.

PEARCE, S. C. – CLARKE, G. M. – DYKE, G. V. – KEMPSON, R. E.: A Manual of Crop Experimentation. N. York, Griffin London and Oxford Univ. Press 1988: 358 s.

SCHUSTER, W. – LOCHOW, J. von: Anlage und Auswertung von Feldversuchen. Frankfurt/M, DLG Verlag 1979: 239 s.

Lattice experiments

The lattice experiments are recommended for trials where there is more variants and a limited amount of seed. The design and evaluation of simple lattices by sweeping is presented.

*prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc.,
Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno*

POSTGRADUÁLNÍ STUDIUM Z OBORU GENETIKY

PŘÍLOHA ČASOPISU GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ, 31, 1995, ČÍSLO 3

ELEKTROFORÉZA ISOENZYMŮ A NEENZYMATICKÝCH BÍLKOVIN METODY A APLIKACE V GENETICE A ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN*

Vladislav ČURN, Lenka SÁKOVÁ, Josef GRAMAN

*University of South Bohemia, Faculty of Agriculture,
České Budějovice, Czech Republic*

Již řada dřívějších studií při použití elektroforetických metod ukázala na výskyt geneticky kontrolovaných enzymových variant (izoenzymů) u celé řady rostlinných druhů (Shannon, 1968; Scandalios, 1969, 1974; Gottlieb, 1981). Mnozí autoři poukazovali na jejich možné využití v taxonomických, populačně genetických i šlechtitelských aplikacích. Isoenzymy a proteiny byly testovány u celé řady druhů rostlin i z hlediska možného charakterizování a identifikace odrůd (Nielsen, 1985).

Přehledné údaje o využití isoenzymů i proteinů (a případně i DNA markerů) v genetických (systematických, evolučních, populačně biologických, biotechnologických) studiích a šlechtění rostlin poskytuje řada publikací (Brewer, Sing, 1970; Ferguson, 1980; Jensen, Fairbrothers, 1983; Tanksley, Orton, 1983; Pasteur et al., 1988; Weeden, 1989; Hillis, Moritz, 1990; Soltis, Soltis, 1990; Hoelzel, 1992; Zimmer et al., 1993).

Isoenzymy i zásobní proteiny jsou již po relativně dlouhé období využívány jako biochemické markery ve šlechtitelské a semenářské praxi. Metoda analýzy isoenzymů a proteinů pomocí elektroforézy na gelovém nosiči (agaru, škrobu nebo polyakrylamidu) našla své uplatnění v taxonomických a fylogenetických studiích (Vaughan et al., 1966; Vaughan, Waite, 1967; Vaughan, Denford, 1968; Vaughan, Gordon, 1973; Denford, Vaughan, 1977; Truco, Arús, 1987; Arús et al., 1991, 1992), v identifikaci hybridů po somatické hybridizaci – fúzi protoplastů (Schenck, Wolf, 1986; Sundberg, Glimelius, 1986, 1991; Chen, Heneen, 1989; Sjödin, Glimelius, 1989) a vzdálené

* Řešeno za podpory EC TEMPUS JEP-2216 a Grantové agentury ČR (GA 506/93/0998 a GA 513/94/0298).

hybridizaci (Byrne, Littleton, 1989; Bennett et al., 1991; Hwang et al., 1991), pro charakterizování adičních linií např. řepky (Chevre et al., 1991), možnosti predikce projevu heterozního efektu u F1 hybridů kukuřice a rýže (Frei et al., 1986; Peng et al., 1988).

Pravděpodobně nejvýznamnější aplikaci lze spatřovat v kontrole čistoty osiva F1 hybridů (Nijenhuis, 1971; Arús, 1983; Tanksley, Orton, 1983; Luvhový, Reňáková, 1989; Juráček, Múdry, 1994 a další) a k identifikaci a charakterizování odrůd zemědělských plodin:

Obiloviny – řada aplikací u pšenice využívá gliadinových a gluteninových markerů pro charakterizování a identifikaci odrůd (Černý et al., 1989; Šašek et al., 1989; Černý, 1992; Hubík, 1992). Thompson et al., (1990) používali techniku isoelektrické fokusace k identifikaci odrůd ječmene pomocí isoenzymových a proteinových markerů. Hordeinové markery separované pomocí SGE nebo PAGE používali i další autoři (Šašek et al., 1992; White, Cooke, 1992; Hsam et al., 1993). U kukuřice se používají isoenzymové markery pro účely testování čistoty a pravosti šlechtitelských inzuchtních linií (Orman et al., 1991; Juráček, Múdry, 1994), u rýže se pro účely rozlišení odrůd využívá 2-D elektroforéza proteinů (Komatsu et al., 1993) nebo je doporučována technika SDS-PAGE albuminů a globulinů (Yupsanis et al., 1992).

Olejniný – u slunečnice byla používána SGE pro charakterizování komerčních hybridů a planých druhů (Voeste et al., 1993), u řepky se isoenzymová analýza používá ve šlechtitelských programech některých firem (Hackenberg, osobní sdělení; Hartmann, osobní sdělení), isoenzymové markery jsou využívány i pro charakterizování a identifikaci odrůd nebo šlechtitelského materiálu (Arús et al., 1985; Mündges et al., 1990; Čurn, 1995).

Luskoviny – k identifikaci odrůd hrachu je používána technika SDS-PAGE zásobních proteinů (Šuška, Stejskal, 1992) nebo elektroforéza isoenzymů (Šuška, 1993), používána i k identifikaci odrůd sóji (Doong, Kiang, 1987).

Brambory – pro rychlé a spolehlivé rozlišení odrůd brambor je možné použít IEF esteráz a proteinů (Poppr, Holá, 1993), proteiny a isoenzymy esteráz byly používány i k identifikaci sbírkových klonů (Macias et al., 1989).

Trávy a jeteloviny – u většiny agronomicky významných trav není možné rozlišení odrůd pouze na základě morfologických znaků. Vhodnou metodou napomáhající rozlišení odrůd je isoenzymová a proteinová analýza, pomocí které je možné v populaci zjistit frekvenci různých fenotypů, odlišnosti mezi odrůdami mohou být určeny odlišnostmi v alelických frekvencích. K identifikaci odrůd trav se využívají proteinové markery – techniky SDS-PAGE zásobních bílkovin (Janeček, Doležal, 1992; Černoch, Doležal, 1993), isoenzymy esteráz, ACP, PGI, PGM (Wu et al., 1984; Freeman, Yoder, 1991; Di Renzo et al., 1992; Booy et al., 1993). Další aplikace analýzy isoenzymů u píce trav je určení změn

u syntetických odrůd (populací) během jejich generativního množení a určení stability odrůd (Hayward, McAdam, 1977). Zajímavou aplikací je použití isoenzymových markerů (isoenzymy PGI-2) pro zjišťování podílu daného genotypu jetele *Trifolium repens* v pastevních porostech (Prins et al., 1989).

Řepa – identifikace odrůd se provádí pomocí enzymů semen a listů a zásobních proteinů semen; tyto biochemické markery lze použít i k testování stability a vlivu prostředí na šlechtitelský materiál (Wagner, Wricke, 1991; Oleo et al., 1992).

Zelenina, ovoce a okrasné rostliny a další plodiny – u této skupiny rostlin se většinou využívají isoenzymové markery, v některých případech i markery na úrovni proteinů a v poslední době i na DNA úrovni. Aplikace se nacházejí ve šlechtění a identifikaci odrůd u česneku (Pooler, Simon, 1993), bobu (Bassiri, Rouhani, 1977), čekanky (Baes, Cutsem, 1993), maliníku (Cousineau et al., 1993), jabloně a jabloňových podnoží (Štampar, 1989; Samimy, Cummins, 1992; Manganaris, Alston, 1993), hrušně (Jang et al., 1991), révy vinné (Walters et al., 1989; Shiraishi et al., 1994), mandloně (Cerezo et al., 1989), ananasu (DeWald et al., 1988), cukrové třtiny (Glaszman et al., 1989), jahod – ve vztahu k meristémovému množení viruprostých rostlin (Nehra et al., 1991), chryzantém (Fiebich, Hennig, 1992), konvalinky (Verron, LeNard, 1993), tisů (Greer et al., 1993), jedlých hub (Roux, Labarere, 1990; Zervakis, Labarere, 1992).

Biochemické markery nejsou používány jen k charakterizování a identifikaci odrůd, ale i k popisu a rozlišení genových zdrojů (IBPGR, 1988). U řady zemědělských plodin a okrasných rostlin jsou pro účely identifikace a popisu materiálu využívány různé markery a techniky na úrovni DNA.

Z hlediska předpisů UPOV jsou pro právní ochranu odrůdy vyžadovány tzv. DUS testy; používání mnohdy pouze morfologických znaků pro charakterizování a odlišení odrůd již u některých rostlin nepostačuje. Biochemické genetické markery mohou být vhodným doplňkem klasických popisných metod a mohou napomoci k identifikaci a odlišení u některých skupin plodin (Nielsen, 1985). Tyto metody začínají být nejen šířeji uplatňované ve šlechtitelské a semenářské práci (popis, zkoušení a právní ochrana odrůd, zkoušení a certifikace osiv), ale biochemické a molekulárně biologické certifikáty mohou být v řadě států vyžadovány i při mezinárodním obchodu s osivy, sadbou i zemědělskými produkty (Sýkorová, 1992; Horváth, 1993; Juráček, Múdry, 1994).

Na genetické biochemické markery jsou kladeny určité požadavky:

- geneticky fixovaný a stabilní polymorfismus,
- vysoká dědivost,
- nezávislost na vnějších podmínkách,
- projev markeru v semeni nebo na úrovni klíčící rostlinky,
- vhodná separační a detekční technika.

Isoenzymy i mnoho bílkovin bez detekovatelné enzymatické aktivity (např. zásobní proteiny) tyto podmínky splňují a je možné je využívat jako genetických biochemických markerů. Řada autorů sleduje možnosti využití isoenzymů a proteinů v genetice a šlechtění rostlin – jako markerů pro popis a charakterizování šlechtitelského materiálu, identifikaci odrůd, markerování kvalitativních i kvantitativních znaků.

V tomto příspěvku bychom chtěli prezentovat přehled metod elektroforézy a detekce enzymů a zásobních proteinů, metod vyhodnocování elektroforeogramů využívaných na našem pracovišti (katedra pěstivařství, odd. genetiky a šlechtění rostlin Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity Č. Budějovice, řada metodik byla vypracována společně s NBIPSR – De Montfort University, Leicester). Biochemické markery na úrovni isoenzymů a proteinů bez detekovatelné enzymatické aktivity jsou na našem pracovišti využívány k hodnocení čistoty šlechtitelských materiálů a osiv, pro možnou identifikaci odrůd, ke studiu kontroly hybridnosti šlechtitelského materiálu, interakci rostlina – patogen/biopreparát a fenoménu SAR, markerování kvalitativních parametrů zemědělské produkce – u brukvovitých plodin, brambor, cukrovky, píceňích trav, některých zelenin, okrasných rostlin, dřevin.

Extrakce proteinů pro SDS elektroforézu

Při extrakci za přítomnosti detergentu (SDS) dochází k denaturaci proteinových molekul, dělení vyextrahovaného vzorku proteinů semene (listu či jiné části rostliny) probíhá rovněž v denaturačních podmínkách SDS elektroforézy. Semena brukvovitých rostlin, obsahující vyšší podíl rostlinných olejů je zapotřebí před vlastní extrakcí bílkovin šetrným způsobem (zastudena) odtučnit.

Rozdrcené, případně odtučněné semínko se v mikrocentrifugační zkumavce zhomogenizuje s 50 μ l extrakčního pufru (0,0625 M Tris-HCl, pH = 6,8, 5% BME, 2% SDS) a 3–4 hodiny probíhá extrakce v ledu při 4 °C. U proteinů extrahovaných z listů a hlíz brambor se postupuje obdobně – listový disk o $\varnothing$ 8 mm + 50 μ l pufru, příp. u hlíz disk o $\varnothing$ 8 mm, 2 mm silný + 100 μ l pufru. Po ukončení extrakce je vzorek centrifugován 8 min při 10 000 g (cca 13 000 ot. na mikrocentrifuze) ve 4 °C. Čirý supernatant (40 μ l) je přenesen do nové mikrocentrifugační zkumavky s 10 μ l nanášecího pufru (5 x LB: 5 ml 1,25 M Tris-HCl, pH = 6,8, 2,3 g SDS, 10 ml glycerolu, 5 mg BPB, k 500 μ l pufru se před použitím přidá 170 μ l BME). Vzorky jsou zmrazeny a uchovávány v mrazicím boxu při –70 °C (–20 °C).

Extrakce enzymů

Z důvodů zachování enzymatické aktivity je nutné všechny kroky provádět při nízké teplotě, poměrně rychle, a případně používat látky blokující proteázy.

Spektrum isoenzymů se mnohdy výrazně liší u rostlin v různých ontogenetických fázích, v různých rostlinných orgánech, proto je třeba rostliny pěstovat za

I. Složení roztoků pro PAGE, SDS-PAGE

		Nedenaturační gel		Denaturační gel	
		separační gel (7,5%)	zaostřovací gel (3,75%)	separační gel (10%)	zaostřovací gel (3,75%)
Redestilovaná voda	ml	37,5	12,5	31,5	12,15
AC/BIS	ml	15	2,5	20	2,5
Pufr A nebo A'	ml	7,5	–	7,5	–
Pufr B	ml	–	5	–	5
SDS	μl	–	–	600	200
Siřičitan sodný	μl	160	50	160	50
Persíran amonný	μl	300	150	300	150
TEMED	μl	30	20	30	20
AC/BIS:	30 g acrylamid + 0,8 g BIS/100 ml				
Pufr A:	7,27 g Tris (Trizma), 48 ml 1M HCl, pH = 7,5/100 ml				
Pufr A':	36,3 g Tris (Trizma), 48 ml 1M HCl, pH = 8,8/100 ml				
Pufr B:	6 g Tris, 48 ml 1M HCl, pH = 6,8/100 ml				
Na ₂ SO ₃ :	nasycený vodný roztok				
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ :	15% roztok				
SDS:	10% roztok				
Elektrodový pufr 1:	9,27 g kyseliny borité, NaOH do pH = 7,2/1 000 ml				
10x elektrodový pufr 2:	14,4 g glycinu, 3 g Tris (Trizma), pH = 8,3/1 000 ml				
10x elektrodový pufr 3:	144 g glycinu, 30,3 g Tris, 10 g SDS, pH = 8,3/1 000 ml				

AC/BIS – uchovávat ve tmě a chladnu, roztok stálý cca 3 týdny

gelové pufrы – uchovávat ve tmě a chladnu, stálé

persíran – lze uchovávat ve tmě a chladnu 1 týden

SDS – uchovávat ve tmě, cca 1 měsíc

elektrodový pufr 1 – připravovat před použitím

elektrodový pufr 2 a 3 – připravovat jako 10x koncentrovaný roztok, uchovávat ve tmě a chladnu

definovaných a kontrolovatelných podmínek nebo alespoň vzorky odebírat z rostlin ve stejné vývojové fázi (Čurn, nepublikováno).

Děložní lístek brukvovitých rostlin, mladé listy u klíčících rostlin trav, případně disk z listu nebo hlízy o Ø 8 mm se v mikrocetrifugační zkumavce v ledu homo-

genizuje s 50 μ l extrakčního pufru. Jako nejvhodnější extrakční systém se osvědčil 2% glutathionový pufr (2 % glutathionu, redukováná forma, titrováno 2M Trizma do pH = 7,6). Pro extrakci enzymů lze použít i další extrakční pufrы:

- 10mM Tris-HCl, pH = 6,8, 1mM BME
- pufrы s přidavkem inhibitorů proteáz, jako je PMSF či leupeptin:
 - 10 ml 0,5M Tris-HCl, pH = 6,8, 1 ml BME, 10 ml glycerol, 5 mg BPB, 79 ml vody, při extrakci se k 50 μ l pufru přidá 10 μ l PMSF – ze zásobního roztoku 17,419 mg PMSF/ml = 100 mM v isopropanolu
 - 50 mM Tris-HCl, pH = 6,8, obsahující 0,13 mg/ml leupeptinu a 1 % BME

Tyto extrakční systémy však neposkytovaly dobré výsledky. Hrubý homogenát se 3–4 minuty centrifuguje při 10 000 g ve 4 °C, 40 μ l supernatantu se přenesse do nové mikrocentrifugační zkumavky s 10 μ l nanášecího pufru (40% glycerol, 10 mg BPB/100 ml pufru). Vzorky jsou bezprostředně zmrazeny a uchovávány v mrazicím boxu při -70 °C (-20 °C). Zamražené enzymové extrakty lze uchovávat kolem 1 týdne, pak může docházet i k výraznější ztrátě enzymové aktivity. Při uchovávání vzorků při teplotě -70 °C lze vzorky skladovat i několik měsíců.

SDS elektroforéza proteinů

Dělení proteinů probíhá v diskontinuálním denaturačním PAGE systému – 4% zaostřovací gel o pH = 6,8 + SDS (složení gelových pufrů tab. I) a separační 10% gel o pH = 8,8 + SDS, elektrodový Tris-glycinový-SDS pufr o pH = 8,3.

Vzorky se do buněk nanáší v množství cca 25–30 μ l pod hladinu elektrodového pufru (mikroaplikátorem nebo automatickou pipetou). Elektroforéza probíhá při 40 mA/gel a 150–250 V při 6–8 °C po dobu asi 3 hodin (elektroforéza HOEFER SE600). Po ukončení elektroforézy jsou gely opláchnuty destilovanou vodou a barveny Coomassie Blue nebo jinou technikou.

Elektroforetická separace isoenzymů

Škrobový gel – elektroforéza probíhá na 10,5 % (–12 %) škrobovém gelu. Celkové množství škrobu (hydrolyzovaný škrob pro elektroforézu) se smíchá s 1 dílem gelového pufru (0,015M Tris, 0,003M kyselina citronová, pH = 7,7), 2 díly gelového pufru se uvedou do varu a vlijí se do homogenní suspenze škrobu. Gel se důkladně promíchá (v případě potřeby se může zahřát) a pomocí vývěvy se vytěsní vzduchové bublinky. Chladnoucí gel se nalije do připravené vaničky s hřebínkem. Po vychladnutí, nejlépe druhý den (gel je uložen v chladničce a zakryt PE fólií) probíhá vlastní elektroforéza. Gel se umístí do elektroforetické nádoby s Na-borátovým elektrodovým pufrem (0,3M kyseliny borité, 0,031M NaOH, pH = 7,5) a nanáší se vzorky – mikropipetou nebo aplikátorem do jamek nebo pomocí filtračního papíru (Whatman 3MM, čtverečky 8 x 8 mm) do rozfízlého gelu.

Pro dělení a detekci isoenzymů ACP, LAP, MDH, 6PGD je možné požit i citrát-morpholinový pufr o pH = 6,1 (elektrodový pufr – 0,04M kyselina citronová, titrovat N-morpholine do pH = 6,1, gelový pufr – 1 díl elektrodového pufru a 19 dílů vody).

Elektroforéza probíhá 30 minut při 30 mA a 150 V a poté při proudu až 60 mA a napětí 450 V při teplotě 6–8 °C. Po ukončení elektroforézy je gel rozříznut na několik plátků (při síle gelu 8–9 mm na 3–4 plátky) a ty mohou být barveny na různé enzymy.

Polyakrylamidový gel – elektroforéza probíhá v nenedenaturačním diskontinuálním PAGE systému. Při dělení a detekci isoenzymů esteráz je možné použít 4% zaostřovací gel o pH = 6,8 (složení gelových pufrů tab. I) a separační 7,5% gel o pH = 8,8 a elektrodový pufr Tris-glycinový o pH = 8,3 (EP-2, tab. I). Pro elektroforézu a zejména následnou detekci dalších enzymových systémů se jako vhodnější jevílo použití pufrovacího systému o nižším pH – zaostřovací gel 4% o pH = 6,8 a separační 7,5% gel o pH = 7,5, elektrodový pufr Na-borátový o pH = 7,2. Je možné požívat i veronalový pufr.

Vzorky se do buněk nanáší v množství 25–30 l pod hladinu elektrodového pufru. Elektroforéza probíhá při 25 mA/gel a 110–200 V při 6–8 °C po dobu asi tří hodin. Po ukončení elektroforézy jsou gely opláchnuty destilovanou vodou, 15 min ekvilibrovány v pufru používaném pro detekci enzymatické aktivity (při 4–6 °C) a barveny.

Isoelektrická fokusace

Pro účely isoelektrické fokusace enzymů a proteinů je používán jednofázový polyakrylamidový systém – nenedenaturační pro enzymy a denaturační pro proteiny, 7% gel a pH gradient 3–9 (amfolyt Anhinga nebo LKB Pharmacia – tab. II).

Vzorky jsou extrahovány stejným způsobem jako pro účely PAGE (nebo pro extrakci celkového proteinu pufr s 8M močovinou a Tritonem X-100), po extrakci a centrifugaci jsou zamrazeny (bez přidání pufru s BPB), před nanesením na gel je ke vzorku (40 µl) přidáno 10 µl odlišného nanášecího pufru (tab. III).

Fokusace probíhá v 1 mm gelech ve vertikálním uspořádání, s anodou v dolní elektrodové nádobě a pufr s 0,04 M kyselina asparagová nebo 0,02 M kyselina octová, jako katodový pufr je používán 1 M NaOH, resp. 0,02 M NaOH. Během fokusace je zapotřebí elektroforetickou jednotku chladit – teplota se udržuje v rozmezí 10–12 °C u enzymových gelů a kolem 15 °C u denaturačních gelů s močovinou. Fokusace probíhá při 30 W min. tři hodiny.

Detekce proteinů pomocí barvení Coomassie Blue

Při použití barvení Coomassie Blue (= Coomassie Blue R-250, Brilliant Blue R, Coomassie Brilliant Blue R-250, C.I. 42660) se gely přes noc barví ve směsi metanol : ledová kyselina octová : voda – 5 : 1 : 4 s 0,1% Coomassie Blue (barvička se rozpustí v methanolu, přidá se kyselina octová a voda, při jiném postupu přípravy

II. Složení roztoků pro IEF

		Separační gel (7,5%)	
		nedenaturační gel	denaturační gel
Redestilovaná voda	ml	35	12,6
AC/BIS	ml	15	15
Glycerol	ml	6	6
Amfolyt	ml	4	4
Triton	ml	-	4
Močovina	g	-	28,8
Siřičitan sodný	μl	160	160
Persíran amonný	μl	300	300
TEMED	μl	30	30
AC/BIS: 30 g acrylamid + 0,8g BIS/100 ml			
Triton: 30% roztok Triton X-100			
Na ₂ SO ₃ : nasycený vodný roztok			
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈ : 15% roztok			
Anolyt: 0,02M kyselina octová – 4,6 ml do 4 l destilované vody			
Katolyt: 0,02M NaOH – 0,8 g do 1 l			

roztoku je možná odlišná afinita k proteinu). Směs lze několikrát opakovaně použít. Odbarvení probíhá cca 24 hodin ve směsi etanol (metanol) : kys. octová : voda (2,5 : 1 : 6,5), s výměnou roztoků během odbarvování (2–3krát). Po dostatečném odbarvení jsou gely 6–7 hodin fixovány a dehydratovány ve směsi 45 % etanolu + + 3 % glycerolu, poté jsou sušeny na sušičce, nebo lépe v celofánu na skle při laboratorní teplotě na vzduchu po 2–3 dny.

Rychlejšího postupu lze docílit např. použitím barvení po dobu 45 min ve směsi 0,1 % Coomassie Blue R-250, 0,1 % síranu měďnatého v 25% isopropanolu a 10 % kyseliny octové. Gely byly odbarvované přes noc v 25% etanolu a 10% kyselině octové, poté opláchnuty v destilované vodě a ponořeny do acetonu. Po přidání acetonu dochází k dehydrataci a smrštění gelu a objevuje se bílé pozadí (v důsledku precipitace SDS). Na bílém pozadí poměrně dobře vyniknou i slabší modré proteinové pruhy. Obdobného výsledku lze dosáhnout i precipitací absolutním etanolem.

Barvení pomocí koloidního zlata

Detekce proteinů pomocí koloidního zlata je velice citlivá a přesná technika, výrazně citlivější než detekce Coomassie Blue a skýtající výhody i proti detekci

III. Složení nanášecích pufrů pro IEF

		Nedenaturační gel	Denaturační gel
Redestilovaná voda	μl	370	125
Glycerol	μl	100	100
Amfolyt	μl	30	30
Triton X-100	μl	–	33
Močovina	mg	–	240
DTT	mg	–	8

(barvení) stříbrem. Detekce probíhá na membráně (negativně nabitá membrána nitrocelulózová nebo PVDF membrána), pro tento způsob barvení je tedy nutné nejprve přenést proteiny z gelu na membránu.

Kapilární přenos proteinů na membránu: pro účely přenosu proteinů na membránu (technika Western blotu) je používána nitrocelulózová membrána s póry o velikosti 0,2 μm (SIGMA). Přenos proteinů probíhal v sendvičovém uspořádání *filtrační papír (Whatman 3 MM) – gel – membrána – filtrační papír a papírové ručnicky* přes noc při laboratorní teplotě. Pro kapilární přenos byl používán pufr 15,6 mM Tris (Trizma-base) a 120 mM glycín o pH = 8,3.

Detekce: po ukončení blotu se membrána 2krát 5 minut propláchne v PBS pufru o pH = 7,4 a je možné ponechat membránu na vzduchu oschnout a uchovávat ve 4 °C nebo ihned provést další detekci proteinů.

Membrána se inkubuje 30 min v PBS pufru s 0,3% Tween-20 ve 37 °C za neustálého mírného míchání. Poté se 3krát 5 min promývá v PBS pufru s 0,3% Tween-20 ve 20 °C. Během těchto kroků dochází k blokování přebytečných vazebných míst a vymytí solí, případně přebytečných látek (včetně proteinů) z membrány, dochází k silnému potlačení pozadí při detekci. Membrána se 3krát 1 minutu oplachuje v destilované (deionizované) vodě (odstranění přebytečných solí z pufru) a následuje vlastní detekce koloidním zlatem.

Pro detekci byl používán komerčně připravovaný roztok koloidního zlata (ProtoGold – PolySciences), určený pro detekci proteinů blottovaných na membránu. Detekce probíhala v roztoku koloidního zlata (cca 80 ml na membránu 15 x 15 cm) za stálého míchání při laboratorní teplotě přibližně dvě hodiny (již po 10 min byly patrné majoritní proužky).

Po ukončení detekce byla membrána 5krát 2 min propláchnuta v deionizované vodě a na vzduchu vysušena.

Barvení stříbrem a další techniky

Barvení stříbrem je velmi citlivá technika detekce proteinů na polyakrylamidovém gelu, až 100krát citlivější než detekce pomocí Coomassie Blue. Pro detekci

proteinů po SDS elektroforéze byl používán komerčně dodávaný detekční roztok – SIGMA SILVER STAINING KIT nebo BIO-RAD SILVER PLUS.

Další technikou, kterou je možné použít pro rychlé a orientační stanovení proteinového spektra, je inverzní barvení mědi.

Detekce enzymatické aktivity na gelu

Aspartát aminotransferáza (AAT) – aspartate transaminase (aspartate aminotransferase, glutamic-oxaloacetic transaminase – GOT), EC 2.6.1.1, L-aspartate:2-oxoglutarate aminotransaminase:

- 200 mg kyseliny asparagové, 100 mg kyseliny α -ketoglutarové – rozpustit ve 100 ml 0,1 M Tris-HCl, pH = 8,3, po rozpuštění se přidá 150 mg Fast Blue BB salt a 10 mg pyridoxal-5-fosfát, barvení 30–60 min při 28 °C, ve tmě.

Kyselá fosfatáza (ACP) – acid phosphatase, EC 3.1.3.2, orthophosphoric-monoester phosphohydrolase (acid optimum):

- 100 mg Fast Black K salt se rozpustí ve 100 ml 0,15 M Na-acetátového pufru, pH = 5,0, pak se přidá 50 mg β -naphthyl phosphate (jako 1% roztok v 50% acetonu), 2 ml 1 M $MgCl_2$, barvení 2–4 hodiny při 28 °C, ve tmě;
- 50 mg α -naphthyl phosphate (jako 1 % roztok v 50 % acetonu), 100 mg Fast Blue RR salt (nebo BBs), po rozpuštění se přidá 100 ml 50 mM Na-acetátového pufru, pH=5,0, 2 ml 1 M $MgCl_2$, barvení 2–4 hodiny při 28 °C, ve tmě.

Leucin aminopeptidáza (LAP) – leucyl aminopeptidase (leucine aminopeptidase, peptidase S, cytosol aminopeptidase), EC 3.4.11.1:

- 40 mg L-leucin- β -naphthylamid.HCl, se rozpustí ve 100 ml 0,08 M Tris-maleate pufru, pH = 6,0, 50 mg Fast Black K salt, barvení 30–60 min při 28 °C, ve tmě.

Esterázy (EST) – arylesterase, EC 3.1.1.2, aryl-ester hydrolase:

- 40 mg α - a β -naphthyl acetátu (jako 1% roztok v 50 % acetonu), 100 mg Fast Blue BB salt, 100 ml 0.1 M Tris-HCl pufru, pH = 7,2, barvení 2krát 15 min při 37 °C, ve tmě;
- 40 mg α -naphthyl butyrátu (jako 1% roztok v 50% acetonu), 100 mg Fast Blue BB salt, 100 ml 0,1 M Tris-HCl pufru, pH = 7,2, barvení 2krát 20 min při 37 °C, ve tmě (při použití Fast Blue RR salt je nutné barvicí směs před použitím filtrovat).

Glutamát dehydrogenáza (GDH) – glutamate dehydrogenase (glutamic dehydrogenase), EC 1.4.1.2, L-glutamate: NAD⁺ oxidoreductase (deaminating):

- 30 mg NAD, 0,2 ml 10 mM $CaCl_2$, L-glutamát, Na-salt 800 mg, 20 mg MTT (NBT), 4 mg PMS, 100 ml 50 mM Tris-HCl pufru, pH = 8,0, barvení do dvou hodin při 30 °C, ve tmě.

Malát dehydrogenáza (MDH) – malate dehydrogenase (malic dehydrogenase), EC 1.1.1.37, (S)-malate: NAD⁺ oxidoreductase:

- 30 mg NAD, DL-malic acid 400 mg, MTT (NBT) 20 mg, PMS 4 mg, 100 ml 50 mM Tris-HCl pufru, pH = 8,5, barvení 1–2 hodiny při 30 °C, ve tmě.

Peroxidáza (PER) – peroxidase, EC 1.11.1.7, donor: hydrogen-peroxide oxidoreductase:

- k 50 mg TMBZ v 50 ml metanolu se přidá 50 ml 1M acetátového pufru, pH = 4,7, v tomto roztoku se gel inkubuje ve 30 °C po 30 min, poté se přidají 2 ml 30% H₂O₂, proužky se objeví během několika minut;
- 50 mg 3A9EC se rozpustí ve 3 ml DMF, přidá se 100 ml 50 mM Na-acetátového pufru, pH = 4,5, a 0.75 ml 3% H₂O₂, proužky se objevují v 5–30 minutách.

Shikimát dehydrogenáza (SDH) – shikimate 5-dehydrogenase, EC 1.1.1.25, shikimate: NADP⁺ 5-oxidoreductase:

- 50 mg shikimic acid, 5 mg NADP, 10 mg MTT (NBT), 2 mg PMS, 50 ml 50mM Tris-HCl pufru, pH = 8,5.

Po obarvení jsou gely přes noc fixovány a dehydratovány ve směsi 45% etanolu a 3% glycerolu, poté jsou sušeny – na sušičce, nebo lépe v celofánu na skle při laboratorní teplotě (2–3 dny).

Barvičky používané pro detekci jsou většinou silně fotolabilní – senzitivní na světlo, proto je nutné připravovat roztoky bezprostředně před použitím, zabránit přístupu světla k barvicí směsi a barvení provádět v termostatu ve tmě.

Naftolové substráty (NP, NA...) se připravují jako 1% zásobní roztoky v 50% acetonu (substrát rozpouští v acetonu), NAD, NBT, MTT se připravují v koncentraci 10 mg/ml, NADP a PMS v koncentraci 5 mg/ml – roztoky lze uchovávat i několik dní v lednici. Ostatní substráty se připravují před použitím nebo jako zásobní roztoky.

Po obarvení jsou gely přes noc fixovány a dehydratovány ve 45% ethanolu + 3% glycerolu, poté jsou sušeny – na sušičce, nebo lépe v celofánu na skle (2 dny).

Z důvodů zachování enzymatické aktivity a minimalizace poškození extraktů proteázami je nutné všechny operace, až na detekci proteinů a barvení enzymů, provádět při 2–4 °C, elektroforézu v chladničce s pufru o teplotě 6–8 °C nebo v kompletu s výkonným chladicím zařízením. Vzorky je možné uchovávat 1–2 týdny při teplotě –20 °C, proteinové vzorky i déle. V mrazicím boxu při teplotě skladování –70 °C lze vzorky uchovávat i několik měsíců bez patrné ztráty enzymatické aktivity. Pro přípravu roztoků doporučujeme používat ve skle redestilovanou vodu. Chemikálie pro elektroforézu, enzymové substráty doporučujeme používat velice čisté, stupně p.a. nebo pro elektroforézu, formulace detekčních roztoků odpovídají chemikáliím SIGMA Chem.Co. (v kvalitě Molecular Biology Reagents nebo Electrophoresis Grade), případně FLUKA, SERVA, běžné chemikálie LACHEMA.

Vyhodnocování získaných elektroforeogramů

Pro vyhodnocování výsledků po elektroforéze – tj. proteinových nebo isoenzymových spekter – je používána řada metod. Mezi jednodušší metody vhodné při malém množství analyzovaných vzorků a malém počtu proužků je ruční proměření gelů a stanovení relativní pohyblivosti jednotlivých isoenzymů nebo proteinových pruhů. R_f (relativní pohyblivost) se zjistí jako poměr vzdálenosti sledovaného pruhu a čela elektroforézy od startu, čelo označuje markerovací barvička – BPB (u některých enzymových gelů nemusí být po obarvení zřetelná, je vhodné vyznačit polohu čela na gelu, např. zářezem), start u PAGE gelu v diskontinuálním systému je počátek hustšího (separačního gelu). Pozici proužků lze i graficky vyjádřit (obr. 7).

Další z metod je proměření gelů na laserovém denzitometru (např. UltroScan LKB Pharmacia nebo LD-02 Instrument) a softwarové porovnání získaných křivek optické density. U enzymových gelů mohou být výsledky problematicky interpretovatelné – barevné pruhy enzymatické aktivity a zbarvení pozadí gelu, záleží i na softwarovém vybavení přístroje.

Na našem pracovišti využíváme komplexnější počítačové zpracování gelů – při využití barevného stolního scanneru s vysokou rozlišovací schopností (300–800 dpi, příp. až 3 200 dpi) nebo laserového densitometru jako záznamových zařízení a speciálního software – *GelManager for Windows* (BioSystematica, U.K.) pro vyhodnocování.

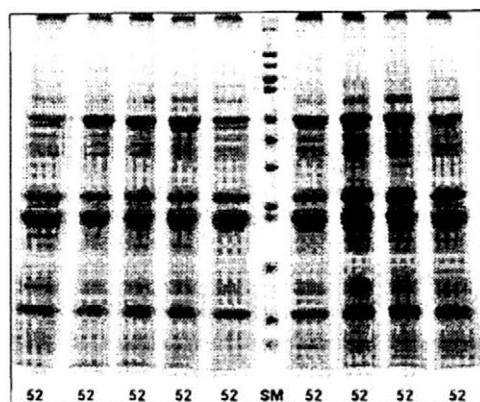
GelManager je softwarový produkt určený zejména pro analýzu a objektivní porovnávání jednorozměrných elektroforetických spekter. Umožňuje konstrukci rozsáhlých databází fingerprintů, které pak mohou být porovnávány. Využití má zejména v epidemiologických studiích, identifikaci genotypů, systematice, ekologii, populační genetice, klinické biochemii a biotechnologických aplikacích. Pro vyhodnocování lze použít i další programy (*Stratagene*, *Bio-Rad*), výsledky u 1-D elektroforézy jsou srovnatelné.

Postup obrazové analýzy gelů

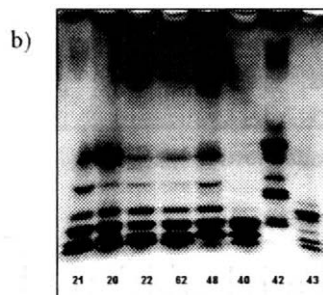
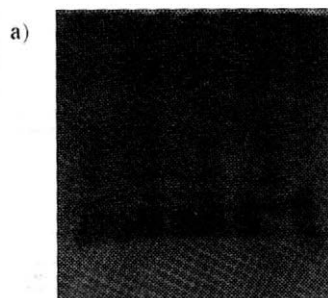
Následující kroky představují kostru postupu počítačového zpracování a vyhodnocování elektroforeogramů:

- záznam gelu ze scanneru nebo absorbančního profilu z denzitometru (obr. 1)
- úprava a optimalizace obrázku – záznamu gelu (obr. 2)
- výběr pozice vzorku a záznam křivky optické hustoty vzorku (obr. 3)
- odstranění pozadí
- korekce absorbančních profilů na základě referenčních spekter
- kontrola a korekce pozice pík proužků
- porovnání profilů (korelací profilů nebo porovnáním pozice proužků – obr. 4)
- výpočet matice podobnosti (koeficienty podobnosti – obr. 5)

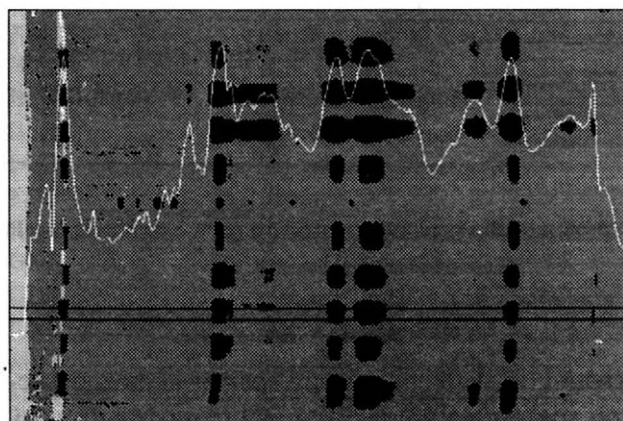
- výpočet a grafické znázornění pomocí dendrogramu (obr. 6)
- identifikace nového paternu porovnáním s databází



1. Skenovaný proteinový gel

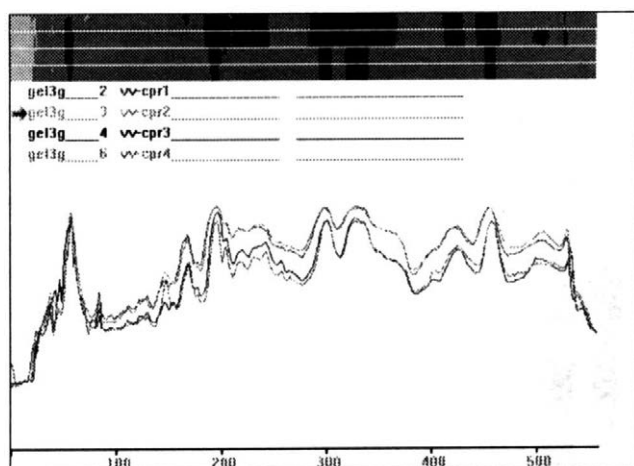


2. Skenovaný enzymový gel (EEF-EST) před korekcí (a) a po korekcí (b)



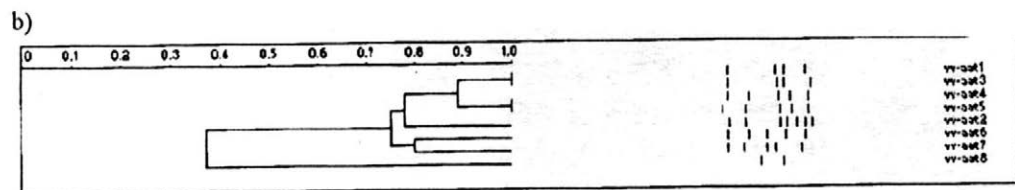
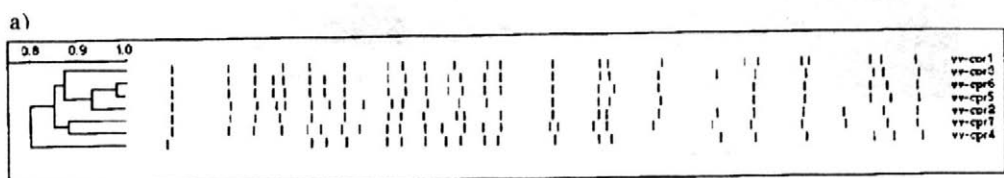
3. Záznam absorbančních profilů ze skenovaného gelu

4. Porovnání absorbančních profilů



vv-cpr1	100							vv-cpr1	100								
vv-cpr2	64	100						vv-cpr2	99	100							
vv-cpr3	88	89	100					vv-cpr3	98	98	99	100					
vv-cpr4	74	71	84	100				vv-cpr4	98	98	99	100					
vv-cpr5	93	80	92	79	100			vv-cpr5	99	99	99	98	100				
vv-cpr6	89	87	98	86	94	100		vv-cpr6	99	99	99	98	100	100			
vv-cpr7	73	88	90	83	86	88	100	vv-cpr7	98	98	98	99	99	99	100		

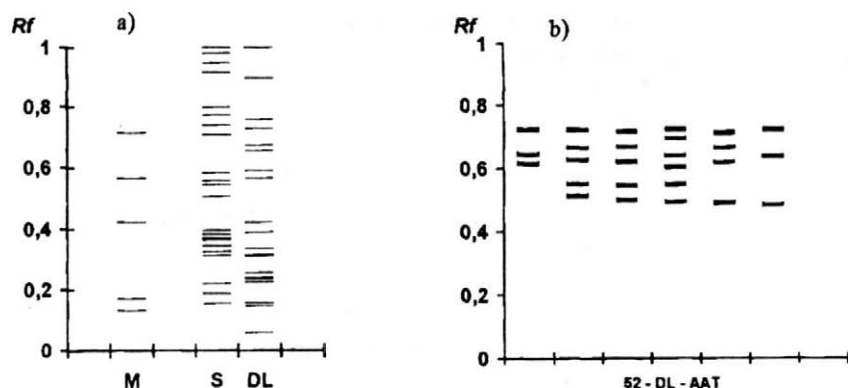
5. Matice koeficientů podobnosti



6. Dendrogram a pozice proužků (a) u proteinového gelu (SDS-PAGE) a (b) u enzymového gelu (AAR)

Clusterová analýza

Celkem přehledným a ilustrativním výsledkem analýzy spekter je možnost se skupení (sgrupování) podobných spekter na základě výpočtu podobnostní matice – koeficientů podobnosti každého vzorku se všemi ostatními z vybrané



7. Rf a grafické znázornění pozice proužků (a) u proteinového gelu (SDS-PAGE) a (b) u enzymového gelu (AAT)

databáze. Výsledky matice jsou pak podrobeny clusterové analýze (UPGMA – unweighted pair group method using averages) a výsledky zobrazeny jako dendrogram (příklady obr. 6).

Data (absorbanční profily, pozice píků a další databáze) mohou být exportována jako ASCII soubory pro další zpracování. Korekce obrázků gelů byly prováděny za použití speciálního grafického software *ImagePals®*–U-Lead Systems, Inc. nebo *PhotoStyler-HP*.

Vyvětlivky

3A9EC	3-amino-9-ethylcarbazole
AC	akrylamid
AAT	aspartát aminotransferáza
ACP	kyselá fosfatáza
AMPS	persíran amonný (ammonium persulphate)
BIS	N,N'-methylén-bis-akrylamid (bisakrylamid)
BME	2-merkapt ethanol
BPB	bromfenolová modř
DMF	N,N-dimethylformamid
EST	esterázy
G-6PDH	glukóza 6 fosfát dehydrogenáza
GDH	glutamát dehydrogenáza
GOT	glutamát-oxalacetát transamináza (= AAT)
LAP	leucin aminopeptidáza
MDH	malát dehydrogenáza
MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromid (thiazolyl blue)
NA	naftyl acetát (α nebo β)

NAD	β -nikotinamid adenin dinukleotid
NADP	β -nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
NBT	nitro blue tetrazolium
NP	naftyl fosfát
P5P	pyridoxal 5-fosfát
PAA	polyakrylamid
PAGE	elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (polyacrylamide gel electrophoresis)
PBS	phosphate buffered saline
PER	peroxidáza
6-PGDH	6-fosfoglukonát dehydrogenáza (PGD, 6-PGD)
PMS	phenazin methosulfát
PMSF	phenyl methyl sulfonyl fluorid
SDH	shikimát dehydrogenáza
SDS	dodecyl sulfát sodný (sodium dodecyl sulphate, lauryl sulphate – sodium salt)
SGE	elektroforéza na škrobovém gelu
TEMED	N,N,N',N'-tetramethylethyléndiamin
TMBZ	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine
Tris (TRIZMA-base)	tris-(hydroxymethyl)-aminomethan

L i t e r a t u r a

- ARÚS, P.: Genetic Purity of Commercial Seed Lots. In: TANKSLEY, S. D. – ORTON, T. J.: Isozymes in Plant Genetics a Breeding, Part A. Amsterdam–Oxford–New York, Elsevier Sci. Publ. 1983: 415–423.
- ARÚS, P. – CHEVRE, A. M. – DELOURME, R. – EBER, F. – KERLAN, M., C. – MARGALE, E. – QUIROS, C. F.: Isoenzyme nomenclature for eight enzyme systems in three *Brassica* species. In: Proc. 8th Int. Rapeseed Congress, Saskatoon July 9–10, 1991.
- ARÚS, P. – QUIROS, C. F. – CHEVRE, A. M. – DELOURME, R. – EBER F.: Procedures of starch gel electrophoresis of isozymes in *Brassica*. INRA–Station D'Amélioration des Plantes, 1992: 1–9.
- ARÚS, P. – SHIELDS, C. R. – ORTON, T. J.: Application of isozyme electrophoresis for purity testing a cultivar identification of F₁ hybrids of *Brassica oleracea*. Euphytica, 34: 1985: 651–657.
- BAES, P. – CUTSEM, P., van: Electrophoretic analysis of eleven isozyme systems a their possible use as biochemical markers in breeding of chicory (*Cichorium intybus* L.). Plant Breed., 110, 1993: 16–23.
- BASSIRI, A. – ROUHANI, I.: Identification of broad bean cultivars based on isozyme patterns. Euphytica, 26, 1977: 279–286.

- BENNETT, J. H. – SAJID, G. M. – CHATTERTON, N. J. – ASAY, K. H.: Electro-phoretic characterization of quackgrass x bluebunch wheatgrass hybrid seed. *Seed Sci./Technol.*, 19, 1991: 355–362.
- BOOY, G. – DREVEN, F., van – STEVERINK-RABEN, A.: Identification of rye-grass varieties (*Lolium* spp.) using allele frequencies of the PGI-2 a ACP-1 isozyme systems. *Plant Var. Seeds*, 6, 1993: 179–196.
- BREWER, G. J. – SING, C. F.: *An Introduction to Isozyme Techniques*. New York–London, Acad. Press 1970.
- BYRNE, D. H. – LITTLETON, T. G.: Interspecific hybrid verification of plum x x apricot hybrids via isozyme analyses. *Hort. Sci.*, 24, 1989: 132–134.
- CEREZO, M. – SOCIAS I COMPANY, R. – ARÚS, P.: Identification of almond cultivars by pollen isoenzymes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 114, 1989: 164–169.
- CHEN, B. Y. – HENEEN, W. K.: Resynthesized *Brassica napus* L.: A review of its potential in breeding a genetic analysis. *Hereditas*, 111, 1989: 255–263.
- CHEVRE, A. M. – THIS, P. – EBER, F. – DESCHAMPS, M. – RENARD, M. – DELSENY, M. – QUIROS, C. F.: Characterization of disomic addition lines *Brassica napus* – *Brassica nigra* by isozyme, fatty acid, a RFLP markers. *Theor. Appl. Genet.*, 81, 1991: 43–49.
- COUSINEAU, J. C. – AERSON, A. K. – DAUBENY, H. A.: Characterization of red raspberry cultivars a selections using isoenzyme analysis. *Hort. Sci.*, 28, 1993: 1185–1186.
- ČERNOCH, V. – DOLEŽAL, K.: Identifikace hybridů lipnice luční (*Poa pratensis* L.) elektroforézou zásobních bílkovin. *Rostl. Vyr.*, 39, 1993: 877–888.
- ČERNÝ, J.: Využití elektroforézy gliadinových a gluteninových markerů jako metody genetické analýzy potravinářské pšenice. [Habilitační práce.] VŠZ – agron. fak., Praha 1992.
- ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. – KUBÁNEK, J. – SÝKOROVÁ, S.: Identifikace odrůd pšenice obecné souběžnou elektroforézou gliadinů a podjednotek gluteninů s vysokou molekulovou hmotností. *Genet. a Šlecht.*, 25, 1989: 125–133.
- ČURN, V.: Acid phosphatase and leucine aminopeptidase isozymes as biochemical markers of homogeneity in oil seed rape androgenetic lines. *Plant Growth Reg.*, 16, 1995: 59–63.
- DENFORD, K. E. – VAUGHAN, J. G.: A comparative study of certain seed isoenzyme in the ten chromosome complex of *Brassica campestris* a its allies. *Ann. Bot.*, 41, 1977: 411–418.
- DEWALD, M. G. – MOORE, G. A. – SHERMAN, W. B.: Identification of pineapple cultivars by isozyme genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 113, 1988: 935–938.
- DIRENZO, M. A. – POVERENE, M. M. – MEDINA, M. I.: Identification of lovegrass (*Eragrostis curvula*) cultivars by electrophoresis of seed isozymes. *Seed Sci. Technol.*, 20, 1992: 101–110.

DOONG, J. Y. H. – KIANG, Y. T.: Cultivar identification by isozyme analysis. Soybean Gen. Newslett., 14, 1987: 189–226.

FERGUSON, A.: Biochemical Systematics a Evolution. Glasgow a London, Blackie 1980.

FIEBICH, D. – HENNIG, F.: Einsatz der Isoenzymanalyse in der Chrysanthemenzüchtung. Gartenbauwissenschaft, 57, 1992: 212–218.

FREEMAN, G. W. – YODER, F. A.: Examination of Kentucky bluegrass blends using esterase isoenzyme electrophoresis. Seed Sci. Technol., 19, 1991: 553–560.

FREI, O. M. – STUBER, C. W. – GOODMAN, M. M.: Use of allozymes as genetic markers for predicting performance in maize single cross hybrids. Crop Sci., 26, 1986: 37–42.

GLASZMANN, J. C. – FAUTRET, A. – NOYER, J. L. – FELDMANN, P. – LANAUD, C.: Biochemical genetic markers in sugarcane. Theor. Appl. Genet., 78, 1989: 537–543.

GOTTLIEB, L. D.: Electrophoretic Evidence a Plant Populations. In: REINHOLD, L. – HARBORNE, J. B. – SWAIN, T. (Eds.): Progress in Phytochemistry, Vol. 7. Oxford, Pergamon Press 1981: 1–46.

GREER, C. E. – SCHUTZKI, R. E. – FERNAEZ, A. – HANCOCK, J. F.: Electrophoretic characterization of *Taxus* cultivars. HortTechn., 3, 1993: 430–433.

HAYWARD, M. D. – McADAM, N. J.: Isozyme polymorphism as a measure of distinctiveness a stability in cultivars of *Lolium perenne*. Z. Pflanzenzücht., 79, 1977: 59–68.

HILLIS, D. M. – MORITZ, C.: Molecular Systematics. Sunderland, MA. Sinauer Ass. Inc 1990.

HOELZEL, A. R.: Molecular Genetic Analysis of Populations. New York, IRL Press at Oxford Univ. Press 1992.

HORVÁTH, L.: Biochemické, molekulárne a morfometrické techniky v semenárskej kontrole, odrodovom skúšobníctve a právnej ochrane odrod rastlín v Slovenskej republike. Ponohosp. skúšobníctvo, 1, 1993: 17–20.

HSAM, S. L. K. – SCHICKLE, H. – WESTERMEIER, R. – ZELLER, F. J.: Identification of cultivars of crop species by polyacrylamide electrophoresis. I. Commercial barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars grown in Germany. Monatsschrift Brauwissenschaft, 46, 1993: 86–94.

HUBÍK, K.: Elektroforéza gliadinové frakce zásobních bílkovin zrna pšenice v polyakrylamidovém gelu. Rostl. Vyr., 38, 1992: 765–771.

HWANG, Y. J. – YOSHIKAWA, K. – OKUBO, H.: Identification of interspecific hybrids between *Camelia reticulata* and *C. chrsantha* by isozyme analysis. Sci. Hort., 48, 1991: 269–275.

JANEČEK, J. – DOLEŽAL, K.: Identifikace čs. odrůd jílků, kostřav a jejich hybridů pomocí SDS elektroforézy zásobních bílkovin. Genet. a Šlecht. 28, 1992: 301–306.

- JANG, J. T. – TANABE, K. – TAMURA, F. – BANNO, K.: Identification of *Pyrus* species by peroxidase isozyme phenotypes of flower buds. J. Japan. Soc. Hort. Sci., 60, 1991: 513–519.
- JENSEN, U. – FAIRBROTHERS, D. E.: Proteins a Nucleic Acids in Plant Systematics. Berlin–Heidelberg, Springer Verlag 1983.
- JURÁČEK, L. – MÚDRY, P.: Význam a systém testovania odrd kultúrnych rastlín vo Francúzsku. Ponohosp. skúšobníctvo, 2, 1994: 17–18.
- KOMATSU, S. – KAJIWARA, H. – HIRANO, H.: A rice protein library: a data-file of rice proteins separated by two-dimensional electrophoresis. Theor. Appl. Genet., 86, 1993: 935–942.
- LUHOVÝ, M. – REŇÁKOVÁ, M.: Rychlé stanovení hybridnosti růžičkové kapusty elektroforézou isoenzymů kyselý fosfatázy. Bull. výzk. šlecht. Úst. zelin. Olomouc, 33, 1989: 61–66.
- MACIAS, M. M. – MANCILLA, R. T. – CONTRERAS, A. M.: Identification de clones de papa chilena (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) por electrophoresis de proteínas y esterases. Agro. Sur., 17, 1989: 56–63.
- MANGANARIS, A. G. – ALSTON, F. H.: Peroxidase isoenzyme genes in the identification of apple cultivars a *Malus* species. J. Hort. Sci., 68, 1993: 775–781.
- MÜNDGES, H. – KÖHLER, W. – FRIEDT, W.: Identification of rapeseed cultivars (*Brassica napus*) by starch gel electrophoresis of enzymes. Euphytica, 45, 1990: 179–187.
- NEHRA, N. S. – KARTHA, K. K. – STUSHNOFF, C.: Isozymes as markers for identification of tissue culture a greenhouse-grown strawberry cultivars. Can. J. Plant Sci., 71, 1991: 1195–1201.
- NIELSEN, G.: The use of isozymes as probes to identify a label plant varieties a cultivars. Isozymes: Current Topics Biol. Medical Res., 12, 1985: 1–32.
- NIJENHUIS, B. T. E.: Estimation of the proportion of inbred seed in Brussels sprouts hybrid seed by acid phosphatase isoenzyme analysis. Euphytica, 20, 1971: 498–507.
- OLEO, M. – GEYT, J. P. C., van – JACOBS, M.: Enzyme a storage protein electrophoresis in varietal identification of sugar beet. Theor. Appl. Genet., 85, 1992: 379–385.
- ORMAN, B. A. – LAWRENCE, G. D. – DOWNES, P. M. – PHILLIPS, D. S. – RIPBERGER, C. J.: Assessment of maize inbred genetic purity by isozyme electrophoresis. Seed Sci. Technol., 19, 1991: 527–535.
- PASTEUR, N. – PASTEUR, G. – BONHOMME, F. – CATALAN, J. – BRITTON-DAVIDIAN, J.: Practical Isozyme Genetics. Chichester, Ellis Horwood Ltd. 1988.
- PENG, J. Y. – GLASZMANN, J. C. – VIRMANI, S. S.: Heterosis a isozyme divergence in India rice. Crop Sci., 28, 1988: 561–563.
- POOLER, M. R. – SIMON, P. W.: Characterization a classification of isozyme a morphological variation in a diverse collection of garlic clones. Euphytica, 68, 1993: 121–130.

POPPR, J. – HOLÁ, Z.: Užití izoelektrické fokusace k identifikaci odrůd brambor. Rostl. Vyr., 39, 1993: 1057–1064.

PRINS, E. – SAERS, P. M. – LYONS, T. B. – WEWALA, G. S.: Use of electrophoretic techniques to identify the proportion of an improved white clover cultivar (Grasslas Kopu) in a mixed sward. N. Z. J. Agr. Res., 32, 1989: 515–520.

ROUX, P. – LABARERE, J.: Isozyme characterization of dikaryotic strains of the edible basidiomycete *Agaricus bitorquis* (Quel.) Sacc. (syn. *Agaricus edulis*). Exp. Mycology, 14, 1990: 101–112.

SAMIMY, C. A. – CUMMINS, J. N.: Distinguishing apple rootstocks by isozyme banding patterns. Hort. Sci., 27, 1992: 829–831.

SCANDALIOS, J. G.: Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. Biochem. Genet., 3, 1969: 37–79.

SCANDALIOS, J. G.: Isozymes in development and differentiation. Ann. Rev. Plant. Physiol., 25, 1974: 225–258.

SCHENCK, H. R. – WOLF, G.: Characterization of somatic *Brassica napus* hybrids by polyacrylamide gel electrophoresis. Plant Breed., 97, 1986: 72–74.

SHANNON, L. M.: Plant isoenzymes. Ann. Rev. Plant Physiol., 19, 1968: 187–210.

SHIRAISHI, S. – OHMI, C. – WAKANA, A. – HIRAMATSU, M.: Variation of glucosephosphate isomerase and phosphoglucose mutase isozymes in *Vitis* and their use in grape breeding. J. Fac. Agr., Kyushu Univ., 38, 1994: 255–272.

SJÖDIN, C. – GLIMELIUS, K.: *Brassica naponigra*, a somatic hybrid resistant to *Phoma lingam*. Theor. Appl. Genet., 77, 1989: 651–656.

SOLTIS, D. E. – SOLTIS, P. S.: Isozymes in Plant Biology. London, Chapman and Hall 1990.

SUNDBERG, E. – GLIMELIUS, K.: A method for production of interspecific hybrids within *Brassicaceae* via somatic hybridization, using resynthesis of *Brassica napus* as a model. Plant Sci., 43, 1986: 155–162.

SUNDBERG, E. – GLIMELIUS, K.: Production of cybrid plants within *Brassicaceae* by fusing protoplasts and plasmolytically induced cytoplasts. Plant Sci., 79, 1991: 205–216.

SÝKOROVÁ, S.: Využití elektroforézy bílkovin při komerčním hodnocení zemědělských produktů. Věstník ČSAZ č. 10, 1992: 542–543.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – BRADOVÁ, J. – PAŘÍZEK, P.: Genetické hordeinové markery jarního ječmene. Rostl. Vyr., 38, 1992: 745–755.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – SÝKOROVÁ, S.: An innovated catalogue of gliadin markers of Czechoslovak common wheat varieties. Scientia Agric. Bohemoslov., 21, 1989: 257–266.

ŠTAMPAR, F.: Identifikacija kultivarjev jablane (*Malus domestica* Borkh.) z elektroforetsko analizo listnih izoencimov. Zbor. Biot. Fak. Univ. Ljubljana, 53, 1989: 91–106.

- ŠUŠKA, M.: Isoenzymes from pea (*Pisum*) leaves a their use in cultivar identification. Genet. a Šlecht., 29, 1993: 27-33.
- ŠUŠKA, M. – STEJSKAL, J.: The electrophoretic identification of pea (*Pisum sativum* L.) cultivars by seed protein analysis. Rostl. Výr., 38, 1992: 203-207.
- TANKSLEY, S. D. – ORTON T. J.: Isozymes in Plant Genetics a Breeding, Parts A, B. Amsterdam-Oxford-New York, Elsevier Sci. Publ. 1983.
- THOMPSON, D. M. – POWELL, W. – FORSTER, B. P.: Use od isoelectricfocusing in barley varietal identification. Ann. Appl. Biol., 117, 1990: 625-631.
- TRUCO, M. J. – ARÚS, P.: Comparative study on the isozymes of *Brassica campestris*, *B. oleracea* a *B. napus*. Cruciferae Newsletter, 12, 1987: 18-19.
- VAUGHAN, J. G. – DENFORD, K. E.: An acrylamide gel electrophoretic study of the seed proteins of *Brassica a Sinapis* species, with special reference to their taxonomic value. J. Exp. Bot., 19, 1968: 724-732.
- VAUGHAN, J. G. – GORDON, E. I.: A taxonomic study of *Brassica juncea* using the techniques of electrophoresis, gas-liquid chromatography a serology. Ann. Bot., 37, 1973: 167-184.
- VAUGHAN, J. G. – WAITE, A.: Comparative electrophoretic studies of the seed proteins of certain species of *Brassica a Sinapis*. J. Exp. Bot., 18, 1967: 100-109.
- VAUGHAN, J. G. – WAITE, A. – BOULTER, D. – WAITERS, S.: Comparative studies of the seed proteins of *Brassica campestris*, *Brassica oleracea* and *Brassica nigra*. J. Exp. Bot., 17, 1966: 332-343.
- VERRON, P. – LE NARD, M.: Characterization of five improved varieties a one wild accession of Lily of the Valley (*Convallaria majalis* L.) by isozyme analysis a assessment of genetic distance. Euphytica, 70, 1993: 21-26.
- VOESTE, D. – HARTMANN, H. – SCHNABL, H.: Identification of *Helianthus* genotypes by new isoenzyme systems. Angew. Bot., 67, 1993: 124-127.
- WAGNER, H. – WRICKE, G.: Genetic control of five isozyme systems in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Plant Breed., 107, 1991: 124-130.
- WALTERS, T. W. – POSLUSZNY, U. – KEVAN, P. G.: Isozyme analysis of the grape (*Vitis*). I. A practical solution. Can. J. Bot., 67, 1989: 2894-2899.
- WEEDEN, N. F.: Applications of isozymes in plant breeding. In: JANICK, J. (Ed.): Plant Breed. Rev. Vol. 6, An Avi Book, New York, Van Nostra Reinhold Co. 1989: 11-54.
- WHITE, J. – COOKE, R. J.: A staard classification system for the identification of barley varieties by electrophoresis. Seed Sci. Technol., 20, 1992: 663-676.
- WU, L. – HARIVAI, A. H. – HARDING, J. A. – DAVIS, W. B.: Identification of Kentucky bluegrass cultivars with esterase a phosphoglucumutase isoenzyme markers. Crop. Sci., 24, 1984: 763-768.
- YUPSANIS, T. – MOUSTAKAS, M. – KARAKOLI, S.: Seed protein electrophoresis for varietal identification in rice (*Oryza sativa* L.). J. Agron. Crop. Sci., 168, 1992: 95-99.

ZERVAKIS, G. – LABARÈRE, J.: Taxonomic relationships within the fungal genus *Pleurotus* as determined by isoelectric focusing analysis of enzyme patterns. *J. Gen. Microb.*, 138, 1992: 635–645.

ZIMMER, E. A. – WHITE, T. J. – CANN, R. L. – WILSON, A. C.: Molecular Evolution. Producing the Biochemical Data. *Methods in Enzymology*, Vol. 224, San Diego–New York–London, Acad. Press 1993.

International Board for Plant Genetic Resources: Final report on measuring genetic diversity in pea accessions collected near the centre of origin of domesticated pea. IBPGR Report No. 88/75, 1988.

Electrophoresis of Isoenzymes and Proteins **Methods and Applications in Genetics and Plant Breeding**

Isoenzymes and proteins without detectable enzymatic activity (e.g. storage proteins) should be used as biochemical genetic markers on molecular level for characterisation of cultivated varieties and breeding materials/genotypes of agricultural crops, horticultural and ornamental plants.

In recent years the applications are mainly in taxonomic and phylogenetic studies, identification and confirmation of hybrids after somatic hybridisation (protoplasts fusion) or interspecific/intergeneric hybridisation. The most important application, which is widely used in plant breeding programmes, is probably the purity testing of F_1 seed lots of hybrid varieties.

Isoenzymes and protein markers are also used for identification of varieties – as additional marker systems to morphological description. Biochemical markers are used in all mainly agricultural crops and horticultural plants.

In this contribution the methods of extraction, electrophoretic analysis (starch and polyacrylamide gel electrophoresis of isoenzymes, SDS-PAGE of proteins, isoelectric focusing) and analysis of electrophoretic data are also presented

Kontakní adresa:

Ing. Vladislav Čurn, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Studentská 13,
370 05 České Budějovice, Česká republika,
tel.: 038/77 32 10, fax: 038/403 01, e-mail: curn @ zf.jcu.cz

RECENZE

Genetická diverzita, šlechtění a semenářství

Oldřich Chloupek

Praha, Academia 1995, 186 stran, 14 tab., 30 obr.

Po delší přestávce vychází v nakladatelství Akademie publikace prof. Oldřicha Chloupeka, DrSc., která shrnuje stručným, avšak výstižným způsobem zásady a principy šlechtitelské metodologie, a to s přihlédnutím k aplikačním možnostem moderních genetických poznatků.

Na stručný přehled šlechtitelských tradic a úspěchů v českých zemích navazuje úvaha o významu genetické proměnlivosti jako základu vlastního šlechtění, a to s ohledem na cíle a předpokládané výsledky. S tím pak úzce souvisí charakter výchozího materiálu a možnosti jeho získávání a využívání.

Vlastní zásady šlechtitelských metod a strategie se opírají o výklad základních principů genetiky a možnosti jejich využívání. Popis a výklad šlechtitelských postupů člení autor věcně podle genetické podstaty materiálu a z toho vyplývajících možností, metod a předpokládaných perspektiv. Na modely klasického charakteru, podmíněné specifikami materiálu, jako jsou práce s liniemi, populacemi, klony a hybridními materiály, navazuje šlechtění na specifické cíle, především na různé typy rezistencí. Zaslouženou pozornost věnuje moderním metodám *in vitro* a genovým technikám.

Speciální část publikace je věnována jednotlivým druhům hospodářských plodin s výkladem selekčních kritérií, šlechtitelských cílů a docilovaných výsledků. Problematika udržovacího šlechtění je uváděna opět s ohledem na druhové a hospodářské specifiky a s ohledem na respektování současných ekonomických hledisek.

Závěrečná stať týkající se semenářství vychází opět z biologických zvláštností jednotlivých druhů a upozorňuje na příslušná zákonná ustanovení a mezinárodní normy.

Publikace je doplněna slovníkem odborných termínů z oblasti šlechtění a aplikované genetiky včetně jejich výkladu a anglických synonym. Závěrečný rejstřík s odkazy umožňuje rychlou orientaci.

Kniha prof. Chloupeka je nesporně přínosem do pokladnice odborné literatury a je ji možno doporučit všem, kdo se zabývají praktickým šlechtěním, studiem této problematiky, případně se s ní chtějí hlouběji seznámit.

prof. Jan R o d, DrSc.

Genetické zdroje rastlín, ročenka 1992
Plant Genetic Resources, Annual Report 1992

J. Brindza

*Nitra, Česká a Slovenská rada pro genetické zdroje,
Vysoká škola poľnohospodárska 1993, 148 s.*

Česká a Slovenská rada pre genetické zdroje rastlín vydala v poradí druhú ročenku Genetické zdroje rastlín. Príspevky v ročenke sú písané česky a slovensky. Všetky príspevky sú súbežne publikované aj anglicky.

Ročenka obsahuje tridsaťtri príspevkov venovaných genofondu rastlín a jeho hodnoteniu, produkčnej hodnote a iným ukazovateľom pri pšenici, tritikale, malinách, ďateline lúčnej, lucerne siatej, hrachu, bôbe, fazuli, ľane, tabaku, zemiakoch, cukrovej repe, čerešniach a ďalších plodinách. V ročenke sú uvedené pracoviská v Českej a Slovenskej republike, ktoré sa zaoberajú výskumom a udržovaním genetických zdrojov rastlín s uvedením kolekcii rastlín, ktoré sú na jednotlivých pracoviskách udržiavané. V ročenke sú publikované údaje o činnosti génovej banky VÚRV v roku 1992, programe záchrany významných krajových a divorastúcich genetických foriem na Slovensku, odrody povolené v roku 1992, index latinských názvov a iné informácie.

Ročenku Genetické zdroje rastlín 1992 možno doporučiť do pozornosti pracovníkom zaoberajúcim sa problematikou tvorby a ochrany genofondu rastlín, ale aj pracovníkom šľachtiteľských staníc a výskumných ústavov, pedagógom a študentom vysokých škôl a univerzít poľnohospodárskeho a biologického zamerania.

Dúfajme, že ďalšie ročenky budú vychádzať pravidelne, budú obsahovať aktuálne a vedecky erudované príspevky.

Ing. Ján Petrovič

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Životní jubileum Ing. Josefa Konráda, CSc.

Ing. Josef Konrád, CSc., náš současný nejúspěšnější šlechtitel brambor, se v letošním roce v plné duševní svěžesti a fyzické aktivitě dožívá význačného životního jubilea – 65 let. Jubilant je moderním šlechtitelem, který svou šlechtitelskou práci založil na nejnovějších poznatcích geneticko-šlechtitelského výzkumu – na vědeckých základech. Je šlechtitelem, který se vyšlechtěnými odrůdami zasloužil o dobrou úroveň našeho bramborářství a který soustavně hledá cesty k zefektivnění šlechtitelské práce a vyšlechtění nových výnosných a kvalitních odrůd, odpovídajících požadavkům moderní výroby brambor.

Ing. Konrád se narodil 20. října 1930 v Stolanech u Chrudimi. V letech 1946 až 1949 studoval na Rolnické škole v Chrudimi, v letech 1951–1953 vykonával základní vojenskou službu a v letech 1953–1959 studoval při zaměstnání na Vysoké škole zemědělské v Brně. V roce 1966 získal hodnost kandidáta zemědělských věd.

V roce 1949, po absolvování rolnické školy, nastoupil na Šlechtitelskou stanici v Keřkově, kde pracoval nejprve v udržovacím šlechtění a novošlechtění brambor a lnu, později jen v novošlechtění brambor. Stanici Keřkov zůstal věrný dodnes – šlechtění brambor se stalo jeho trvalým zájmem.

Ing. Konrád je šlechtitelem 24 odrůd brambor: odrůd Hera (povolena v roce 1962), Rita (1962), Jiskra (1963), Daria (1967), Radka (1969), Renata (1969), Nora (1971), Rea (1972), Tera (1972), Astra (1973), Cira (1974), Karin (1980), Kera (1982), Klára (1986), Karla (1988), Krista (1991), Krasa (1991), Koruna (1991), Krystala (1992), Kobra (1992), Korela (1992), Klera (1994), Kreta (1995) a Kora (1995). Dále se podílel na opětovném zavedení původní velmi oblíbené salátové odrůdy Keřkovské rohlíčky do výroby. Ve Státních zkouškách má zařazeno 10 kříženců brambor.

Mezi odrůdami vyšlechtěnými po roce 1974 se vyskytují odrůdy s novými netradičními vlastnostmi (odolnost proti mechanickému poškození hlíz, rezistence proti hádátce bramborovému, rezistence proti skládkovým chorobám, vyšší rezistence proti virovým chorobám, vhodnost pro potravinářské výrobky aj.), které vyžadují mechanizované technologie výroby, úpravy a skladování brambor. Je zásluhou ing. Konráda, že po převzetí vedení keřkovského šlechtění dovedl rychle změnit orientaci na vyšlechtění odrůd vyhovujících nově nastoupeným technologiím našeho bramborářství. Jeho šlechtitelská práce je tím záslužnější, že v té době byl šlechtitelské stanici v Keřkově v rámci prováděné specializace šlechtitelských stanic přidělen nejobtížnější šlechtitelský úkol – šlechtění brambor raného typu. Přitom byl v zájmu udržení dosavadní tradice keřkovských odrůd nucen spojit uvedené po-

žadované vlastnosti s vysokou úrovní kvality nových odrůd – vysokou kvalitou znaků vnějších i vlastností vnitřních. A to se mu v plné míře podařilo. V současné době na této stanici probíhá pod jeho vedením šlechtění na rezistenci proti viru *Y* na bázi imunity (imunní kříženci jsou ve staničních zkouškách) a na rezistenci proti dalším virům (*S*, *M*). Můžeme tedy ze šlechtitelské stanice v Keřkově očekávat nové odrůdy s těmito hospodářsky velmi důležitými vlastnostmi.

Ing. J. Konrád, CSc., se při práci šlechtitelské věnoval i některým problémům výzkumným. Zabýval se mimo jiné efektivností metodických postupů zaváděných na stanici. Některé z nich řešil v plánu výzkumu Výzkumného ústavu bramborářského a předložil o nich závěrečné zprávy, jiné řešil samostatně a dosažené výsledky, publikoval ve vědeckých časopisech. V rámci bramborářského výzkumu řešil např. tyto problémy: Genetické sledování různých rodičovských párů ve šlechtění bramborů a Podklady pro šlechtění raných bramborů. Posledně uvedený problém využil ke zpracování kandidátské disertační práce k získání hodnosti kandidáta zemědělských věd.

Ve vlastním novošlechtění bramborů zavedl řadu opatření sledujících zefektivnění šlechtitelské práce. Tak např. ke zvýšení nasazení bobulí a semen zavedl křížení ve skleníku ve spojení s některými způsoby přinucení brambor ke květu. K výběru raných typů kříženců a vyloučení kříženců pozdních již v generaci semenáčů zavedl výsadbu semenáčů ve skleníku, k úspoře práce v novošlechtění výsadbu dvou generací ramšů (výsadba kříženců po jedné hlíze). K rychlejšímu vyhodnocení šlechtitelských materiálů rozšířil laboratorní a polní testy. K získání bezvirové sadby udržovaných odrůd a perspektivních kříženců brambor zavedl na stanici využívání metody ELISA a techniky meristémů.

Své poznatky ze šlechtitelské, výzkumné a racionalizační činnosti publikoval ve vědeckých a odborně populárních člancích a přednesl na četných vědeckých konferencích, seminářích, zasedáních a školeních.

Vzhledem k jeho širokému rozhledu v oblasti šlechtění bramborů ho Výzkumný ústav bramborářský využívá jako oponenta závěrečných zpráv o vyřešených výzkumných úkolech. Dále vypracoval několik oponentských posudků kandidátských disertačních prací.

Známý a uznávaný je nejen u nás, ale i v zahraničí. Vykonal řadu studijních cest do bramborářsky vyspělých zemí. Dlouhodobá (v letech 1977 až 1988) byla jeho odborná spolupráce s Institut für Kartoffelforschung v Gross-Lüsewitz a bramborářskými a šlechtitelskými stanicemi bývalé NDR. V letech 1978 až 1990 byl členem společné šlechtitelské rady ČSSR a NDR. V současné době úzce spolupracuje s německými šlechtitelskými podniky Norika v Gross-Lüsewitz a Kartoffelzucht Kaltenberg (Europlant). Tato spolupráce umožňuje neustále konfrontovat výsledky stanice s předními šlechtitelskými firmami NSR.

Ing. J. Konrád, CSc., byl a je velmi činný i mimošlechtitelsky. Od roku 1976 je členem vědecké rady Výzkumného ústavu bramborářského, v letech 1977 až 1990 byl členem šlechtitelské rady ČSFR pro brambory, v letech 1987 až 1990 jejím předsedou. V letech 1974 až 1990 byl členem komise genetiky a šlechtění odboru rostlinné výroby ČSAZV. Od roku 1992 je členem Českomoravského svazu šlechtitelů a od roku 1993 členem šlechtitelské komory Českomoravské šlechtitelské a semenářské asociace a současně předsedou její sekce pro brambory. Od roku 1992 je předsedou představenstva a. s. Sativa Keřkov. V současné době je též členem subkomise pro brambory při Státní odrůdové komisi.

Spolupracuje s Výzkumným a šlechtitelským ústavem zemiakářským ve Velké Lomnici na Slovensku, s Výzkumným ústavem rostlinné výroby v Praze-Ruzyni a velmi úzce s českými šlechtiteli brambor.

Vysoce oceňujeme dosavadní úspěšnou a cennou práci ing. J. Konráda, CSc., pro naše bramborářství, která však sahá až za hranice našeho státu. Vážíme si ho nejen jako našeho předního šlechtitele-bramboráře, ale i jako čestného a pracovitěho člověka. Děkujeme mu za dosud vyšlechtěné odrůdy a těšíme se na další, které vyjdou z jeho „dílny“. K tomu mu přejeme hodně zdraví, pohody a tvůrčích sil.

Ing. Josef Zadina, CSc.

Ústav zemědělských a potravinářských informací

vydal

ZAHRADNICKÝ NAUČNÝ SLOVNÍK

Slovník je koncipován jako moderní odborná encyklopedie všech oborů zahradnictví, tj. ovocnářství, zelinářství, květinářství, sadovnictví, školkařství, vinařství, pěstování léčivých a aromatických rostlin, kultivovaných hub, zpracování ovoce a zeleniny i tropického a subtropického zahradnictví.

V jednotlivých přehledných a srozumitelných heslech jsou shrnuty současné poznatky nejen z oblasti zahradnictví, ale i z oblastí vědních oborů, které jsou zdrojem pokroku v zahradnictví.

Ve slovníku jsou vysvětleny nejzávažnější pojmy užívané v botanice, fyziologii, genetice a šlechtění, biotechnologii a ochraně rostlin. Tím se slovník stává potřebnou pomůckou každému, kdo pracuje s odbornou nebo vědeckou literaturou. S velkou zodpovědností jsou ve slovníku uvedeny platné vědecké i české názvy rostlin, jejich botanické členění i autoři názvů, což umožňuje napravit časté nepřesnosti uváděné v naší odborné literatuře.

Předpokládaný rozsah slovníku bude 5 dílů formátu A4 (každý rok vyjde jeden díl). První díl má 440 stran textu včetně pérovek a černobílých fotografií a 32 barevných tabulí.

Cena prvního dílu je 295 Kč (bez poštovného).

Závazné objednávky zasílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
Encyklopedická kancelář
Slezská 7
120 56 Praha 2

NEKROLOG

In memoriam: doc. Ing. Jiří Foltýn, DrSc.

V květnu letošního roku jsme se dozvěděli o náhlém úmrtí doc. Ing. Jiřího Foltýna, DrSc., našeho dlouholetého spolupracovníka, bývalého ředitele Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni, který byl výraznou vědeckou osobností a člověkem s širokým rozhledem. Byla to zpráva, které jsme nemohli uvěřit, protože do posledních chvil překypoval životním elánem a zájmem o veškeré dění.

Narodil se 8. ledna 1926 v Rakovníku. Reálné gymnázium navštěvoval v Praze. Koncem války byl totálně nasazen, takže maturoval po osvobození v roce 1945. Po první státnici na Fakultě zemědělského a lesního inženýrství v Praze odjel koncem roku 1947 do SSSR, kde do roku 1950 studoval na Timirjazevově zemědělské akademii v Moskvě, na Fakultě ochrany rostlin.

Po návratu z Moskvy působil do roku 1952 na Ministerstvu zemědělství, zprvu jako vedoucí oddělení ochrany rostlin, později jako vedoucí hlavní správy pro obiloviny, brambory a zahradní plodiny. Z ministerstva přešel v roce 1952 na Vysokou školu zemědělskou v Praze. Vedl Katedru ochrany rostlin, přednášel, vydal skripta a později (s kolektivem) vysokoškolskou učebnici.

V roce 1957 podal habilitační práci a po obhospodění v roce 1959 byl jmenován docentem pro ochranu rostlin. Na Vysoké škole zemědělské také obhájil v roce 1961, tedy ve věku 35 let, doktorskou disertační práci na téma Agrotechnické lhůty setí ozimých obilovin.

Od roku 1961 až do konce života je jeho působení spojováno s Výzkumným ústavem rostlinné výroby v Praze-Ruzyni. Nastoupil zde jako vedoucí vědecký pracovník a plných deset let vykonával funkci ředitele ústavu. Měl vynikající organizační schopnosti, byl rozhodný a zároveň korektní, a tak období jeho „ředitelování“ bylo pro VÚRV významným přínosem. Když byl v roce 1970, nikoliv z neschopnosti, zbaven této funkce, zůstal nadále pracovníkem Odboru genetiky a šlechtění, oddělení šlechtitelských metod, kde působil jako vědecký pracovník až do odchodu do důchodu v roce 1992. I když nedobrovolné zbavení funkce, kterou tak odpovědně vykonával, muselo pro něho znamenat velký otřes, znali jsme ho po celou dobu



působení v našem ústavu jako člověka nepodléhajícího nátlaku doby a vždy bez odkladů plnění své povinnosti.

V roce 1953, kdy byla založena Československá akademie zemědělských věd, byl jmenován jejím dopisujícím členem a zvolen II. místopředsedou. Později, v roce 1960, byl zvolen předsedou Odboru rostlinné výroby. Tím zůstal i po vzniku České zemědělské akademie až do roku 1970. Po dvacetileté přestávce mu bylo v roce 1990 členství v ČSAZ obnoveno. Od roku 1991 pracoval též jako místopředseda redakční rady vědeckého časopisu Genetika a šlechtění a jsme mu vděční za objektivní posuzování řady vědeckých příspěvků i za příležitostné řízení jednání redakční rady.

Jeho vědecká práce byla velice bohatá. Publikoval více než 180 původních prací o agrotechnice, ekologii a šlechtění pšenice. Bohatě přispíval též do tohoto vědeckého časopisu. Z knižních publikací (vedle šesti Studijních informací ÚVTIZ) napsal (s kolektivem) monografii Pšenice (SZN, 1970) a publikaci Pšenice – systém (MZVŽ, 1989), v níž jsou zpřehledněny výsledky jeho mnohaleté vědecké činnosti. Systematičnost byla základním rysem jeho práce. Zasloužil se o zpracování systému porostu a výnosu zrna pšenice s vymezením prvků ekologicky omezených a neomezených, typů odrůd a užitných směrů. Z teoretických i praktických studií rostliny v porostu vycházejí závěry o vhodném výsevu a sponu rostlin. Systémový přístup k pšeničnému poli – porostu, rostlině, produktivnímu stéblu, klasu, časové struktuře a synchronizaci – ukazuje šlechtitelům nové obzory v konstrukci ideotypů a umožňuje formulovat vědecká doporučení pro pěstitelskou praxi v konkrétních podmínkách.

Jako zkušený pracovník s velkým rozhledem se podílel na vypracování konceptních materiálů k rozvoji rostlinné výroby „Soustava hospodaření na půdě“. Zveřejnil i mnoho odborných článků a často byl zván na schůzky agronomů, kde jeho přednášky dovedly vždy zaujmout. Do spolupráce aktivně zapojoval mladé vědecké pracovníky a ještě v zimním období letošního roku uspořádal ve VÚRV velmi zajímavou přednášku o metodách výzkumné práce, obohacenou vyzrálým filozofickým pohledem.

Doc. Ing. J. Foltýn, DrSc., byl člověk s úžasnou pamětí, velkými všeobecnými znalostmi, rétoricky zdatný, obdařený též nevšední pílí a pracovitostí. Dovedl jít neústupně za svými cíli a prosazovat je i přes nepřízeň doby. V posledních letech pracoval na vyšlechtění pšenice s větší úložnou kapacitou klasu pomocí dvouklásků typu „duospiculum“. Vyšlechtěné materiály jsou využívány šlechtiteli pšenice v hybridizačních programech.

Tvorbě a studiu netradičních forem klasu pšenice obecně věnoval všechn svůj volný čas i v důchodu. Jak nám prozradila jeho manželka, jeho druhým domovem byl VÚRV s porosty pšenice. Náš (jeho) ústav navštěvoval 1–2krát týdně a s velkou obětavostí (prakticky sám a zadarmo) sel, ošetřoval, pozoroval, sklízal a roz-

boroval své materiály „duospiculum“. Své materiály a vědomosti vždy ochotně předával zájemcům. Neskrýval radost z projeveného zájmu a nade vše stavěl obecný prospěch pro rozvoj vědeckého poznání. Nikdy jsme se u něho nesetkali s vypočítavostí a záměrným utajováním výsledků.

Zvykli jsme si na to, že přicházel do VÚRV s naprostou pravidelností, a z jeho přítomnosti vždy vyzařovalo navšední zaujetí pro věc. O to více nás překvapilo, že v druhém květnovém týdnu, v době prudké vegetace, nepřišel na své pracoviště. Posléze přišla šokující zpráva o jeho náhlém úmrtí dne 18. května 1995 ve věku 69 let.

Nechceme nyní předčasně hodnotit dílo dr. J. Foltýna. Jeho opakované tvrzení bylo: Teprve čas prověří trvalé hodnoty.

Čest jeho památce !

Ing. Václav Šíp, CSc., Miroslav Škorpiš

Pokyny pro autory

Časopis uveřejňuje práce, které jsou výsledkem původních vědeckých výzkumů, a krátká sdělení z oblasti genetiky a šlechtění rostlin, tzn. genetické zdroje, cytologii, genetiku, fyziologii, genetickou rezistenci a toleranci vůči abiotickým stresům, patogenům, případně pesticidům, metodologii a metody šlechtění včetně biotechnologie. Kompilační práce (review paper) budou uveřejněny pouze po vyžádání redakční radou. V rubrikách jsou zařazovány aktuality z vědeckého života, recenze knih, teze doktorských prací, články k životním jubileím a nekrology.

Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě práce.

Technická úprava rukopisu

má odpovídat státní normě ČSN 88 0220. Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázků nebo grafů. Texty k obrázkům a grafům se dodávají na zvláštním listě. Tabulky se číslují zvlášť římskými číslicemi. Na všechny tabulky a obrázky musí být odkazy v textu.

Vlastní úprava vědecké práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné vyvarovat se v názvu obecných frází (Studie o ... Příspěvek k ... Pokus o ...), každý zasláný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, označené např. I., II., stejně tak jsou vyloučeny podtitulky článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů, s celým křestním jménem.

Souhrn – rozšířený

v angličtině (u prací v češtině nebo slovenštině) nebo český (slovenský) u prací v angličtině

je povinnou součástí česky a slovensky psaných prací a sdělení. Rozšířený souhrn musí poskytnout základní informaci o použitých metodách (např. odkazem na literární pramen). Jsou v něm komentovány výsledky práce, uvedeny odkazy na tabulky, obrázky a nejdůležitější literaturu. Souhrn může být zaslán v angličtině.

Souhrn – krátký

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami (ne telegrafickým způsobem).

Klíčová slova (KEY words, index terms)

se připojují po vynechání řádku pod souhrn. Klíčovým slovem rozumíme substantivum, které je nutné pro věcné zařazení předložené práce. Klíčová slova se řadí směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem. Jejich počet závisí na povaze práce a neměl by klesnout pod tři a převýšit dvanáct slov.

Úvod

má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna, a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vylhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést odkazy na literaturu vztahující se k práci (doporučuje se co nejnížší počet odkazů). Musí v něm být jasně formulovány cíle práce.

Materiál a metody

Pokusy v polních podmínkách u znaků vykazujících interakce s prostředím je třeba opakovat v prostoru a čase. Model pokusu musí být popsán podrobně a výstižně. Použité metody statistické analýzy by měly být adekvátní modelu. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak stačí citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. V této kapitole je popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních hodnot tabulek a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout v statistickém hodnocení naměřených hodnot. Numerické výsledky by se neměly opakovat v textu. Tato část práce by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky již dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost nebo jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Je přípustné spojení s předchozí kapitolou (Výsledky a diskuse).

Literatura

musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů: příjmení (verzálkami), zkratka jména, plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, rok vydání, číslo, první stránka, poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání, vydavatel a rok. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu.

Kontaktní adresa

musí obsahovat plné jméno prvního autora, akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, případně e-mail adresu.

Pokud autor používá v práci zkratk jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vypsány, aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je lépe zkratk nepoužívat.

Při statistickém hodnocení pokusných dat musí být dodržovány ustálené termíny a značení odpovídající mezinárodním zvyklostem.

V experimentální práci je většina **statistických charakteristik** výběrových. Doporučuje se je značit latinskými písmeny na rozdíl od populačních parametrů, které je vhodné značit řeckými písmeny. Obecný požadavek je, aby pokusy byly dostatečně dokumentovány, tzn. uvádět jejich rozsah, počet opakování a počet pozorovaných jednotek. Pokusný materiál by měl být charakterizován průměry ($\bar{x}$, $\bar{y}$, ...), středními chybami průměrů ($s_{\bar{x}}$, $s_{\bar{y}}$, ...) uváděnými samostatně nebo spolu s průměry ve tvaru: $\bar{x} + s_{\bar{x}}$, $\bar{y} + s_{\bar{y}}$, ... Je vhodné dodržet zásadu udávat průměry o jedno desetinné místo přesněji než původní pozorování, směrodatné odchylky a střední chyby o dvě místa přesněji.

Pro nejběžněji používané statistické charakteristiky doporučujeme užívat tyto symboly: n – počet pozorování; $\bar{x}$, $\bar{y}$ – průměry; s – směrodatná odchylka; s^2 – rozptyl; $s_{\bar{x}}$ – střední chyba průměru $\bar{x}$; a , b – koeficienty regresní přímky; b_i – koeficienty při vícenásobné regresi; r – koeficient korelace; f – počet stupňů volnosti.

Tabulky analýzy rozptylu musí být uvedeny ve tvaru: Zdroj proměnlivosti; Stupeň volnosti DS; Průměrný čtverec, nebo použít mezinárodní zkratku MS (o 2 až 3 desetinná místa přesněji než byla zaznamenána původní pozorování), případně složky rozptylu. Významnost jednotlivých průměrných čtverců označit hvězdičkovou symbolikou, případně uvedením hladiny významnosti (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$); Hladiny významnosti všech ostatních statistických testů (t -testu, F -testu apod.) rovněž zapisovat touto symbolikou.

V genetických studiích uvádět kromě koeficientu dědivosti (h^2), resp. koeficientu vnitrotržní korelace (ρ) vždy i odhad chybového rozptylu. Pro interpretačně důležité statistiky uvádět jejich odhad intervalem spolehlivosti.

Práce zpracované textovým editorem na PC by měly být do redakce zaslány i na disketě. Pro využití v redakci je vhodný editor T 602 (výstupní kód KEYBCS2), případně uvést, v jakém editoru je zpracován. Při psaní neužívat enter na každé řádce, ale pouze pro oddělení odstavce.

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

Tomášková D., Dobiášová B.: Karyological methods of ploidy level determination in sugar beet varieties – Karyologické metody pro stanovení stupně ploidie u odrůd cukrovky	161
Foltýn J.: Zdvojené klásky v klasu pšenice obecné (<i>Triticum aestivum</i> L.) typu <i>duospiculum</i> : varietas vel subvarietas? – Doubled spikelets in the ear of bread wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) of <i>duospiculum</i> type: varietas vel subvarietas?	175
Stuchlíková E.: Testování odolnosti přírůstků pšenice z genové banky VÚRV Praha-Ruzyně ke rzi travní a pšeničné – Testing of wheat accessions from the gene bank RICP Prague-Ruzyně for stem and leaf rust resistance ..	181
Škorpík M., Chrpová J., Šíp V.: Rodokmeny současných českých odrůd pšenice ozimé – Pedigrees of the present Czech winter wheat varieties	195

KRÁTKÁ SDĚLENÍ – SHORT COMMUNICATION

Sabharwal P. S., Yadava D. K., Grewal P. R.: Studies of variability for morphological traits of forage sorghum – Studium proměnlivosti morfolo-gických znaků čiroku	171
---	-----

AKTUALITY – NEWS

Chloupek O., Ehrenbergerová J.: Mřížové pokusy – Lattice experi-ments	203
---	-----

PŘÍLOHA – SUPPLEMENT

Čurn V., Sáková L., Graman J.: Elektroforéza isoenzymů a neenzymatických bílkovin – Metody a aplikace v genetice a šlechtění rostlin – Electrophoresis of isoenzymes and proteins – Methods and applications in genetics and plant breeding	207
---	-----

RECENZE

Rod J.: O. Chloupek – Genetická diverzita, šlechtění a semenářství	229
Petrovic J.: J. Brindza – Genetické zdroje rostlin, ročenka 1992	230

ŽIVOTNÍ JUBILEA

Zadina J.: Životní jubileum Ing. Josef Konráda, CSc.	231
---	-----

NEKROLOG

Rod J.: In memoriam: doc. Ing. Jiří Foltýn, DrSc.	235
--	-----

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, e-mail: braun@uzpi.agrec.cz ♦ Sazba a tisk: ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1995