

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ

GENETICS AND PLANT BREEDING

1

ČÍSLO 32 (LXIX)
ROK 1996
ISSN 0862-8629

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

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

Editorial board – Redakční rada

Chairman – Předseda

Ing. Václav Šíp, CSc.

Members of the Editorial Board – Členové redakční rady

Ing. Bohumír Cagaš, CSc., prof. Ing. Jiří Černý, DrSc.,
Ing. Antonín Fojtík, CSc., Ing. Alena Hanišová,
prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., Ing. Josef Konrád, CSc.,
prof. Ing. Anton Kováčik, DrSc., Ing. Josef Pešek, DrSc.,
prof. dr. Ing. Jan Rod, DrSc., doc. Ing. Erich Schwarzbach, CSc.,
Ing. Jaroslav Špunar, CSc., Ing. Jaroslav Tupý, DrSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraniční členové redakční rady

Assoc. Prof. RNDr. Milan Bežo (Slovak Republic),
Dr. I. Bos (The Netherlands), Prof. Dr. V. A. Dragavcev (Russia),
Prof. Dr. Z. Staszewski (Poland), RNDr. Dana Šubová (Slovak Republic),
Dr. Martin Užík, DrSc. (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 1996 is 178 Kč, 44 USD (Europe) and 46 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published four times a year.

Contact address: Slezská 7, 120 56 Praha, Czech Republic

tel.: 0402 / 251 098; Fax: 0402 / 257 090; e-mail: braun@uzpi.agrec.cz

TVORBA AUTOINKOMPATIBILNÍCH LINIÍ ŘEPKY OZIMÉ POMOCÍ DIHAPLOIDNÍHO SYSTÉMU*

Development of Self-incompatible Lines of Winter Rape by means of Doubled Haploid System

Vratislav KUČERA, Miroslava VYVADILOVÁ, Dagmar TOMÁŠKOVÁ,
Jiří HAVEL¹

Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně; ¹Oseva PRO s.r.o.,
Research Institute of Oilseed Crops, Opava, Czech Republic

Abstract: Some genetic resources of self-incompatibility (SI) have been obtained from three cultivars of winter oilseed rape (Silesia, SL-501 and Anja). The SI degree has not been entirely stabilized within self-pollinated lines during six generations of inbreeding and rigorous selection. The relative number of seeds (R_s) was chosen as a measure of SI degree ($R_s = SF/SB \times 100$, SF = mean number of seeds after self-pollination in opened flowers, SB = mean number of seeds after self-pollination in buds). Plants with R_s ranging from 0.00 to 20.00 were considered as SI, from 20.1 to 80.00 as partially SI and above 80 as fully self-compatible (SC). Table I shows an example of the variation of SI degree in individual inbred generations of the line E 6 (origin cv. SL-501). Table II demonstrates segregating of SI degree in I_6 generation of lines originated from cvs. Silesia and SL-501. We have achieved several doubled haploid (DH) lines using a microspore culture method (Vyvadilová, Zelenková, 1992) possessing the high and stable degree of SI from I_5 generation of these lines. Table III shows the results of testing SI in R_1 regenerants derived from inbred line no. E 6/5. Most DH regenerants proved to be highly SI. Fig. 1 demonstrates the percentage of SI, partially SI and SC plants in individual DH R_2 lines. Majority of R_2 lines derived from highly SI R_1 plants showed a high degree of SI as well. However, a certain rest of variability in lines was observed probably due to recessive foundation of SI. Six self-pollinated SI lines were crossed with self-compatible lines. SC and SI plants segregated in F_2 generation at the ratio of approximately 3 : 1 (Table IV). This indicates a recessive monogenic disposition of SI in the experimental lines. All

* Financováno z grantu Grantové agentury ČR č. 506/94/1081.

DH regenerants derived from these SI plants proved a high level of SI which was also observed in R_2 generation.

oilseed rape; self-incompatibility; microspore culture; doubled haploid lines

Abstrakt: Z několika odrůd ozimé řepky byly získány genetické zdroje autoinkompatibility (AI). Během šesti generací inzuchtů spojeného s přísným výběrem nedošlo k úplné stabilizaci požadovaného stupně AI. Využitím metody mikrosporových kultur byly získány dihaploidní linie s vysokým a stabilním stupněm AI. V F_2 generaci po křížení AI a samosprašných linií docházelo ke štěpení na samosprašné a AI rostliny v poměru odpovídajícím 3 : 1; to nasvědčuje recesivnímu monogennímu založení AI u experimentálních linií. Všechny DH regeneranty odvozené z vybraných AI rostlin ve štěpící F_2 generaci vykazovaly vysoký stupeň AI, který byl prokázán i v DH liniích R_2 generace. U některých DH linií však byla zaznamenána určitá zbytková variabilita ve stupni a stabilitě AI. Její příčinou je zřejmě založení AI recesivními S alelami, jejichž projev je ovlivňován vnějšími faktory prostředí, zvláště teplotou a vlhkostí.

řepka ozimá; autoinkompatibilita, mikrosporové kultury; dihaploidní linie

Hybridní šlechtění je jednou z možností zvýšení výnosu semene řepky v průměru o 10 až 20 %. Z genetických mechanismů autosterility, umožňujících řízené opylování rodičovských komponent hybridů, byly dosud převážně využívány různé typy cytoplazmatické samčí sterility (CMS). Využití CMS je však spojeno s řadou obtíží souvisejících s nestabilitou sterility, nedostatkem vhodných obnovitelů fertility a sníženou samičí fertilitou hybridů. Proto je v poslední době aktuální orientace na systém sporofytické autoinkompatibility (AI). Spontánní výskyt AI rostlin v odrůdách ozimé řepky je velmi nízký, kolem 0,1 %, moderní odrůdy jsou prakticky samosprašné linie (Nasrallah, 1989; Kott, 1995). Účinné S alely, podmiňující vysoký a stabilní stupeň AI, lze introdukovat do genomu *Brassica napus* resyntézou z původních druhů *B. oleracea* a *B. rapa* (Thompson, 1983) nebo transgenozí (Hinata et al., 1993). Genetické zdroje S alel byly získány výběrem AI rostlin v průběhu testování širokých populací odrůd ozimé řepky (Kučera, Černý, 1989; Havel, 1994; Esch, Wricke, 1995). Takto získané S alely jsou převážně recesivní, proto jejich fenotypový projev může být ovlivněn podmínkami prostředí a genetickým pozadím. Získání linií homozygotních pro účinné S alely tradičními postupy je zdlouhavé a málo

efektivní. Cílem práce bylo ověřit možnost využití metody dihaploidů pro tvorbu linií řepky ozimé s vysokým a stabilním stupněm autoinkompatibility.

MATERIÁL A METODY

Pokusným materiálem byly autoinkompatibilní inzuchtní linie ozimé řepky, získané ve VÚRV Praha-Ruzyně (Kučera, Černý, 1989) a ve VÚOL Opava (Havel, 1994) v průběhu let 1985-1989. Pro stanovení dědičného založení AI a možnosti jejího přenosu do samosprašných genotypů řepky byla využita F_2 generace kříženců vybraných AI linií se samosprašnými materiály. Ke stanovení stupně AI jednotlivých rostlin v rámci samoopylovaných a dihaploidních (DH) linií byl použit semenný test. Testování probíhalo během kvetení v izolovaném skleníku, kde bylo postupně samoopyleno 30–50 otevřených květů a poupat 2–3 dny před rozkvetem. Při rozbořech zralých šesulí se zjišťoval průměrný počet semen na jednu šesuli po samoopylení květů (SK) a poupat (SP), z těchto hodnot se stanovil ukazatel stupně AI – relativní počet semen $Rs = SK/SP \times 100$. Rostliny s hodnotou Rs 0–20 byly hodnoceny jako AI, s Rs 20,1–80 jako částečně AI a s Rs nad 80 jako zcela autokompatibilní (AK).

Jako donorové rostliny pro zakládání mikrosporových kultur k odvození dihaploidních regenerantů byli vybíráni jedinci s nejnižšími hodnotami Rs . Rostliny byly pěstovány v plastových kontejnerech 19 x 19 cm v období leden až duben ve skleníku s teplotou 20–25 °C ve dne a 10–15 °C v noci, s přisvětlováním sodíkovými výbojkami při intenzitě ozáření 250 mikromol na m^2/s a délce dne 16 hodin, v letním období v izolované rychlíně. Zakládání mikrosporových kultur a regenerace celistvých rostlin probíhaly podle protokolu, který uveřejnily Vyvadilová a Zelenková (1992). Ke zvýšení embryogenní schopnosti byla metoda modifikována pro jednotlivé genotypy, především se zaměřením na stanovení optimálního stadia vývoje mikrospor a výměnu kultivačního média. Cytologická kontrola ploidie byla prováděna z mladých lístků rostlin z podmínek *in vitro* nebo regenerantů převedených do půdy. Haploidní rostliny byly diploidizovány ve fázi 3 až 4 pravých listů ponořením do 0,05% roztoku kolchicinu (Vyvadilová et al., 1993). Byla též vyzkoušena přímá aplikace kolchicinu do mikrosporových kultur pro zvýšení embryogenní responsibility a účinnosti diploidizace.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Variabilita AI v inzuchtních a DH liniích

U linií získaných ve VÚRV Ruzyně opakovaným samoopylováním AI rostlin nalezených v odrůdách Silesia, SL-501 a Anja (Kučera, Černý, 1989) nebylo ani ve vyšších generacích inzuchtů (I_4 – I_6) dosaženo úplné stabilizace vysokého stupně AI. Přes přísný výběr rostlin s nejnižšími hodnotami Rs pro pokračování linií vyšlepovaly v následných generacích částečně i zcela autokompatibilní (AK) rostliny. Tab. I ukazuje příklad variability AI v jednotlivých inzuchtních generacích u linie E 6 (původ SL-501), štěpení ve

I. Variabilita stupně AI v I_4 – I_6 generaci linie E 6 – SI degree variability in I_4 – I_6 inbred generation of line E 6

Linie č. ¹ E 6	Generace inzuchtů ² (I)		
	I_4	I_5	I_6
Celkový počet rostlin ³	13	9	17
z toho AI ⁴	4	2	11
částečně AI ⁵	3	7	6
autokompatibilní ⁶	6	0	0
Rozmezí Rs ⁶	7,68–133,68	11,81–63,98	7,45–35,60

¹line no.; ²inbred generation; ³total number of plants; ⁴out of that SI ⁵partially SI; ⁶self-compatible; ⁷Rs range

stupni AI u linií původu Silesia a SL-501 v generaci I_6 (tab. II). Počet AI rostlin u jednotlivých linií se pohyboval v rozmezí 40–60 %. Hodnocení AI semenným testem s výpočtem Rs ve vyšších generacích inzuchtů může být částečně zkresleno nižším nasazením semen po samoopylení v poupěti vlivem inzuchtní deprese. U získaných linií nebyla prováděna homozygotizace S alel dialelním křížením. V I_5 generaci z nich byly po předběžném přetestování AI vybrány donorové rostliny k založení mikrosporových kultur pro odvození DH linií.

Výsledky testování AI u R_1 regenerantů z linie E 6/5 jsou v tab. III. Většina DH regenerantů byla vysoce AI, pouze dvě rostliny vykázaly částečnou AI a jedna úplnou autokompatibilitu. Obr. 1 znázorňuje procento AI, částečně AI a AK rostlin v jednotlivých DH liniích R_2 generace, odvozených od vy-

II. Variabilita stupně AI v I₆ generaci samoopylených linií – SI degree variability in I₆ generation of self-pollinated lines

Linie č./ původ ¹	Celkový počet hodnocených rostlin ²	Z toho rostlin hodnocených jako ³						
		AI ⁴			částečně AI ⁵			AK ⁶ počet
		počet ⁷	%	rozmezí Rs ⁸	počet	%	rozmezí Rs	
A 9/Silesia	14	6	42,9	0,00–13,70	8	57,1	20,31–59,38	0
D 4/Silesia	5	2	40,0	9,95–16,94	3	60,0	33,33–45,80	0
D6/Silesia	5	3	60,0	0,00–18,57	2	40,0	27,65–47,27	0
E6/SL-501	17	11	64,7	7,45–17,79	6	35,3	20,48–35,60	0
G2/SL-501	9	6	66,7	10,00–19,5	3	33,3	20,33–47,30	0

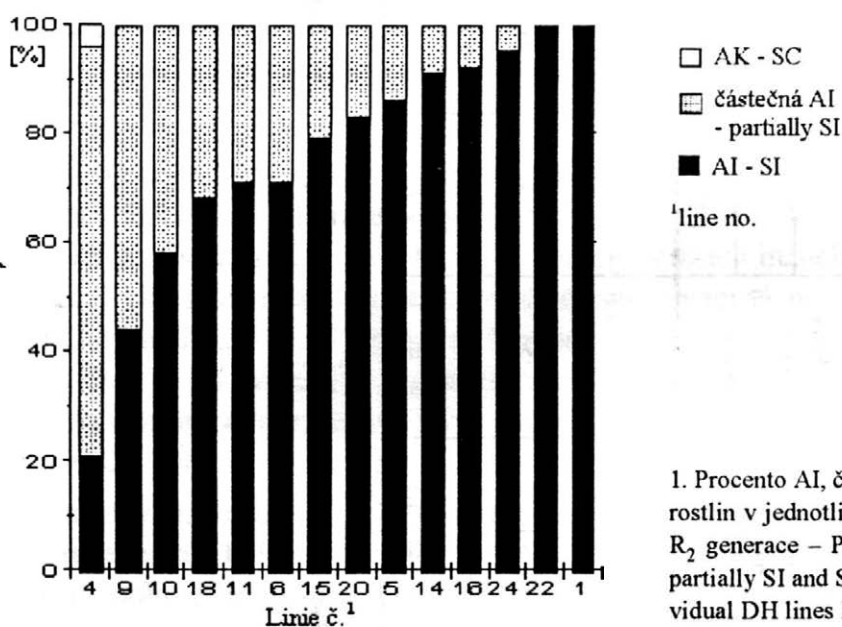
¹line no./origin; ²total number of evaluated plants; ³out of that plants evaluated as; ⁴SI; ⁵partially SI; ⁶SC; ⁷number; ⁸Rs range

III. Hodnoty stupně AI u R_1 regenerantů z linie E 6/5 – SI degree of individual R_1 regenerants derived from line E 6/5

Č. rostliny ¹	Rs	Č. rostliny	Rs
1.	2,46	10.	3,31
2.	0,97	11.	34,49
3.	0,36	12.	14,06
4.	1,44	13.	87,90
5.	1,63	14.	2,53
6.	4,69	15.	53,06
7.	0,00	16.	9,40
8.	5,56	17.	4,32
9.	5,11	18.	2,73

¹ plant no.

soce AI R_1 regenerantů. R_2 linie, pěstované po 24 rostlinách, vykazovaly většinou vysoký stupeň AI, byla však zaznamenána i určitá zbytková variabilita uvnitř DH linií, která může být podmíněna založením AI recesivními S alelami. Fenotypový projev těchto S alel je ovlivňován faktory vnějšího prostředí i genetickým pozadím (K o t t, 1995). Lze předpokládat, že výsled-



ky testování R_2 linií byly ovlivněny vyššími teplotami v letním období, které dosahovaly až přes 30 °C.

Dědičné založení AI u experimentálních linií

Pro získání dalších DH linií byla použita F_2 generace kříženců homozygotních AI linií se samosprašnými liniemi původem z VÚOL Opava. Ze šesti hybridů vyšťepovaly v F_2 generaci AK a AI rostliny v poměru odpovídajícím 3 : 1 (tab. IV). To nasvědčuje monogennímu recesivnímu založení AI u výchozích AI linií. Všechny R_1 DH regeneranty odvozené z několika AI rostlin F_2 generace se vyznačovaly vysokým stupněm AI. Testování R_2 generace

IV. Štěpení AK a AI rostlin v F_2 generaci kříženců autoinkompatibilních a samosprašných linií – Segregation of SC and SI plants in F_2 hybrid generation after crossing SI and selfpollinating lines

Hybrid ¹	Autokompatibilní ²	AI ³	Hodnota χ^2 vypočtená pro poměr 3 : 1 ⁴
Start 86/1 x 848	26	4	2,178
Start 86/1 x 740	23	7	0,044
Start 86/1 x 708	27	3	3,600
WRG 15 x 855	22	8	0,044
WRG 15 x 860	24	6	0,044
Tandem 85/1/2 x 860	23	7	0,044

χ^2 mez průkaznosti - χ^2 significance level 0,95 = 3,8415; 0,99 = 6,6349

¹hybrid; ²self-compatible; ³SI; ⁴ χ^2 value calculated for 3 : 1 ratio

DH linií v počtu 12–15 rostlin prokázalo rovněž homozygotnost pro účinné S alely. Výsledky ukazují možnost přenosu S alel do samosprašných genotypů za účelem kombinace AI a specifických znaků využitím dihaploidního systému.

L i t e r a t u r a

ESCH, E. – WRICKE, G.: Investigations on self-incompatibility in *Brassica napus* L. towards hybrid breeding. In: Proc. 9th Int. Rapeseed Congr. Cambridge, UK 4–7 July 1995: 83–85.

- HAVEL, J.: Využití autoinkompatibility v hybridním šlechtění ozimé řepky. [Kandidátská disertace.] Opava, VÚOL 1994.
- HINATA, K. – WATANABE, M. – TORYAMA, K. – ISOGAI, A.: A review of recent studies on homomorphic self-incompatibility. *Int. Rev. Cytol.*, 143, 1993: 257-296.
- KOTT, L. S.: Hybrid production systems based on self-incompatibility in oilseed *Brassica*. In: *Proc. 9th Int. Rapeseed Congr. Cambridge, UK 4-7 July 1995*: 73-78.
- KUČERA, V. – ČERNÝ, J.: Možnosti využití heteroze ve šlechtění řepky olejky (*Brassica napus* L.). *Genet. Zdroje*, 51, 1989: 66-75.
- NASRALLAH, M. E.: Molecular approaches to breeding hybrid *Brassica* crops. *Votr. Pfl.-Züchter*, 16, 1989: 391-396.
- THOMPSON, K. F.: Breeding winter oilseed rape, *Brassica napus*. *Adv. Appl. Biol.*, 7, 1983: 1-104.
- VYVADILOVÁ, M. – ZELENKOVÁ, S.: Responsiveness in microspore cultures of some cultivars and Czech breeding materials of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Genet. a Šlecht.*, 28, 1992: 243-252.
- VYVADILOVÁ, M. – ZELENKOVÁ, S. – TOMÁŠKOVÁ, D.: Diploidizace a cytologická kontrola haploidů *Brassica napus* L. *Rostl. Výr.*, 39, 1993: 129-137.

Došlo 29. 1. 1996

Kontaktní adresa:

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

ZÍSKÁVÁNÍ AUTOINKOMPATIBILNÍCH LINIÍ U ŘEPKY OZIMÉ

Production of Self-incompatible Lines in Winter Rape

Jiří HAVEL

Oseva PRO s.r.o., Research Institute of Oilseed Crops, Opava, Czech Republic

Abstract: The aim of this work was to verify self-incompatibility (SI) occurrence in the winter rapeseed population and to find source material with a good SI level. The process was composed of these steps: searching of plants with SI reaction, testing of SI stability, creation of homozygous S lines through diallel crossing and S alleles identity test. The methods used for SI detection were fluorescent tests based on pollen tube growth observation in the UV light after the cotton blue staining and the seed test based on seed set checking after self-pollination of isolated flowers. It was observed that the SI occurrence in the winter rapeseed varieties fluctuated from 0.3 to 3.9% depending on the test year (Table I). The data of year 1985 are distorted by using an unsuitable detection method. The main part of found SI plants had unstable SI reaction (Table II), only 6 stable SI lines were obtained. Table III contains the comparison of fluorescent and seed test results. The fluorescent test seems to be unreliable, the evident disharmony of the test results was detected. The plants homozygous for S alleles were detected using diallel crossing. An example of S homozygous plant crossing is in Table IV, Table V shows the diallel crossing of S heterozygous plants. Table VI contains the results of S alleles identification for 4 lines. It is evident, that these lines contain different S alleles.

oilseed rape; self-incompatibility; S alleles; self-incompatible lines

Abstrakt: Cílem práce bylo prověřit výskyt autoinkompatibility (AI) u řepky ozimé a najít vhodný výchozí materiál s dobrou úrovní AI. Pracovní postup se skládal z vyhledávání rostlin s AI reakcí, otestování stability AI, tvorby homozygotních linií dialelním křížením a testu identity S alel. Jako metody detekce AI byly použity fluorescenční test a semenný test založený na sledování nasazení semen po nuceném samosprašení v otevřených květech v izolaci. Byl zjištěn zřetelný nesoulad mezi výsledky obou testů a nespolehlivost fluorescenčního testu. Výskyt AI v odrůdách řepky ozimé kolísá od 0,3 do 3,9 % v závislosti na ročníku. Velká část nalezených AI rostlin měla AI reakci nestabilní, bylo získáno celkem šest stabilních AI linií. Rostliny homozygotní

pro S alely byly detekovány pomocí dialelního křížení. Identifikace S alel u čtyř linií prokázala, že tyto testované linie nesou odlišné S alely.

řepka ozimá; autoinkompatibilita; S alely; autoinkompatibilní linie

Řepka ozimá je velmi vhodná plodina pro hybridní šlechtění. Má vysoký množitel'ský koeficient, je u ní znám heterózní efekt a vhodné geneticky podmíněné systémy pro řízené oplození – autoinkompatibilita (AI) a jaderná i cytoplazmatická samčí sterilita. Šlechtěním hybridní řepky na bázi autoinkompatibility se zabývali Schweiger a Rudloff (1981) a Rudloff (1990). Zaznamenali přirozený výskyt AI rostlin v množství okolo 1 %. Nalezli několik linií s různou mírou stability AI a na jejich základě začali vytvářet první dvouliniové hybridy. Problémy při využití těchto linií byly se stabilitou AI, kvalitou oleje a šrotu. Pouze jediná hybridní kombinace měla výnos průkazně vyšší než kontrola. Esch a Wricke (1995) našli v populacích dvounulové řepky jen 0,08 % AI rostlin, které vykazovaly různou frekvenci pseudokompatibility, způsobenou kolísáním teplot a genetickým pozadím. Přesto vyselektovali linie se stabilním projevem AI reakce. Podobných výsledků dosáhli Kučera a Černý (1990), kteří zjistili výskyt cca 0,1 % rostlin vykazujících alespoň částečnou AI. Cílem práce bylo ověřit výskyt AI u řepky ozimé a získat vhodný výchozí liniový materiál pro využití v hybridním šlechtění.

MATERIÁL A METODY

Detekce autoinkompatibility

Pro detekci autoinkompatibility byly použity dvě metody: metoda fluorescenčního testu a metoda semenného testu.

Fluorescenční test

Na rostlině se zaizoluje větev s poupaty. Po rozkvetení se samospráší asi šest květů, zbytek květů a poupat se odstraní a větev se znovu zaizoluje. Po 1–2 dnech se u tří samoopylených květů vyštípnou blizny s čnělkami. Zbylé intaktní květy zůstávají jako kontrola. Blizny s čnělkami jsou macerovány v 1N NaOH 20 min. při teplotě 60 °C a poté přes noc barveny v roztoku anilinové modři (1 g anilinové modři a 7 g K_3PO_4 se rozpustí v 1 l destilované

vody). Preparáty se zhotoví mírným roztlakem obarvených čnělek v kapce glycerínu mezi podložním a krycím sklíčkem. Pod UV mikroskopem pak pylové láčky intenzívně světle modře fluoreskují na hnědém pozadí. Za AI se považuje materiál, v němž je pět a méně viditelných pylových láček.

Semenný test

Principem je sledování nasazení semen v šešulích vzniklých po samosprášení v otevřených květech. Na rostlině se zaizoluje větvíčka s poupaty a nechá se v izolaci rozkvést. Poté se odstraní polorozvité květy, čímž vznikne předěl mezi květy a poupaty. Asi čtyři květy se samospráší a současně se pomocí Pearsonových nůžek otevře pět poupat a samoopylí se. Zbytek květů a poupat se odstraní a větev se znovu zaizoluje. Šešule vzniklé ze samosprášených květů jsou indikátorem síly AI. Dostatečná AI reakce je tehdy, jestliže v šešuli vznikne nejvýše jedno semeno. Vzniknou-li nejvýše tři semena na šešuli, pak jde o částečnou AI reakci. Na větvi jsou současně předělem dobře rozlišitelné šešule vzniklé samosprášením v poupěti. Ty slouží k zachování identifikovaných rostlin s AI.

Vyhledávání stabilních AI rostlin

Jako výchozí materiál pro vyhledávání AI rostlin byly hlavně využívány odrůdy řepky ozimé typu 00, shromážděné v kolekci genových zdrojů na VÚOI Opava. V menší míře byly využity šlechtitelské materiály v různém stupni rozpracovanosti a novošlechtění. Pro vyhledávání AI rostlin byly použity obě uvedené metody, jako výhodnější se ukázal semenný test.

Z nalezených AI rostlin bylo nutné vyhledat jedince s dobrou stabilitou AI reakce. Proto byly přetestovány semenným testem a ty, které měly nedostačnou úroveň AI reakce, byly vyřazeny.

Tvorba homozygotních AI linií

Z rostlin se stabilní AI reakcí byly vytvořeny homozygotní AI linie dialelním křížením. Jeho principem je, že rostliny téže linie nesoucí různé S alely jsou navzájem kompatibilní. Homozygotizace pomocí dihaploidů z prašnickových kultur v tomto případě nebyla zatím úspěšná. Recipročně bylo kříženo vždy 15 rostlin z jedné linie, detekce projevu AI byla provedena semenným testem. Po vyhodnocení byly na základě kompatibilních a AI reakcí jednotlivých rostlin rozlišeny skupiny homozygotů a heterozygotů.

Testování identity S alel

Cílem je určit rozdílnost či totožnost S alel v získaných S homozygotních liniích. Principem je dialelní křížení jednotlivých S homozygotních linií, přičemž k prorůstání pylu a nasazení semen dochází pouze u těch kombinací, v nichž jsou obsaženy odlišné S alely.

VÝSLEDKY**Vyhledávání stabilních AI rostlin**

Výchozí rostliny vykazující AI reakci byly vyhledávány v přirozených, výběrem nedotčených populacích řepky ozimé s 00 kvalitou. Podle pracovních možností bylo každý rok otestováno 1 000 až 2 000 rostlin. Výskyt rostlin s AI reakcí byl v jednotlivých letech poměrně stabilní (tab. I). Výskyt nalezených AI rostlin se v jednotlivých letech pohybuje od 0,3 do 3,9 % (ročník 1985 je výrazně zkreslen použitím nevhodné modifikace fluorescenčního testu a v roce 1989 byl vysoký počet nalezených AI rostlin ovliv-

I. Počet nalezených AI rostlin v jednotlivých letech – The overall number of detected SI plants in the particular years

Rok ¹	Počet ²		Počet nalezených AI rostlin ⁵
	odrůd ³	rostlin celkem ⁴	
1985	8	370	121
1986	16	1300	13
1987	18	1800	26
1988	16	2100	15
1989	10	1000	39
1990	5	500	4
1991	10	1000	3
1992	10	1000	23
1993	10	1000	3
1994	10	1000	22
1995	10	1000	3

¹ year; ² number; ³ variety; ⁴ total plant number; ⁵ number of detected SI plants

něn špatným nasazením semen při opylení v poupěti; nebylo proto možné spolehlivě rozlišit AI reakci od rostlin specificky poškozených při testování). Většina AI rostlin byla nalezena v porostech komerčních 00 odrůd nebo jejich přesevů. V rozpracovaných šlechtitelských materiálech jich bylo nalezeno velmi málo, což je vzhledem k rozšířené variabilitě těchto materiálů poněkud překvapující. V porostech novošlechtění nebyly nalezeny téměř žádné AI rostliny zřejmě proto, že použítá novošlechtění jsou tvořena směsí inzuchtálních linií, což výskyt AI prakticky vylučuje.

Potomstvo rostlin nalezených při prvotním testování je nutné znovu přetestovat na úroveň AI. Bylo zjištěno, že stabilita AI reakce v generaci I_1 je velmi špatná (tab. II). Většina nalezených AI rostlin se vrací zpět ke kompatibilitě a jenom malá část potomstev si udržuje schopnost AI. V této fázi výběru na AI je nutné striktně vyhledávat potomstva s dokonalou úrovní AI a potomstva s neúplnou úrovní AI reakce je nutné vyřadit. Zde se zřejmě jedná o souvislost se silou projevu zachycené S alely, protože bylo zjištěno, že stabilita slabé AI reakce se v dalších generacích většinou nedá zlepšit výběrem. Výběr na dobrou úroveň AI po několik generací zpravidla neměl žádný vliv na upevnění autoinkompatibility u těchto potomstev.

II. Výsledků testování potomstev generace I_1 – Results of testing I_1 generation progenies

Rok ¹	Počet potomstev ²	Z toho ³		
		kompatibilní ⁴	částečná ⁵ AI	AI ⁶
1986	6	3	3	0
1987	17	10	4	3
1988	21	16	5	0
1989	18	4	14	0
1990	39	33	6	0
1991	4	3	1	0
1992	3	3	0	0
1993	23	rostliny vyzimovaly ⁶		
1994	15	15	0	0
1995	14	10	4	0

¹year; ²progeny number; ³out of that; ⁴compatible; ⁵partial SI; ⁶SI; ⁷plant frost injury

Porovnání fluorescenčního a semenného testu AI

Obě základní metody stanovení AI, tj. fluorescenční a semenný test bylo nutné mezi sebou porovnat pro zjištění jejich věrohodnosti a vzájemné srovnatelnosti. Byla použita uvedená kombinace fluorescenčního a semenného testu, jejíž výhodou je srovnání těchto testů na jedné větvi téže rostliny ve stejném čase, čímž se potlačí modifikující vliv prostředí. U autokompatibilních potomstev byly výsledky testů identické (tab. III). Přitom bylo zjištěno, že se semena normálně vyvinula i z květů poškozených vyštipnutím čnělky

III. Srovnání výsledků fluorescenčního a semenného testu – Comparison of the results of fluorescent and seed tests

Linie ¹	Fluorescenční test ²		Semenný test ³		Neurčeno ⁶
	kompatibilní ⁴	AI ⁵	kompatibilní	AI	
Tandem 85/1/2	13	5	4	7	12
Tandem 85/6	43	0	0	21	24
OP 024 87/1	14	0	14	0	0
OP 024 87/2	16	0	16	0	0
Elena 87/2	15	1	16	0	0
Anja 87/2	13	0	13	0	0
Anja 87/3	16	0	16	0	0
Anja 87/4	10	3	14	0	0
WRG 15 86/1	16	0	15	0	0
WRG 15 86/2	13	1	6	6	4
Liropa 86/1	12	4	2	10	4
Start 86/1	9	3	0	9	1
Elena 87/1	4	0	7	0	1

Neurčeno u semenného testu znamená, že se nevytvořila semena ani při opylení v otevřených květech a ani při opylení v poupěti. Nebylo proto možné objektivně určit, zda jde skutečně o AI reakci – Not determined in the seed test says that no seeds were produced either during pollination in open flowers or during pollination in buds. Hence it was not possible to determine reliably whether it was really SI reaction

¹line; ²fluorescent test; ³seed test; ⁴compatible; ⁵SI; ⁶not determined

s bliznou. Vzniklé šešule pouze neměly zobaň, jinak byly plnohodnotné, se zcela normálně vyvinutými semeny.

Odlišná situace nastala u AI potomstev. U tří potomstev (Tandem 1/85/2, WRG-15 86/2, Liropa 86/1) byly oběma testy nalezeny rostliny s AI reakcí, ale v různém poměru k rostlinám autokompatibilním, takže výsledky obou testů se lišily. Ještě větší rozdíly byly nalezeny u potomstev označených Tandem 85/6 a Start 86/1. U těchto potomstev byla fluorescenčním testem nalezena převaha autokompatibilních rostlin nad AI, kdežto semenným testem autokompatibilní rostliny vůbec nalezeny nebyly. Z výsledků vyplývá, že ve srovnání se semenným testem je fluorescenční test nespolehlivý a poskytuje zkreslené výsledky. Vzhledem k tomu a také s přihlédnutím k značné pracovní náročnosti byl dále používán pouze semenný test.

IV. Dialelní křížení S homozygotní linie WRG 15 86/2 – Diallel crossing of S homozygous line WRG 15 86/2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
2	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
4	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
5	I	I	I	I	I	I	I	I	I	—	I	I	I	I	I
6	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
7	I	I	I	I	K	K	I	K	I	—	I	I	—	I	—
8	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
9	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	—	—	—	—
10	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
11	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
12	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
13	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
14	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
15	I	I	—	—	—	—	I	I	I	I	I	I	I	I	I

I = inkompatibilní kombinace — incompatible combination

K = kompatibilní kombinace — compatible combination

Homozygotizace S alel dialelním křížením

Sérií testů na AI bylo nalezeno sedm potomstev, která vykazovala dostatečně stabilní úroveň AI, takže bylo možné provést homozygotizaci S alel dialelním křížením. Jednalo se o potomstva označená jako Start 86/1, WRG 15 86/2, Tandem 85/6, Tandem 85/1, Liropa 86/1, Liropa 87/1 a Liropa 88/1. U potomstva Start 86/1 bylo pro nedostatek rostlin provedeno pouze křížení 12 x 12, u všech ostatních potomstev pak 15 x 15 rostlin. Dialelní tabulky jsou uspořádány tak, že otcovské rostliny jsou ve vodorovné řadě a mateřské v řadě svislé. Na úhlopříčce jsou pak výsledky opylení jednotlivých rostlin vlastním pylem, které slouží pro ověření úrovně AI zkoušeného potomstva.

Linie označené jako Start 86/1, WRG 15 86/2 a Liropa 88/1 byly homozygotní. Linie Tandem 85/1, Tandem 85/6 a Liropa 87/1 byly heterozygotní,

V. Dialelní křížení S heterozygotní linie Tandem 85/6 – Diallel crossing of S homozygous line Tandem 85/6

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	I	–	I	–	I	I	I	I	I	I	I	I	–	I	I
2	–	I	I	I	I	I	K	I	I	I	–	K	K	K	K
3	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	K	I	I	–	I
4	I	K	I	I	I	I	I	K	I	I	I	I	I	I	K
5	I	K	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
6	I	I	I	I	I	–	I	I	I	I	I	I	I	I	I
7	I	K	I	I	I	I	–	I	I	I	K	I	I	I	I
8	I	K	I	I	I	I	–	I	I	I	K	I	I	I	I
9	I	I	I	I	I	I	I	I	–	I	I	K	I	I	I
10	I	K	I	I	I	–	I	K	I	–	I	I	I	K	I
11	K	K	I	I	K	K	–	K	K	–	I	K	K	I	I
12	I	K	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
13	I	K	I	I	I	I	K	I	I	I	I	I	I	K	I
14	K	K	K	I	K	K	I	I	K	I	K	K	I	K	K
15	I	I	I	I	I	I	I	I	I	K	K	I	K	I	I

I = inkompatibilní kombinace — incompatible combination

K = kompatibilní kombinace — compatible combination

přičemž většinou pouze jedna alela byla dostatečně účinná. Linie Liropa 86/1 měla úroveň AI nespolehlivou a byla proto vyloučena.

V tab. IV je uveden příklad dialelního křížení S homozygotní linie WRG 15 86/2. Chybějící kombinace křížení nebylo možné uskutečnit, protože příslušné rostliny neměly dostatečný počet květenství. Sporný je výskyt tří kompatibilních kombinací u rostliny č. 7. Vzhledem k tomu, že tyto kombinace byly dělány jako poslední, je možné, že došlo k oslabení AI reakce vlivem stáří rostliny anebo vlivem vysoké teploty v době dokvétání.

Z tab. V vyplývá, že zde jde o reakci dvou S alel s různým stupněm AI. Rostliny č. 1, 3, 5, 6 a 9 jsou homozygotní pro silnější z obou alel. Zbytek rostlin je směsí homozygotů a heterozygotů, které ale nelze odlišit pro nevyhraněnost AI reakce.

Testování identity S alel

Bylo provedeno pouze u čtyř linií, protože se nepodařilo vlivem ztrát vyžimováním zajistit současně rostliny všech šesti linií. Linie při vzájemném recipročním křížení nasazují semena (tab. VI), z čehož vyplývá, že s největší pravděpodobností obsahují rozdílné S alely a jsou proto vzájemně kompatibilní. V případě inkompatibilních kombinací k nasazování semen nedochází.

VI. Přehled nasazování semen vzájemných kombinací AI linií – An overview of seed setting in mutual combinations of SI lines

	Start 86/1	Tandem 85/1	Tandem 85/6	WRG-15 86/1
Start 86/1	–	+	+	+
Tandem 85/1	+	–	+	+
Tandem 85/6	+	+	–	+
WRG 15 86/1	+	+	+	–

+ = kompatibilní kombinace – compatible combination

– = inkompatibilní kombinace – incompatible combination

DISKUSE

Nalezené množství AI rostlin ve výběrem nedotčené zdrojové populaci je v souladu s výsledky, které uvedli Schweiger, Rudloff (1981) a Rudloff (1990). Tito autoři a rovněž Kučera a Černý (1990) zaznamenali

neshodu mezi fluorescenčním a semenným testem. Problémy se stabilizací AI výběrem v následných generacích inzuchtů odpovídají poznatkům, které uvedli Kučera a Černý (1990) i Esch a Wricke (1995). Z dosažených výsledků je zřejmé, že jen malá část zachycených AI rostlin má AI reakci stabilní. Tyto komplikace lze vysvětlit založením AI méně účinnými S alelami. Přes uvedené problémy bylo nalezeno celkem šest potomstev se stabilní AI reakcí, ze kterých byly dialelním křížením detegovány rostliny homozygotní pro S alely. Dialelní analýzou byly u čtyř získaných S homozygotních linií zjištěny čtyři vzájemně odlišné S alely. Výsledky práce nasvědčují možnosti získat S homozygotní AI linie pro hybridní šlechtění z původních genových zdrojů, odrůd – populací řepky ozimé.

L i t e r a t u r a

- ESCH, E. – WRICKE, G.: Investigations on self-incompatibility in *Brassica napus* towards hybrid breeding. In: Proc. 9th rapeseed Int. Conf., Cambridge 1995: 83–85.
- KUČERA, V. – ČERNÝ, J. Tvorba autoinkompatibilních linií pro hybridní šlechtění řepky. [Závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, VÚRV 1990.
- RUDLOFF, E.: Stand und Probleme der Nutzung der Selbstinkompatibilität für die Hybridzüchtung bei Winterraps. Výroční zpráva z trojstranné spolupráce 1990.
- SCHWEIGER, W. – RUDLOFF, E.: Untersuchungen zur Hybridzüchtung bei Winterraps unter Ausnutzung der programmen Inkompatibilität. Tag. Ber. Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, 191, 1981: 73–78.

Došlo 29. 1. 1996

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Havel, CSc., Oseva PRO s.r.o., Výzkumný ústav olejnin, Purkyňova 6, 746 01 Opava, Česká republika, tel.: 0653/216 560, fax: 0653/216 542

DĚDIČNOST POČTU CHLOPNÍ NA ŠEŠULI
U *Brassica campestris* L. (SYN. *Brassica rapa* L.)*

Inheritance of Number of Pod Valves in *Brassica campestris* L.
(syn. *Brassica rapa* L.)

Jaroslav SALAVA, Barbora NOVÁKOVÁ¹, Derek LYDIATE²

Research Institute of Crop Production, Prague; ¹Czech University of Agriculture, Prague, Czech Republic; ²Brassica and Oilseeds Department, John Innes Centre, Norwich, United Kingdom

Abstract: The inheritance of the number of pod valves in *Brassica campestris* was investigated in two B₁ (R-o-18 x (R-o-18 x RM29), (R-o-18 x (R-o-18 x x R-c-50))) and sixty B₁S₁ progenies. The number of pod valves and sources of the lines used in this study are listed in Table I. Plants were grown in glasshouses at 20/10-12 °C day/night temperatures with a 8-hour day photoperiod in a photoperiodic glasshouse. The number of pod valves was scored visually as two (BV) or more than two - multi (MV). Simple chi-square tests for goodness-of-fit based on an assumed genetic model were used to evaluate experimental data. The segregation patterns (Table II) in these populations indicated that the number of pod valves is monogenetically governed with the allele for bivalved type (BV) showing complete dominance over multivalved type (MV). Our results fully agree with published interpretations of the number of pod valves inheritance in *B. campestris* (Mohammad et al., 1942; Aslam, Bechyně, 1983; Varshney, 1987).

Brassica campestris; pod; number of valves; inheritance

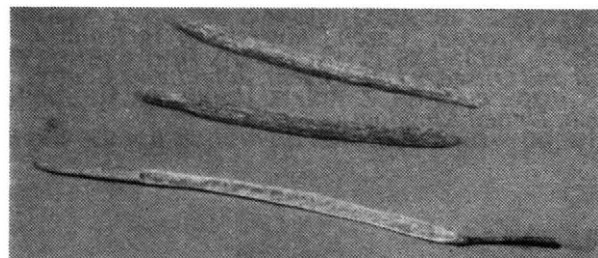
Abstrakt: Dědičnost počtu chlopní na šesuli u *Brassica campestris* byla sledována ve dvou B₁ a 60 B₁S₁ populacích po kříženích mezi R-o-18 (ssp. *trilocularis*, vicechlopnové šesule) a RM29 (ssp. *oleifera*, dvouchlopnové šesule), resp. R-c-50 (ssp. *chinensis*, dvouchlopnové šesule). Štěpné poměry získané v těchto populacích ukázaly, že počet chlopní na šesuli u tohoto druhu je řízen jedním genem a že šesule se dvěma chlopněmi jsou zcela dominantní nad šesulemi s více

* Financován z grantů EC TEMPUS JEP 1426, AFRC UK a CPB Cambridge.

chlopněmi. Výsledky jsou konfrontovány s publikovanými pracemi. Je také zmíněna možnost využití tohoto znaku ve šlechtění.

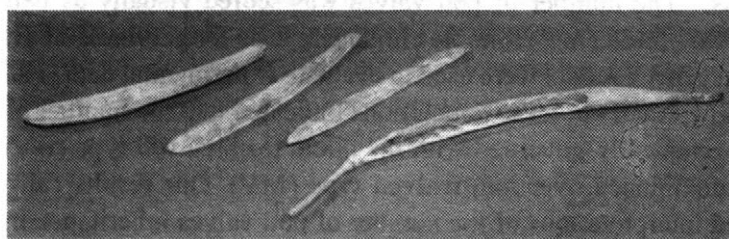
Brassica campestris; šesule; počet chlopní; dědičnost

Subspecies *trilocularis* se liší od ostatních subspecií *Brassica campestris* kromě jiného tím, že má vícechlopněvé šesule (obr. 2 a 3). Tyto šesule neobsahují dvě chlopně (obr. 1), jak je to typické pro rod *Brassica*, ale mají tři



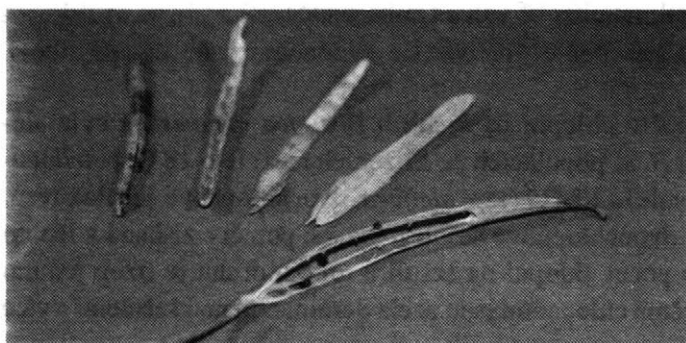
1. Dvouchlopněvá šesule R-c-50 a6
– Bivalved pod of a R-c-50 a6 plant

nebo čtyři chlopně. S vícechlopněvostí jsou spojeny dvě šlechtitelsky prospěšné vlastnosti: vyšší počet semen v těchto šesulích (Podkolzina, 1974; Foss, 1988; Bechyň, 1989) a větší odolnost k pukání (Buzza, 1978; Kadkol, Halloran, 1986; Howell, 1994 – ústní sdělení).



2. Vícechlopněvá šesule
R-c-50 B₁S₁ 43
– Multivalved
(threevalved) pod of a
R-c-50 B₁S₁ 43 plant

Cílem této práce bylo stanovit dědičnost počtu chlopní na šesuli a připravit materiály pro RFLP mapování a přenos tohoto znaku do *B. napus*.



3. Vícechlopněvá šesule
R-c-50 B₁S₁ 43
– Multivalved (fourvalved)
pod of a R-c-50 B₁S₁ 43
plant

MATERIÁL A METODY

Rostlinný materiál a křížení

Popis rostlinných materiálů použitých pro křížení je uveden v tab. I. Pro studium dědičnosti počtu chlopní na šesuli byly vytvořeny zpětným křížením dvě B_1 populace: R-o-18 x (R-o-18 x RM29) a R-o-18 x (R-o-18 x x R-c-50) a izolací rostlin z těchto B_1 populací 131 B_1S_1 populací. K překonání autoinkompatibility byl použit opakovaný postřik 1,5% roztokem NaCl, popřípadě bylo provedeno doopylení v poupěti.

I. Popis použitého rostlinného materiálu – Characteristics of *Brassica campestris* lines used in crosses

Označení ¹	Subspecies ²	Původ ³	Genetická charakteristika ⁴	Počet chlopní na šesuli ⁵
R-o-18	<i>trilocularis</i>	IPR Gatersleben	linie ⁶	více než dvě (MV) ⁸
RM29	<i>oleifera</i>	JIC Norwich	inbrední linie ⁷	dvě (BV) ⁹
R-c-50	<i>chinensis</i>	SCRI Dundee	inbrední linie	dvě (BV)

¹ designation, ² subspecies, ³ origin, ⁴ genetic characteristics, ⁵ number of pod valves, ⁶ line, ⁷ inbred line, ⁸ more than two (MV), ⁹ two (BV)

Podmínky pro pěstování rostlin

Rostliny byly pěstovány ve sklenících, kde byla udržována teplota přes den 20 °C a přes noc 10–12 °C. Doba osvětlení ve skleníku s řízenou délkou světelného dne byla 8 hodin. Rostliny byly pěstovány v kořenáčích z plastické hmoty o průměru 15 cm. Jako substrát byla použita směs zeminy, rašeliny, jemného štěrku, vápence a pozvolně působícího hnojiva Osmocote.

Hodnocení počtu chlopní na šesulích

Počet chlopní na šesulích byl hodnocen vizuálně ve dvou vývojových fázích rostlin. Poprvé to bylo u 10 nejstarších šesulí hlavního květenství v době, kdy tyto šesule dosahovaly délky asi 25 mm, a podruhé na všech šesulích na rostlině těsně před výmlatem. Rostliny byly podle počtu chlopní na šesulích rozděleny do dvou skupin: na rostliny s dvouchlopními šesulemi

(BV) a na rostliny s vícechlopňovými šesulemi (MV). Do této skupiny byly zařazeny všechny rostliny, které měly nějaké vícechlopňové šesule.

Zpracování získaných výsledků

Porovnání získaných štěpných poměrů s předpokládanými štěpnými poměry bylo provedeno pomocí χ^2 testu.

VÝSLEDKY

F_1 rostliny po kříženích R-o-18 x RM29 i R-o-18 x R-c-50 měly šesule se dvěma chlopněmi. Z toho vyplývá, že dvouchlopňové šesule jsou dominantní nad šesulemi vícechlopňovými. V obou B_1 populacích a 36 vybraných B_1S_1 populacích (pocházejících z B_1 rostlin s dvouchlopňovými šesulemi) docházelo ke štěpení na rostliny nesoucí šesule se dvěma chlopněmi a na rostliny nesoucí šesule s více chlopněmi. Dvacet čtyři B_1S_1 populací pocházejících z B_1 rostlin R-c-50 s vícechlopňovými šesulemi v tomto znaku neštěpilo.

Získané štěpné poměry, hodnoty χ^2 testu a pravděpodobnosti shody těchto poměrů s očekávanými štěpnými poměry (P) jsou uvedeny v tab. II.

II. Štěpení v počtu chlopní na šesuli v B_1 a B_1S_1 populacích – Segregation for the number of pod valves in B_1 and B_1S_1 progenies

Generace/populace ¹	Štěpení v počtu chlopní ²		χ^2	P
	dvě ³ (BV)	více ⁴ (MV)		
	Očekávaný štěpný poměr v ⁵ B ₁ 1 : 1			
B ₁ : RM29	36	23	2,86	0,05-0,10
R-c-50	53	44	0,84	0,30-0,50
	Očekávaný štěpný poměr v B ₁ S ₁ 3 : 1			
B ₁ S ₁ : JS-7	85	38	2,28	0,10-0,20
JS-20	80	36	2,25	0,10-0,20
JS-34	95	39	1,20	0,20-0,30
R-c-50				
Dlouhý den ⁶	250	78	0,26	0,50-0,70
Krátký den ⁷	319	100	0,29	0,50-0,70

¹generation/population, ²segregation for the number of valves, ³two (BV), ⁴more than two (MV), ⁵expected segregation ratio in, ⁶long day, ⁷short day

DISKUSE

Štěpné poměry obdržené v B_1 a B_1S_1 populacích ukazují, že počet chlopní na šesuli u *Brassica campestris* je řízen jedním genem a že šesule s dvěma chlopněmi jsou úplně dominantní nad šesulemi s více chlopněmi. Naše výsledky jsou v souladu se závěry, které uvádějí Mo ham mad et al. (1942), Aslam a Bechyně (1983) a Varshney (1987). Dvouchlopněvé šesule byly v jejich pokusech dominantní a počet chlopní na šesuli byl řízen jedním genem.

Nižší pravděpodobnost shody získaného a očekávaného štěpného poměru v RM29 B_1 populaci mohla být způsobena velkými ztrátami rostlin během jejich pěstování, aniž by tyto rostliny přinesly šesule. Problémy při hodnocení tohoto znaku způsobuje jeho nestabilita (neúplná penetrance) v rámci jedné rostliny. O tomto jevu se zmiňují také Aslam a Bechyně (1983) i Podkolzina (1974). Jedná se o to, že rostliny nesoucí vícechlopněvé šesule nesou i šesule se dvěma chlopněmi. Výzkumem faktoru, který tuto nestabilitu způsobuje, se zatím nikdo nezabýval, ale jeho nalezení a prozkoumání bude nutné pro další využití tohoto znaku ve šlechtění.

Literatura

- ASLAM, M. Y. – BECHYNĚ, M.: Dědičnost počtu řad semen v šesulích řepice (*Brassica campestris*). Genet. a Šlecht., 19, 1983: 153–155.
- BECHYNĚ, M.: Aspekty genetické variability u brukvovitých olejnin. Praha, VN MON 1989: 77–88.
- BUZZA, G.: Future Research Priorities and Strategies (a) Breeding objectives. In: Proc. Australian Rapeseed Agronomists and Breeders. 1st Research Workshop, Netherlands, W. Aust., 1977, Inst. Agric. Univ. W. Aust. Miss. Pub. 78/1, 1978: 48–50.
- FOSS, R. A.: Breeding *Brassica juncea* for increase number of seed/pod using multivalvularity. Cruciferae Newslett., No. 13, 1988: 23.
- KADKOL, G. P. – HALLORAN, G. M.: Inheritance of siliqua strenght in *Brassica campestris* L. I. Studies of F_2 and backcross populations. Can. J. Genet. Cytol., 28, 1986: 365–373.
- MOHAMMAD, A. – SIKKA, S. M. – AZIZ, M. A.: Inheritance of seed colour in some oleiferous *Brassicaceae*. Indian J. Genet. Plant Breed., 1942: 112–127.
- PODKOLZINA, V. E.: The phenomenon of multivalvularity in the fruit of *Brassica* species. Botanicheskij zhurnal, 59, 1974: 688–691.

VARSHNEY, S. K. : Inheritance of siliqua characters in Indian colza I. Locule number and siliqua position. *Euphytica*, 36, 1987: 541-544.

Došlo 29. 1. 1996

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Salava, Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/360 851-9, l. 350, fax: 02/362 952

ODLIŠENÍ ODRŮD HRACHU KOMET A CELESTE POMOCÍ ELEKTROFORÉZY ZÁSObNÍCH BÍLKOVIN

Differentiation of Pea Varieties Komet and Celeste by Electrophoresis of Storage Proteins

Jan KUBÁNEK

SELGEN, a.s., Plant Breeding Station Stupice, 250 84 Sibřina, Czech Republic

Abstract: A method is described for the characterization and differentiation of *Pisum sativum* L. (pea) some cultivars by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamid gel electrophoresis (SDS-PAGE) of the TRIS glycine buffer pH 8.0 soluble protein fraction. The relative mobilities and approximative molecular weights of the protein sub-units which differ between cultivars are given.

pea; cultivar; differentiation; SDS-PAGE

Abstrakt: Je popsána metoda umožňující charakterizaci a odlišení některých odrůd hrachu setého (*Pisum sativum* L.) pomocí elektroforézy v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsírany sodného (SDS-PAGE) frakce zásobních bílkovin rozpustných v TRIS glycinu pufru pH 8,0. Jsou udány relativní mobility a přibližné molekulové hmotnosti bílkovinných podjednotek odlišujících odrůdy hrachu.

hrách; odrůda; odlišení; SDS-PAGE

Biochemické znaky jsou v posledních dvou desetiletích se stále se zvětšující měrou používány pro charakterizaci odrůd téměř všech kulturních rostlinných druhů. Pro tyto účely lze využít nejen enzymatických i zásobních rostlinných bílkovin (elektroforéza, imunoblotting, monoklonální protilátky), ale i nukleových kyselin (RFLP, RAPD). Nejvíce je použití biochemických znaků propracováno u obilovin. U hrachu setého (*Pisum sativum* L.) popsal elektroforetickou variabilitu zásobních bílkovin získanou pomocí elektroforézy ve škrobovém gelu Hynes (1968). Tyto poznatky byly potvrzeny a rozšířeny dalšími autory (Adriaanse, Robbers, 1970; Rao, Pernollet, 1981; Thomson et al., 1978; Šásek et al., 1983).

Cílem této práce bylo na základě uvedených poznatků získat co nejvíce biochemických znaků vhodných pro odlišení odrůd hrachu setého Celeste a Komet.

MATERIÁL A METODY

Biologický materiál (původ a popis odrůd)

Komet: Odrůda žlutozrného hrachu, vyšlechtěná na Šlechtitelské stanici v Lužanech u Přeštic, a.s. Selgen. Původ: (Tyrkys x Erygel) x Bohatýr. V SOZ byl zkoušen pod označením LU-115. Vysocevýnosná odrůda s dobrou odolností proti poléhání. V polních podmínkách patří mezi nejodolnější k fuzariózám, obecné strupovitosti, bakteriózám a perenospoře. Vyznačuje se nižší HTZ. Plastická odrůda, vhodná do vlhčích poloh řepářské a bramborářské oblasti. Pro analýzu bylo použito osivo stupně S1, dodané ŠS Lužany, Selgen a.s.

Celeste: Odrůda žlutozrného hrachu, vyšlechtěná firmou Graines-Sue-doises, Chantilly, France, je majetkem firmy Nickerson France. Původ: Bohatýr x neurčená linie fy Nickerson). Jedná se o odrůdu intermediárního typu, o 15 cm nižší a o den ranější než odrůda Komet. Odolnost proti chorobám je dobrá. HTZ je větší než u odrůdy Komet. Pro analýzu byl použit originální vzorek referenčního osiva určeného pro srovnávací pokusy, dodaný firmou Nickerson, France.

Extrakce proteinu

Jednotlivá zrna hrachu byla rozdrcena mezi dvěma papíry a získaný celozrný šrot byl odtučněn studeným acetonem po dobu 4–6 hodin (2 ml na zrno, 3 výměny). Odtučněný šrot byl extrahován 0,005 Tris glycin pufrem, pH 8,0, při 4 °C po 2 hodiny. Extrakty získané centrifugací byly použity pro elektroforetické dělení.

Příprava vzorku pro SDS-PAGE

Jasný supernatant (0,25 ml) byl smíchán se stejným objemem vzorkového pufru obsahujícího 2 % SDS, 5 % 2-merkaptetanolu a 10 % glycerolu v 0,0625M Tris HCl pufru pH 6,8. Vzorky byly 5 minut zahřívány na vroucí vodní lázni, centrifugovány a supernatant použit pro elektroforézu.

Elektroforéza (SDS-PAGE)

Elektroforéza byla provedena v modifikované verzi diskontinuálního systému, který popsal Laemmli (1970). Dělicí gel (20 x 14 x 0,15 cm) obsahoval 10 % akrylamidu, 0,15 % BIS a 0,1 % SDS v 0,37M TRIS HCl pufru, pH 8,8. Zaostřovací gel obsahoval 3 % akrylamidu, 0,04 % BIS a 0,1 % SDS v 0,125M TRIS HCl pufru, pH 6,8. Elektrodotový pufr obsahoval 0,025M TRIS, 0,19M glycinu a 0,1 % SDS. Jeho pH bylo 8,3. Do vzorkových kapes bylo aplikováno 5–20 µl vzorku (na jednu kapsu jedno zrno).

Průběh elektroforézy byl sledován pomocí bromfenolové modři přidané do extrakčního činidla. Pro elektroforetické dělení byl použit přístroj DESAPHOR VA v kombinaci se zdrojem proudu DESAPHOR a chladicím zařízením FRIGOSTAT, vše od firmy DESAGA, Heidelberg (SRN). Na začátku byl aplikován proud 60 mA, jakmile zóna bromfenolové modři dosáhla rozhraní zaostřovacího a dělicího gelu, byl proud zvýšen na 150 mA. Bylo pracováno při konstantním proudu a teplotě 18 °C. Napětí se plynule měnilo od 170 do 380 V. Po cca 5 hodinách byla elektroforéza ukončena.

Fixace a barvení

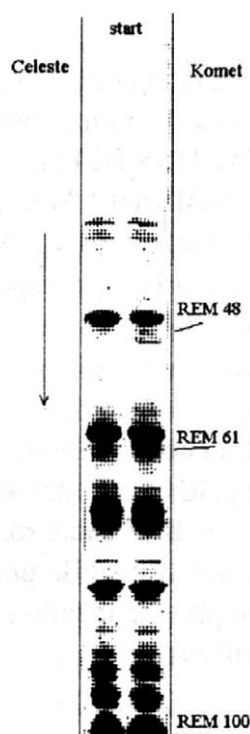
Vyjmuté gely byly fixovány přes noc v roztoku 15% kyseliny trichloroctové (TCA). Poté byly opláchnuty destilovanou vodou a barveny přes noc v roztoku metanolu, kyseliny octové a vody (45 : 9 : 45) obsahujícím 0,1 % Serva Blue R. K odbarvení pozadí gelu bylo třeba několika výměn uvedeného směsného roztoku. Po odbarvení byly gely opláchnuty destilovanou vodou a uchovány v zatavených polyetylenových sáčcích.

Vyhodnocení

Pozice obarvených bílkovinných pásů byly změřeny a vyjádřeny jako relativní mobility vzhledem k poloze bromfenolové modři.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Podjednotkové složení bílkovin získané SDS-PAGE frakce zásobních bílkovin hrachu rozpustných v TRIS glycin pufru pH 8,0 je uvedeno na obr. 1. Z obrázku je zřejmé, že v souhlasu s jinými autory (Przybylska, 1986; Šuška, Stejskal, 1992) existují významné rozdíly mezi zónami bílkovinných podjednotek, které mohou sloužit pro charakterizaci a odlišení uve-



1. Rozdíly v elektroforetickém spektru odrůd Celeste a Komet —
Electrophoretic diversity of cultivars Celeste and Komet

dených dvou odrůd hrachu. Tyto rozdíly lze popsat jednoduchým určením jejich relativní mobility. Jelikož SDS-PAGE dělí bílkovinné podjednotky v zásadě podle jejich molekulové hmotnosti, lze na základě souběžné analýzy bílkovin o známé molekulové hmotnosti, která zde není graficky prezentována, přiřpat zónám i přibližnou molekulovou hmotnost.

Odrůda Komet má proti odrůdě Celeste navíc dvě bílkovinné zóny (obr. 1) o relativních mobilitách 48 a 61, čemuž odpovídají přibližné molekulové hmotnosti 36,5, případně 31 kD. V soulasu s poznatkami jiných autorů (C o o k , 1983) patří podjednotka s relativní mobilitou 48 do skupiny podjednotek velkých podjednotek leguminu a podjednotka s relativní mobilitou 61 do skupiny malých podjednotek vicilinu.

Od obou odrůd bylo analyzováno po 50 jednotlivých zrnech na čtyřech různých gelech. V žádném případě nebyla zjištěna vnitroodrůdová variabilita. Vzhledem k původu a stupni množení použitého biologického materiálu o nejvyšší dosažitelné čistotě a použité metodě výběru jednotlivých zrn (mechanické dělidlo vzorků) lze počet 50 analyzovaných zrn považovat za statisticky dostatečný.

Závěrem lze říci, že metodu SDS-PAGE lze použít pro získání doplňkových biochemických znaků odlišujících odrůdy hrachu Celeste a Komet. V opačném případě by bylo možné pokusit se o odlišení odrůd na základě enzymatických bílkovin (např. Š u š k a , 1993).

L i t e r a t u r a

ADRIAANSE, A. – ROBBERS, J. E.: Characterization and fractionation studies on seed proteins of some of the Leguminosae by starch-gel electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.*, 21, 1970: 126–128.

COOK, R. J.: The characteristics of *Pisum sativum* L. (partim) (field pea) cultivars by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamid gel electrophoresis. J. natn. Inst. agric. Bot., 16, 1983: 213-220.

HYNES, M. J.: Genetically controled electrophoretoc variants of a storage protein in *Pisum sativum*. Austr. J. Biol. Sci., 21, 1968: 827-829.

LAEMMLI, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. Nature, 227, 1970: 680-685.

PRZYBYLSKA, J.: Identification and classification of the *Pisum* genetic resources with the use of electrophoretic protein analysis. Seed Sci. and Technol., 14, 1986: 529-543.

RAO, R. - PERNOLLET, J.-C.: *Pisum sativum* seed globulins as biochemical markers for "wrinkled-smooth" seed character: comparison of genotypes through different protein extraction and electrophoretic procedures. Agronomie, 1, 1981: 909-916.

ŠUŠKA, M.: Isoenzymes from pea (*Pisum*) leaves and their use in cultivar identification. Genet. a Šlecht., 29, 1993: 27-33.

ŠAŠEK, A. - HÁJEK, D. - TRČKA, P.: Využití elektroforézy bílkovin k rozlišení odrůd hrachu (*Pisum sativum*). Rostl. Výr., 29, 1983: 721-726.

ŠUŠKA, M. - STEJSKAL, J.: The electrophoretic identification of pea (*Pisum sativum* L.) cultivars by seed protein analysis. Rostl. Výr., 38, 1992: 203-208.

THOMSON, J. A. - SCHROEDER, H. E. - DUDMAN, W. F.: Cotyledonary storage proteins in *Pisum sativum*. I. Molecular heterogeneity. Austr. J. Plant Physiol., 5, 1978: 263-279.

Došlo 10. 1. 1996

Kontaktní adresa:

RNDr. Jan Kubánek, CSc., SELGEN, a.s., Šlechtitelská stanice Stupice,
250 84 Sibrina, Česká republika, tel.: 02/677 10 646, fax: 02/677 11 398

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. 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	148,-	154,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	148,-	154,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	148,-	154,-
Lesnictví – Forestry	12	148,-	154,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	115,-	120,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	66,-	70,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	44,-	46,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	44,-	46,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	44,-	46,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	44,-	46,-

VARIABILITA A SELEKCE LUPINY ANDSKÉ (*L. mutabilis* L.)*Variability and Selection of *Lupinus mutabilis*

Jaroslava EHRENBARGEROVÁ, Pavlína HRSTKOVÁ, Oldřich CHLOUPEK

Mendel University of Agriculture and Forestry – Department of Crop Science
and Plant Breeding, Brno, Czech Republic

Abstract: Twenty five samples of *Lupinus mutabilis* from INRA Lusignan (France) and FAL Braunschweig (Germany) were evaluated. Twelve strains (half-sib progenies) were selected, crossed and 24 crosses were obtained. Six strains were selected for protein and oil content (nr. 2, 7, 9, 11, 17 and 18) with 45.5–48.8 % of protein and 10.8–13.2 % of oil (Fig. 1a, b). Mean selection differential in F_2 amounted to 1.44 % for protein and 0.41 % for oil (Table VII). The highest heterosis for protein was found in strain 11, i.e. 8.1 % in F_1 and 7.8 % in F_2 . For oil in strain 2 these figures were 12.4 % and 26.3 %, resp. (Table V). Seven strains were selected for lower alkaloid content in generation F_2 (21/2; 21/8; 22/8; 22/32; 23/5; 23/10 and 23/16) with a mean content of 0.52 % (0.43–0.64 %). Their selection differentials ranged from –0.37 % to –0.58 % (Table VIII). No relationship between the content of alkaloids on one hand, and the content of oil and protein on the other hand, was found in the 25 original samples (Chloupek et al., 1992), and neither in the two following generations. In both generation F_1 and F_2 not even a relationship between the content of protein and oil was found; in the 25 original samples (1990–1991) and the 12 strains (1992–1994) the relation was very variable (Tables III and IV). The results encourage the breeding of *Lupinus mutabilis* for higher yields of protein + oil and for lower alkaloid concentrations.

Lupinus mutabilis; hybrids; protein; oil; alkaloids; genetic comparisons

Abstrakt: Hodnotili jsme 25 vzorků *Lupinus mutabilis* získaných z INRA Lusignan (Francie) a z FAL Braunschweig (SRN). Z nich jsme vybrali 12 kmenů a jejich křížením bylo vytvořeno 24 hybridů. Selekcí v F_2 generaci na obsah proteinu a oleje jsme získali šest kmenů (č. 2, 7, 9, 11, 17 a 18) s obsahem proteinu 45,5 až 48,8 % a obsahem oleje 10,8–13,17 % (obr. 1a, b). Průměrný

* Práce a veškerá experimentální činnost k ní směřující byla podporována GA ČR (projekt č. 506/93/0561) a agenturou COST (prostřednictvím MŠMT ČR; projekt č. OC 814.10).

selekční diferenciál v F₂ generaci činil pro protein 1,44 % a pro olej 0,41 % (tab. VII). Nejvyšší heteroze vybraného kmene 11 byla u proteinu 8,1 % v F₁ a 7,8 % v F₂ generaci. V obsahu oleje byla stanovena nejvyšší heteroze 12,4 % v F₁ a 26,3 % v F₂ generaci u kmene č. 2 (tab. V). Na nízký obsah alkaloidů bylo vybráno sedm kmenů v generaci F₂ (21/2; 21/8; 22/8; 22/32; 23/5; 23/10; 23/16) s průměrným obsahem alkaloidů 0,52 % (min. 0,43 % a max. 0,64 %). Jejich selekční diferenciály (tab. VIII) se pohybují od -0,37 % do -0,58 % a snížení alkaloidů oproti průměrnému obsahu výchozích rodičovských kmenů představuje 18–45,6 procentních bodů. Vztah mezi obsahem alkaloidů na jedné straně a obsahem oleje a proteinu na straně druhé u 25 výchozích kmenů (Chloupek et al., 1992) ani u obou generací hybridů nebyl nalezen. V generacích F₁ a F₂ nebyl prokázán ani vztah mezi obsahem proteinu a oleje; u výchozích 25 kmenů (1990–1991) a 12 rodičovských kmenů (1992–1994) byl vztah pro tyto dvě obsahové látky velmi proměnlivý (tab. III a IV). Je tedy předpoklad šlechtění lupiny andské na vyšší výnos proteinu a oleje a nízký obsah alkaloidů. Obsahy proteinu, oleje a alkaloidů nebyly na výnosu semen většinou závislé. Jejich korelační koeficienty se pohybovaly od -0,40 do 0,15 (s výjimkou vztahu mezi obsahem oleje a výnosem semen v F₂ generaci – $r = 0,758^{**}$).

lupina andská; hybridy; protein; olej; alkaloidy; genetické srovnání

Lupina andská (proměnlivá) (*Lupinus mutabilis* L., anglicky pearl lupin) se přirozeně vyskytuje v Severní a Jižní Americe (Peru, Bolívie, Ekvádor), především ve vyšších polohách And, kde byl tento samosprašný druh vlčího bobu pěstován Indiány více než 2 000 let př. n. l. Odtud také pochází místní název tarwi. Není příbuzná s evropskými druhy lupiny, od nichž se liší vyšším obsahem oleje. Svým složením připomíná sóju. Původní pěstitelé používali semena lupiny andské jako potravinu. Konzumovali je však až po vyplavení alkaloidů tekoucí vodou.

Extrakt získaný při odhořčování lupiny vodou byl jako postřik zkoušen v Německu, Portugalsku a Itálii. Vedl ke zvýšení výnosů u sóji (o 11–23 %), slunečnice (10–23 %), čínské zeli (20–28 %), ale byly získány i jiné výsledky (až po depresi). Došlo také ke zvýšení velikosti semen sóje a obsahu proteinu u slunečnice (Kahnt, Hijagi, 1991). Tentýž extrakt použitý k organickému hnojení zvýšil výnos brambor o 33 %, mrkve a cibule od 6 do 38 % (Kahnt, Hijagi, 1987).

Semena lupiny obsahují podle literárních údajů 2–4 % alkaloidů. Z nutričně cenných látek pak protein (44–50 %), olej (12–15 % v podmínkách střed-

ní Evropy a 19 % na nalezištích), železo (42 mg/kg), zinek (33 mg/kg), mangan (23 mg/kg) a měď (4 mg/kg) (Römer, 1990). Z dietetického hlediska je vhodný obsah vlákniny, téměř naprostá absence cukrů a nízký obsah nasyčených mastných kyselin. Z nenasyčených mastných kyselin je podíl kyseliny olejové 53–56 %, linolové 25 % i více, kyseliny palmitové 8–9 % a 7–8 % kyseliny stearové (Chloupek et al., 1992).

Z uvedených údajů vyplývá, že semena *L. mutabilis* by mohla být využita jako zdroj oleje pro technické zpracování. V budoucnu by mohla být nejen kvalitním krmivem nahrazujícím sóju, ale i vhodnou alternativní potravinou. Předpokladem je však vyšlechtění odrůdy s nízkým obsahem alkaloidů, vyšším výnosem a s raným a vyrovnaným zráním. Ze studia genetických zdrojů vyplývá, že nebyla prokázána genetická závislost mezi obsahem alkaloidů na straně jedné a obsahem oleje a proteinu na straně druhé (Ehrenbergerová et al., 1993), což nás vedlo k pokračování ve studiu této plodiny.

MATERIÁL A METODY

Již v roce 1990 jsme získali výchozí materiál z rozpracovaných šlechtitelských materiálů z INRA Lusignan (Francie – 20 vzorků) a z FAL Braunschweig (SRN – 5 vzorků) sbíraných v Peru. Bylo vybráno 12 kmenů podle výnosu oleje, proteinu a obsahu alkaloidů, které byly použity pro dialelní křížení v roce 1992. Takto bylo získáno pouze 19 hybridů, protože vlivem suchého a teplého počasí (teploty kolem 30 °C) docházelo k silnému opadávání (sprchání) opylených květů. Od F_1 generace bylo šlechtění vedeno rodokmenovou metodou, v této generaci byly vyloučeny pouze nemocné, pozdně a nevyrovnaně dozrávající rostliny. Pro další generaci bylo vybráno podle stejných kritérií jako u rodičovských kmenů 24 rostlin, které byly jako kmeny F_2 generace opět vysety ve školce založené na pozemku ŠS Želešice. Vysévali jsme ve sponu 50 x 50 cm po pozdních jarních mrazech, porosty byly kultivovány, hnojeny a opatřeny drátěným pletivem proti zvěři. Během vegetace byly odstraněny nemocné rostliny, sledována ranost vývoje, napadení chorobami a škůdci, vyrovnanost kvetení a zrání, výška rostlin a velikost kořenového systému pomocí měření elektrické kapacity. Dragendorfovým činidlem jsme orientačně testovali obsah alkaloidů v rostlině. Podle výsledků těchto testů byla plánovaná předselekce rostlin na nižší obsah alkaloidů, ale vzhledem k nízké korelaci mezi výsledky testů a chemickými analýzami bylo od tohoto způsobu selekce upuštěno.

Přehled rodičovských kmenů použitých při křížení:

číslo	označení	země původu	lokalita nebo zdroj
1	23535	Peru	Julcan
2	LM 13	ČR	Praha
3	LM 15	Bolívie	Csiro
4	LM 20	Bolívie	Csiro
5	LM 22	Bolívie	Csiro
6	LM 22	Bolívie	Csiro
7	LM 22	Bolívie	Csiro
8	LM 22	Bolívie	Csiro
9	LM 27	Peru	Lima
10	LM 33	Maroko	
11	LM 230	Ekvádor	
12	LM 231	Ekvádor	

Ve všech letech byla semena sklízena z každé rostliny zvlášť, před vlastními rozbory, při nichž byl stanoven počet lusků a počet a hmotnost semen, byly dozrálé a vyschlé lusky uskladněny při teplotě -15°C po dobu 12 hodin (pro zničení larev zrnokaza). Poté byly připraveny vzorky k chemickým analýzám, které prováděl Ústav chemie a biochemie MZLU v Brně. Alkaloidy byly stanovovány fotometricky, jako standard byl použit spartein (jehož množství však činí z celkových alkaloidů max. 21 %, standard lupaninu, kterého semena obsahují 34–74 %, se nepodařilo zajistit). V F_1 generaci byl stanoven obsah alkaloidů u všech 19 hybridních kombinací. V generaci F_2 byly chemicky analyzovány směsné vzorky semen 24 kmenů a podle výsledků pak byla analyzována semena jednotlivých rostlin sedmi kmenů s nejnižším obsahem alkaloidů. Kromě kmenů hybridního původu byly každoročně pro srovnání vysévány i původní rodičovské kmeny.

Koeficienty heritability h^2 (v širším smyslu) byly vypočteny z analýzy variance. Tyto údaje však byly kalkulovány jen z jedné lokality a v jednom ročníku, takže zahrnují i interakce genotypu s prostředím. Mají tedy jen orientační charakter (Chloupek, 1995). Heteroze byla stanovena k průměru obou rodičů (Falconer, 1989). Selekcčním diferenciálem (Chloupek, 1995) byl vyjádřen rozdíl mezi vybranými kmeny či rostlinami a průměrem populace před výběrem.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Počet semen na rostlině se u rodičovských kmenů v roce 1992 pohyboval od 96,5 (kmen č. 7) do 182,2 (kmen č. 2), průměr činil 117,6 (tab. I), a jak vyplynulo z analýzy variance, byly rozdíly mezi jednotlivými kmeny statisticky významné. Průměrný počet semen na rostlinu v roce 1993 činil 122,8 (tab. I). Hybridy F_1 generace v roce 1993 měly v průměru 156,6 semen na rostlinu (tab. II) a dosáhly tak průměrné heterozy 23,8 % (tab. V). Nejvyšší počet semen poskytl hybrid č. 19 (heterozy 116,2 %), nejvyšší heterozy pak byla u hybridu č. 5 (130,7 %). Vyšších hodnot heterozy dosáhly také hybridy č. 12, 15, 20 a 21.

I. Hodnoty znaků pro rodičovské kmeny – Mean values of traits for parent strains

Znak ¹	Rok ²	$\bar{x}$ ³	s ⁴	min. ⁵	max. ⁶
Počet semen ⁷	1992	117,6	54,2	2,0	316
	1993	122,8	85,8	19,0	496,0
Hmotnost semen ⁸ [g]	1992	20,4	9,3	0,3	55,6
	1993	20,0	13,6	2,1	69,5
HTS ⁹ [g]	1992	175,2	31,2	95,8	319,5
	1993	166,9	36,2	75,4	321,9
	1994	139,1	24,8	106,6	185,3
Olej ¹⁰ [%]	1992	11,9	0,6	11,2	13,1
	1993	11,2	0,9	8,9	13,7
	1994	11,3	1,1	9,4	12,8
Proteiny ¹¹ [%]	1992	48,0	0,6	46,4	49,3
	1993	47,1	1,8	41,6	52,3
	1994	45,6	2,0	42,5	48,6
Alkaloidy ¹² [%]	1992	1,05	0,2	0,85	1,41
	1993	0,71	0,14	0,46	1,16
	1994	0,79	0,23	0,49	1,36

¹value; ²year; ³mean value; ⁴standard deviation; ⁵the lowest value; ⁶the highest value; ⁷number of seeds; ⁸weight of seeds; ⁹1000 grain weight; ¹⁰oil; ¹¹proteins; ¹²alkaloids

Hmotnost semen na rostlině byla v letech 1992 a 1993 u rodičovských kmenů v průměru shodná (20,0 g), u hybridů v roce 1993 26,3 g. V roce 1994 však hybridy měly průměrnou hmotnost semen pouze 9,6 g. Nižší hodnoty počtu i hmotnosti semen byly v tomto roce způsobeny vyšší HTS, napadením porostu zrnokazem aj. Heteroze hmotnosti semen u F_1 generace dosáhla průměrné hodnoty 29,5 %, nejvyšší heteroze byla opět zjištěna u hybridu č. 19 (165,3 %) a 5 (135,3 %), nadprůměrnou heterozí měly také hybridy č. 8, 12, 15 a 20 (tab. V). Oba uvedené výnosotvorné prvky svými hodnotami zapadají do rozmezí, které uvádí R ö m e r (1990) u *L. mutabilis* pěstované v Německu (Gießen).

Průměrný výnos oleje a proteinu na rostlinu činil v F_2 generaci 5,38 g (tab. II).

II. Hodnoty znaků pro hybridy F_1 (1993) a F_2 (1994) – Mean values of traits for F_1 (1993) and F_2 (1994) hybrids

Znak ¹	Rok ²	$\bar{x}$ ³	s ⁴	min. ⁵	max. ⁶
Počet lusků ⁷	1994	50,2	25,1	4,0	134
Počet semen ⁸	1993	156,6	82,4	28,0	388
	1994	72,7	44,9	9,0	246
Hmotnost semen ⁹ [g]	1993	26,3	18,8	3,9	122,6
	1994	9,6	6,4	0,6	32,8
HTS ¹⁰ [g]	1993	170,6	64,5	88,8	368,2
	1994	131,2	25,3	53,9	223,2
Olej ¹¹ [%]	1993	11,9	0,7	10,2	13,4
	1994	11,3	0,8	9,3	13,2
Proteiny ¹² [%]	1993	47,2	1,6	44,6	51,1
	1994	45,7	1,3	43,2	48,8
Alkaloidy ¹³ [%]	1993	0,68	0,16	0,42	1,05
	1994	1,01	0,40	0,44	1,70
Výnos oleje a proteinu [g/rostlinu] ¹⁴	1994	5,38	1,8	2,57	9,13

¹ value; ² year; ³ mean value; ⁴ standard deviation; ⁵ the lowest value; ⁶ the highest value; ⁷ number of pods; ⁸ number of seeds; ⁹ weight of seeds; ¹⁰ 1000 grain weight; ¹¹ oil; ¹² proteins; ¹³ alkaloids; ¹⁴ yield of oil and protein (g/plant)

III. Korelační koeficienty pro rodičovské kmeny 1992-1994 – Values of correlation coefficients for parent strains 1992-1994

	Rok ¹	Počet semen ²	Hmotnost semen ³	HTS ⁴	Olej ⁵	Proteiny ⁶
Alkaloidy ⁷	1992	0,193	0,100	-0,097	-0,168	-0,666*
	1993	-0,089	-0,133	0,002	-0,353	-0,599*
	1994	–	–	-0,360	-0,155	0,117
Proteiny	1992	0,086	0,087	0,022	0,046,	
	1993	0,361	-0,067	-0,629*	-0,393	
	1994	–	–	0,044	-0,539	
Olej	1992	-0,072	0,234	0,480		
	1993	-0,238	0,387	0,788**		
	1994	–	–	0,372		
HTS	1992	0,041	0,608			
	1993	-0,406	0,363			
Hmotnost semen	1992	0,817**				
	1993	0,695*				

$n = 12$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

¹ year; ² number of seeds; ³ weight of seeds; ⁴ 1000 grain weight; ⁵ oil; ⁶ proteins; ⁷ alkaloids

Hmotnost tisíce semen (HTS) rodičovských kmenů (průměr 166,9 g) v roce 1993 byla některými hybridy F_1 generace překonána. Na průměrné heterozí (7,9 %) se nejvíce podílely hybridy č. 1 (41,4 %), 8 (17,0 %), 11 (28,9 %) a 14 (24,8 %). V äth (1994) uvádí u genotypů *L. mutabilis* pěstovaných v Chile HTS mezi 158–170 g, zatímco u *L. albus* až 453 g, Martins et al. (1992) u *L. mutabilis* pěstované v Portugalsku 209–246,8 g. Námi zjištěné hodnoty jsou v rozmezí uváděném těmito autory.

Výška rostlin u rodičovských kmenů v roce křížení (1992) byla v průměru 98,5 cm, u hybridů F_2 generace 78,4 cm. U F_2 generace byly nejnižší hybridy č. 6, 22 a 24 (67 cm), nejmenší variabilitu výšky měl hybrid č. 1 – variační koeficient činil 4,4 % (Grabarová, 1995).

Selekčními kritérii pro výběr rostlin v F_1 generaci byly počet a hmotnost semen, které byly limitující i pro provedení chemických analýz, čemuž odpovídají i selekční diferenciály (S) těchto výnosotvorných prvků (tab. VI). Na průměrném S pro počet semen na rostlině (72,0) se podílel především

IV. Korelační koeficienty pro hybridy F₁ (1993) a F₂ (1994) generace – Values of correlation coefficients for F₁ (1993) and F₂ (1994) hybrids

	Generace ¹	Počet semen ²	Hmotnost semen ³	HTS ⁴	Olej ⁵	Proteiny ⁶	Alkaloidy ⁷	Kořenová kapacita ⁸ 1. měření ⁹
Kořenová kapacita 2. měření	F ₁	0,156	0,177	0,233	-0,330	0,046	-0,113	0,082
	F ₂	-0,162	-0,165	-0,068	-0,104	0,378	0,286	0,837**
Kořenová kapacita 1. měření	F ₁	0,688**	0,696**	0,107	-0,165	-0,290	-0,457	
	F ₂	0,120	0,112	0,021	-0,061	0,113	0,283	
Alkaloidy	F ₁	-0,365	-0,348	0,133	0,278	0,320		
	F ₂	0,147	0,159	0,083	0,152	0,163		
Proteiny	F ₁	-0,359	-0,403	-0,168	-0,001			
	F ₂	-0,307	-0,177	0,543*	-0,110			
Olej	F ₁	-0,404	-0,343	0,19				
	F ₂	0,749**	0,758**	0,018				
HTS	F ₁	-0,006	0,136					
	F ₂	-0,021	0,182					
Hmotnost semen	F ₁	0,989**						
	F ₂	0,978**						

F₁ – n = 19 * P < 0,05F₂ – n = 24 ** P < 0,01¹generation; ²number of seeds; ³weight of seeds; ⁴1000 grain weight; ⁵oil; ⁶proteins; ⁷alkaloids; ⁸capacity of roots; ⁹measurement

V. Heteroze (%) u hybridů F₁ (1993) a F₂ (1994) generace – Heterosis of F₁ (1993) and F₂ (1994) hybrids

Hyb- rid ¹	Původ ²	<i>n</i>	Počet semen ³ 1993	Hmotnost semen ⁴ 1993	HTS ⁵ 1993	Olej ⁶ 1993	Proteiny ⁷ 1993	Olej 1994	Proteiny 1994
1	12 x 2	3	0	0	41,4	–	–	4,9	1
2	11 x 3	2	0	0	5,8	12,4	0	26,3	0
3	4 x 11	9	0	0	2,1	1,7	2,8	6,0	0
4	4 x 11	–	–	–	–	0	0	8,7	0
5	10 x 4	1	130,7	135,3	1,6	0	0,4	0	0
6	6 x 5	1	19,3	0	0	3,6	9,5	0	1,1
7	11 x 12	4	0	0	5,6	6,8	0	5,1	0,8
8	3 x 2	3	11,9	32,6	17,0	11,0	0,8	9,0	0,6
9	4 x 1	7	0	0	0	10,8	5,8	9,8	0,6
10	4 x 1	–	–	–	–	7,5	4,0	11,6	0
11	5 x 12	2	0	0	28,9	12,4	8,1	0	7,8
12	9 x 7	3	47,2	99,3	3,7	11,5	0	3,0	0
13	7 x 6	1	12,9	4,5	0	11,5	1,9	0	4,6
14	5 x 7	2	0	0	24,8	0	4,1	0	2,6
15	9 x 4	11	45,2	53,6	0	0	4,1	5,7	0
16	9 x 4	–	–	–	–	7,3	0	13,2	0
17	9 x 4	–	–	–	–	1,8	0	0	0
18	10 x 3	2	0	0	0	7,8	0	6,9	2,1
19	2 x 10	1	116,2	165,3	11,3	12,1	0	7,5	0
20	11 x 2	3	39,4	42,5	7,2	0	0	0,8	0
21	1 x 11	6	29,1	27,5	0	0	0	0	0,9
22	1 x 11	–	–	–	–	2,9	5,4	0	3,4
23	2 x 6	1	0	0	0	–	–	0	2,5
24	1 x 5	1	0	0	0	19,1	1,9	0	5,7
		$\bar{x}$	23,80	29,51	7,86	6,37	2,22	4,9	1,40

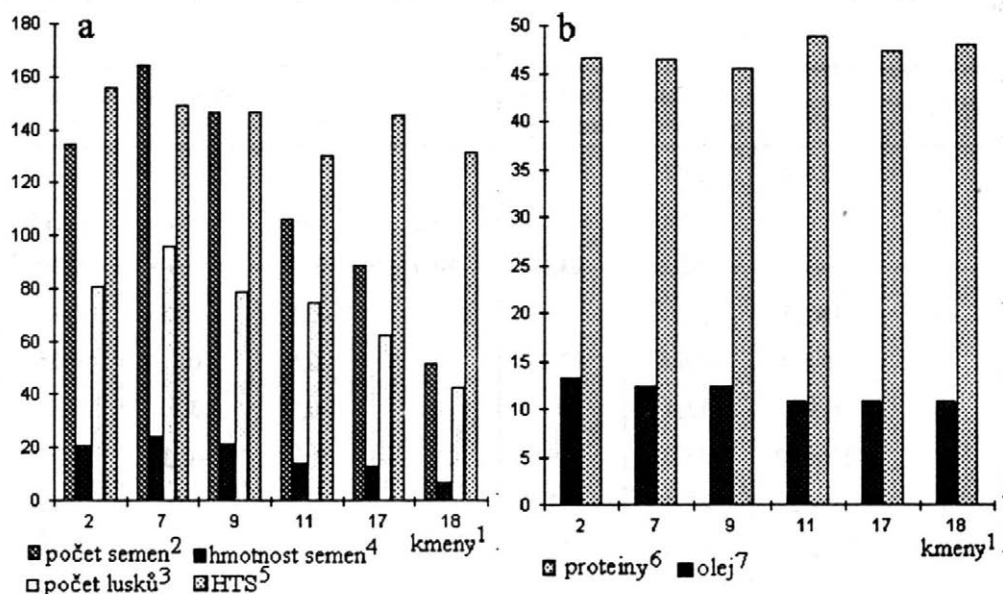
n = number; $\bar{x}$ = average¹hybrid; ²origin; ³number of seeds; ⁴weight of seeds; ⁵1000 grain weight; ⁶oil; ⁷proteins

hybrid č. 19 s nejvyšší hodnotou 234,6 a hybridy č. 3, 11 a 20. Hmotnost semen měla průměrný selekční diferencíál 11,7 g, maximální S byl stejně jako u počtu semen vypočten pro hybrid č. 19 (41,2 g), vysoké S byly u hybridů č. 1, 3, 5, 9, 20 a 21. Vzhledem k tomu, že HTS nebyla selekčním kritériem (S byl v průměru pouze 1,7 g), vyskytly se u některých hybridů záporné hodnoty selekčních rozdílů. Selekční diferencíály nutričně důležitých látek (počítané k průměru všech hybridů) byly nízké, a to nejen z důvodu omezeného množství hybridních rostlin v F_1 generaci, ale také z důvodu nízké variability těchto látek, jak uvádí také R ö m e r (1990). To ztěžuje radikálnější změny jejich koncentrací. U hybridů č. 9 a 11 byly selekční diferencíály pro olej a proteiny shodně vyšší (tab. VI), což umožňuje selekci na obě vlastnosti současně. Ani jeden z těchto dvou hybridů však neměl zápornou hodnotu S pro alkaloidy. Nejvyšší záporné hodnoty selekčních diferencíálů pro alkaloidy se vyskytly u hybridů č. 18 a 20 (-0,23; -0,26), jejichž S pro olej a protein jsou však také záporné. Získané výsledky naznačují, že šlechtění bude možné dvěma směry – na nízký obsah alkaloidů a na vysoký obsah proteinu a oleje.

Přestože selekční diferencíály pro olej, protein a alkaloidy v F_1 generaci byly nízké, byla v F_1 generaci zjištěna heteroze (vyjadřovaná k průměru rodičů příslušných hybridů). Pro olej činila průměrně 6,4 %, pro obsah proteinu 2,2 %. V F_2 generaci pak byly hodnoty heteroze (transgrese) 4,9 a 1,4 % (tab. V). Hybrid č. 6 s nejvyšší koncentrací proteinu v F_1 generaci (50,7 %) v generaci F_2 neměl takovou úroveň, avšak hybrid č. 11 (50,6 % v F_1) měl obsah proteinu nejvyšší jak v F_1 , tak F_2 generaci (48,8 %) (obr. 1b), avšak měl zároveň vysoký obsah alkaloidů (1,14 %). Hybrid č. 18 s nízkým obsahem alkaloidů v F_1 generaci měl v F_2 generaci druhý nejvyšší obsah proteinu a nízký obsah alkaloidů (0,79 %). Průměrná koncentrace alkaloidů byla v F_1 generaci celkově nižší (0,68 %) než v F_2 generaci (1,01 %).

V obsahu oleje vynikl hybrid č. 9 se 13,3 %, přičemž průměr F_1 generace činil 11,9 %, v F_2 generaci byl průměr 11,3 % (tab. II) a hybrid 9 měl 12,3 % oleje. V F_2 generaci měl více oleje než jmenovaný hybrid 9 jen hybrid 2 (13,2 %). Martins et al. (1992) uvádějí u linií *L. mutabilis* v Portugalsku značnou variabilitu v obsahu oleje (11–19,5 %), a to jak mezi roky, tak uvnitř populace jednoho ročníku.

Selekce hybridů v F_2 generaci byla vedena dvěma směry. Na vyšší obsah oleje a proteinu bylo vybráno šest kmenů (obr. 1b). Hodnoty výnosotvor-



¹strain; ²number of seeds; ³number of pods; ⁴weight of seed; ⁵1000 grain weight; ⁶proteins; ⁷oil

1. Hodnoty znaků hybridních kmenů F_2 generace vybraných na vyšší obsah oleje a proteinu – Traits values of hybrids F_2 generation selected for higher content of oil and protein

ných prvků jsou uvedeny na obr. 1a. Seleční diferenciál pro protein byl maximální u kmene 11 (3,15 %), kdežto pro olej -0,44 % (tab. VII). U kmene 9 činil S pro protein -0,17 %, avšak pro olej 1,02 %. Průměrné selekční diferenciály vybraných kmenů (tab. VII) pro olej (0,41 %) a proteiny (1,44 %) jsou při nevýznamném vztahu těchto látek ($r = -0,11$) uspokojivé. Tyto kmeny mají vysoká S pro počet semen (20,8–52,4), hmotnost semen (2,55 až 8,85 g) a počet lusků (12,98–33,48). Pro velikosti kořenového systému a pro HTS mají vybrané kmeny i záporné hodnoty S, protože tyto znaky nebyly selekčními kritérii. U kmenů vybraných na vyšší obsah oleje a proteinu byl S pro obsah alkaloidů nulový, nedošlo tedy k zvýšení obsahu alkaloidů v důsledku selekce na protein a olej. U druhé skupiny sedmi kmenů vybraných na nízký obsah alkaloidů byl S od -0,37 do -0,58 % (tab. VIII). Hodnoty výnosových prvků jsou uvedeny na obr. 2a. Obsah alkaloidů u této skupiny rostlin F_2 generace byl v průměru 0,52 % (obr. 2b), minimum bylo u rostlin č. 21/2 a 23/10 (0,43 %) a maximum pak u rostliny č. 21/8 (0,58 %). Původních 12 rodičovských kmenů použitých pro hybridizaci mělo v roce 1994 (F_2 generace hybridů) 1,01 % alkaloidů. Výsledky naznačují, že bude možné

VI. Selekcční diferenciály (S) pro hybridy F₁ generace – Selection differentials (S) for hybrids F₁ generation

Hybrid ¹	Původ ²	Počet semen ³ [g]	Hmotnost semen ⁴ [g]	HTS ⁵ [g]	Olej ⁶ [%]	Proteiny ⁷ [%]	Alkaloidy ⁸ [%]
1	12 x 2	85,7	18,07	2,5	–	–	–
2	11 x 3	77,0	11,71	–4,2	0,4	–0,8	–0,15
3	4 x 11	132,4	23,3	10,0	0,1	1,6	0,16
4	4 x 11	–	–	–	–0,8	–2,2	0,13
5	10 x 4	116,6	17,2	0	–0,8	0,3	0,15
6	6 x 5	13,4	0	0	–0,3	3,5	0,11
7	11 x 12	28,0	4,9	2,5	0,6	–0,3	0,05
8	3 x 2	63,0	7,9	2,1	–0,2	0,5	0,12
9	4 x 1	61,0	21,5	24,3	1,5	0,7	0,15
10	4 x 1	–	–	–	1,1	–0,1	0,16
11	5 x 12	131,5	2,96	–1,8	0,9	3,4	0,11
12	9 x 7	67,0	11,16	3,4	–0,2	–1,7	–0,19
13	7 x 6	0	0	0	0,3	0,9	–0,09
14	5 x 4	29,5	6,54	10,7	–0,5	0,3	–0,04
15	9 x 4	19,8	2,4	–30,6	–1,5	2,1	0,02
16	9 x 4	–	–	–	0	0,1	0,02
17	9 x 4	–	–	–	–0,6	–0,3	–0,03
18	10 x 3	66,5	10,52	3,7	–0,1	–1,9	–0,23
19	2 x 10	234,6	41,2	0	0,2	–2,1	–0,15
20	11 x 2	133,3	22,92	2,7	–0,7	–0,3	–0,26
21	1 x 11	108,0	19,8	7,5	–0,2	–2,2	–0,09
22	1 x 11	–	–	–	0,5	0,9	–0,2
23	2 x 6	0	0	0	–	–	–
24	1 x 5	0	0	0	0,1	–1,7	0,37
	$\bar{x}$	72,0	11,7	1,7	0,0	0,0	0,0

 $\bar{x}$ = average¹hybrid; ²origin; ³number of seeds; ⁴weight of seeds; ⁵1000 grain weight; ⁶oil; ⁷proteins; ⁸alkaloids

VII. Selekční diferenciály (S) pro hybridy F_2 vybrané na vyšší obsah oleje a proteinu (S byl stanoven oproti průměrné hodnotě 24 hybridů F_2) – Selection differentials (S) for F_2 hybrids selected for higher content oil and protein

Kmen ¹	Počet semen ²	Hmotnost semen ³ [g]	Počet lusků ⁴	HTS ⁵ [g]	Kořenová kapacita ⁶		Alkaloidy ⁸ [%]	Olej ⁹ [%]	Proteiny ¹⁰ [%]
					1. měření ⁷	2. měření			
2	36,1	6,27	15,3	7,17	-0,10	0,04	0,30	1,85	0,97
7	50,0	8,85	24,53	12,93	1,37	-1,05	-0,06	1,02	0,69
9	43,6	7,84	17,90	12,87	-2,65	-2,72	0,39	1,02	-0,17
11	52,4	6,53	33,48	-6,79	1,62	-3,27	0,13	-0,44	3,15
17	26,2	4,89	14,99	16,83	-6,14	-4,91	-0,52	-0,52	1,67
18	20,8	2,55	12,98	-8,83	2,35	3,03	-0,22	-0,49	2,35
$\bar{x}$	38,2	6,16	19,86	5,70	-0,59	-1,48	0,00	0,41	1,44

$\bar{x}$ = average

¹strain; ²number of seeds; ³weight of seeds; ⁴number of pods; ⁵1000 grain weight; ⁶capacity of roots; ⁷measurement; ⁸alkaloids; ⁹oil; ¹⁰proteins

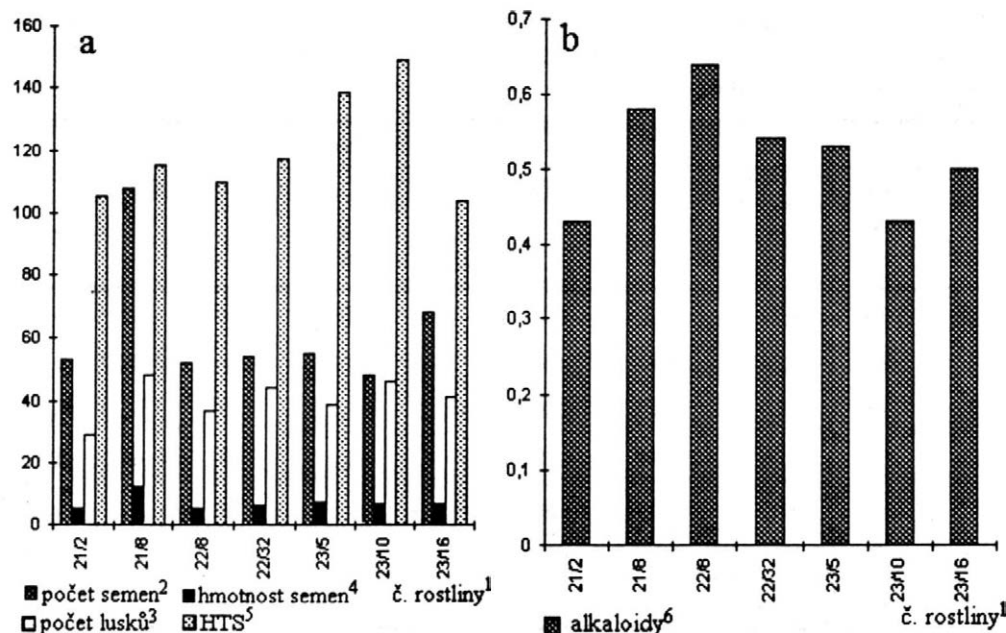
snížit obsah alkaloidů, který je velkou měrou závislý na genetickém původu materiálu (Römer, Jahn-Deesbach, 1992). Obsah alkaloidů v semelech lupiny lze sice technologicky snížit, např. klíčením před zkrmováním, avšak snižuje se tím kvalita proteinu v semelech (Dagnia, 1992).

Odhady koeficientů dědivosti (h^2) byly poměrně vysoké (byly kalkulovány z nízkého počtu jedinců uvnitř původů a jejich variabilita byla velká): 0,807–0,847 pro proteiny, 0,869 pro olej a 0,954 pro alkaloidy u F_1 generace.

VIII. Selekční diferenciál (S) pro hybridy F_2 vybrané na nižší obsah alkaloidů – Selection differentials (S) for F_2 hybrids selected for higher content oil and protein

Kmen ¹	S	Kmen	S
21/2	-0,58	23/5	-0,48
21/8	-0,43	23/10	-0,58
22/8	-0,37	23/16	-0,51
22/32	-0,47	$\bar{x}$	-0,49

¹strain; $\bar{x}$ = average



¹number of plants; ²number of seeds; ³number of pods; ⁴weight of seed; ⁵1000 grain weight; ⁶alkaloids

2. Hodnoty znaků hybridů F_2 generace vybraných na nižší obsah alkaloidů – Traits values of hybrids F_2 generation selected for lower content of alkaloids

I když se jedná o dědivost v širším smyslu (Falconer, 1989; Chloupek, 1995), skýtá výběr na tyto znaky určité předpoklady. Obsahy těchto látek jsou však ovlivňovány i podmínkami prostředí – teplotou, srážkami, délkou vegetační doby atd. Například při dlouhém vegetačním období je větší pravděpodobnost vyšší akumulace oleje, během zrání za suchých a teplých podmínek se syntetizuje větší množství proteinu v semenech (Weissmann, Weissmann, 1992; Martins et al., 1992). Odhady koeficientů dědivosti pro velikost kořenového systému činily 0,68 v F_1 generaci a 0,79–0,88 v F_2 generaci a pro výšku rostlin 0,95 v F_2 generaci.

Z vypočtených vztahů mezi výnosotvornými prvky jak u rodičovských kmenů, tak u hybridů F_1 a F_2 generace byl vypočten významný $r = 0,696^*$ až $0,989^{**}$ pro počet a hmotnost semen na rostlině (tab. III a IV). U rodičovských kmenů v roce 1993 byl nalezen ojedinělý významný r (0,788^{**}) pro obsah oleje a HTS a záporný r (–0,629^{*}) pro proteiny a HTS. V F_1 generaci hybridů stojí za povšimnutí statisticky významný vztah mezi velikostí kořenového systému (1. měření) a počtem i hmotností semen na rostlině, což

však nebylo potvrzeno ani pro druhé měření kořenové kapacity, ani u F_2 generace. V F_2 generaci byl nalezen pozitivní vztah mezi obsahem oleje na jedné straně a počtem semen na rostlině ($r = 0,749^{**}$) a hmotností semen ($r = 0,758^{**}$) na straně druhé. Výnos semen však většinou neměl vliv na obsah proteinu, oleje ani alkaloidů. Korelační koeficienty se pohybovaly od -0,40 do 0,15. Vztah mezi obsahem alkaloidů na jedné straně a obsahem oleje a proteinu na straně druhé nebyl nalezen ani u všech 25 výchozích kmenů (Chloupek, 1992), ani v F_1 a F_2 generaci hybridů. Vztah obsahu alkaloidů a proteinu byl významný pouze u rodičovských kmenů v letech 1992 a 1993 ($r = -0,666^*$ a $-0,599^*$). Lze tedy předpokládat, že při vhodné kombinaci genetické kontroly obsahu oleje a proteinu lze vyšlechtit lupinu s nízkým obsahem alkaloidů a současně vyšším obsahem oleje a proteinů. U obou generací hybridů nebyl prokázán ani vztah mezi obsahem oleje a proteinu. U 25 kmenů (1990–1991) byl r pro olej a protein velmi proměnlivý (0,646* až -0,659*), stejně jako u 12 rodičovských kmenů v letech 1992–1994 (0,046 až -0,539). Römer (1990) a Römer, Jahn-Deesbach (1992) uvádějí kolísání r pro tyto obsahové látky od -0,5 do -0,2 u lupiny andské pěstované v Německu. Weissmann a Weissman (1992) vypočetli korelaci pro olej a protein od -0,89 do -0,76*. Martins et al. (1992) zjistil u *L. mutabilis* pěstované v Portugalsku rovněž negativní korelace mezi proteinem a olejem (-0,33 až -0,18).

Obsah proteinu, oleje a alkaloidů v jednotlivých letech sledování při srovnání ročníků navzájem nesouvisel, jak také uvádí Martins (1992).

Literatura

- DAGNIA, S. G. – PETERSON, D. S. – DELL, R. R. – FLANAGAN, F. V.: Germination alters the chemical composition and protein quality of lupin seeds. *J. Sci. Food Agric.*, 60, 1992: 419–423.
- EHRENBERGEROVÁ, J. – PAVEL, J. – CHLOUPEK, O.: Andská lupina – sója chladnějších oblastí. *Úroda*, 41, 1993: 23–24.
- FALCONER, D. S.: Introduction to quantitative genetics. London, Longman 1989, 438 s.
- GRABAŘOVÁ, S.: Růst a vývoj kříženců andské lupiny. [Diplomová práce.] Brno, MZLU 1995.
- CHLOUPEK, O. – EHRENBERGEROVÁ, J. – PAVEL, J.: Variabilität und Korrelationen bei Merkmalen von Andenlupine (*Lupinus mutabilis* L.). *Vortr. Pfl.-Züchter*, 22, 1992: 167–170.

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

KAHNT, G. – HIJAGI, L. A.: Effect of bitter lupin extract on growth and yield of different crops. J. Agron. Crop Sci., 159, 1987: 320–328.

KAHNT, G. – HIJAGI, L. A.: Use of lupinex to increase crop yield and improve harvest quality with lesser nitrogen fertilization. J. Agron. Crop Sci., 166, 1991: 228–237.

MARTINS, J. M. N. – SILVA, P. M. R. – SOUSA, R. F. X. B.: Evaluation of *Lupinus mutabilis* accessions for protein and oil in Portugal. In: Proc. Workshop held in Cascais. 1991, Brussels, ECSC 1992, 1–10.

RÖMER, P.: Genetische und physiologische Untersuchungen an *Lupinus mutabilis*. [Dissertation.] Gießen 1990, 181 s.

RÖMER, D. – JAHN-DEESBACH, W.: Eight years of experiences in breeding *Lupinus mutabilis* under middle European conditions. In: Proc. Workshop held in Cascais. 1991, Brussels, ECSC 1992: 77–85.

WEISSMANN, E. – WEISSMANN, S.: Variation of various constituents in seeds of *Lupinus mutabilis* under German climatic conditions. In: Proc. Workshop held in Cascais. 1991, Brussels, ECSC 1992: 155–163.

VÄTH, D.: Einfluß von Umwelt und Genotyp auf die Erträge von *Lupinus albus* und *Lupinus mutabilis* im Süden Chiles. [Dissertation.] Hohenheim, 1994, 217 s.

Došlo 10. 1. 1996

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc., Mendelova zemědělská
a lesnická univerzita v Brně, Ústav pěstování a šlechtění rostlin, Zemědělská 1,
613 00 Brno, Česká republika, tel.: 05/451 333 02, fax: 05/452 120 44

VYUŽITÍ ENZYMOVÝCH SYSTÉMŮ ESTERAS A SHIKIMÁT DEHYDROGENASY PRO CHARAKTERIZOVÁNÍ VZDÁLENÝCH HYBRIDŮ TRAV*

Utilization of Esterase and Shikimate Dehydrogenase Isozymes in Characterization of Intergeneric Hybrids of Forage Grasses

Lenka SÁKOVÁ, Vladislav ČURN, Josef GRAMAN

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

Abstract: Biochemical markers (isozymes or proteins without detectable enzymatic activity) have become a useful tool in plant genetics and breeding. In many crops isozymes have been used as markers for identification and confirmation of interspecific and intergeneric hybrids. The objective of this paper was to analyze forage grass varieties (*Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea* and *Festuca pratensis*) used as parental components in hybridization programme and their intergeneric hybrids. Enzymes were extracted using glutathione extraction and separated into discrete by vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis buffer (Čurn et al., 1995). Gels were stained for α - and β -esterases and shikimate dehydrogenase. Digital image analysis of gels and GelManager software were used for construction of dendrograms and evaluation of primary electrophoretic data. Leaf esterases showed patterns that are in correlation with morphological character of hybrids – *Lolium* varieties and hybrids of *Lolium*-like character form one group and *Festuca*-varieties and *Festuca*-like hybrids form the second group. Leaf shikimate dehydrogenase isozymes showed higher marker ability – for all analyzed *Festuca* varieties and all hybrids *Lolium* x *Festuca* we have found a specific band in most anodal zone of enzymatic activity. Using this enzyme system, it should be possible to detect hybrids in very early stages.

isoenzyme marker; PAGE; forage grasses; breeding, intergeneric hybrids

* Zpracováno na základě výsledků výzkumných projektů z let 1991–1995, řešeno za podpory grantů EC-TEMPUS-JEP-2216 (EC Brussel), GA 56/93/0998 (Grantová agentura ČR), 04/93 a 05/94 (JU-ZF).

Abstrakt: Byla prováděna analýza isoenzymů esterasy ze semen a pravých listů a isoenzymů shikimát dehydrogenasy z pravých listů u souboru odrůd jílků a kostřav a jejich hybridů. Isoenzymové markery byly separované pomocí nedenační elektroforézy v polyakrylamidovém gelu. Po detekci enzymatické aktivity na gelu byly gely vyhodnocovány pomocí digitální obrazové analýzy a výsledky jsou prezentovány ve formě dendrogramů, získaných na základě clusterové analýzy (UPGMA) primárních elektroforetických dat. Pomocí isoenzymových markerů EST a SDH je možné detekovat hybridnost materiálů, isoenzymy SDH se u spektra analyzovaných odrůd (rodičovských komponent a hybridů) projevovaly jako marker charakteristický pro kostřavy a všechny hybridy jílek x kostřava.

isoenzymové markery; PAGE; pící trávy; šlechtění; vzdálená hybridizace

Biochemické markery (isoenzymy a proteiny) doplňují morfologické a cytologické znaky sloužící k charakterizaci druhů a odrůd mnoha plodin. Neméně velký význam má polyakrylamidová elektroforéza při analýze homozygotnosti linií s určením stupně jejich variability a při stanovení heterozygotnosti hybridů. Na základě možnosti využití uvedených markerů i ve studiích systematických a evolučních existuje možnost využít metodu analýzy biochemických markerů i pro hybridy získané jako produkty vzdálené hybridizace, například u trav. V České republice publikovali aplikaci metody SDS-PAGE zásobních semenných proteinů Janeček a Doležal (1992) pro identifikaci odrůd jílků, kostřav a jejich hybridů. Kromě této jediné publikace se další zpráva o aplikaci této metody u nás neobjevila, ale ve světě se ve šlechtitelské praxi využívá již několik let. Ferguson a Grabe (1984, 1986) pomocí SDS-PAGE identifikovali odrůdy jílku mnohokvětého a vytrvalého. Podle spekter šesti isoenzymových systémů rozlišili Grenache et al. (1991) odrůdy jílku mnohokvětého. Freeman a Zoder (1988, 1990) použili elektroforézu isoenzymů esterasy jako metodu k oddělení různých druhů psinečku ve směsích. Vedle využití isoenzymové a proteinové analýzy pro identifikaci odrůd Ostergaard et al. (1985) analyzovali genetickou variabilitu populací u jílku mnohokvětého a vytrvalého pomocí isoenzymových systémů.

V tomto příspěvku jsou uvedeny výsledky získané pomocí isoenzymové analýzy semen a zelených listů a jejich možné využití při identifikaci odrůd, respektive hybridů pocházejících z křížení těchto odrůd. Na základě zkušeností a prověření byly vybrány dva isoenzymové systémy EST (esterasy)

a SDH (shikimát dehydrogenasa), kterými bylo možné od sebe rozlišit genotypy jílků a košťav a jejich hybridů s potvrzením festucoidního nebo lolioidního charakteru.

MATERIÁL A METODY

Pro analýzu byly použity dvě odrůdy jílku mnohokvětého Romul (diploidní odrůda – $2n = 14$) a Lolita (tetraploidní odrůda – $2n = 28$), hexaploidní odrůda košťavy rákosovité Kora ($2n = 42$), novošlechtění košťavy luční HŽ-II (tetraploidní – $2n = 28$) a odrůdy mezirodových hybridů jílku mnohokvětého a košťavy rákosovité Bečva (tetraploidní – $2n = 28$, charakter lolioidní), Felina a Hykor (hexaploidní – $2n = 42$, charakter festucoidní) a hybrid jílku mnohokvětého a košťavy luční Perun (tetraploidní – $2n = 28$, charakter lolioidní). Osivo analyzovaných materiálů bylo poskytnuto ze Šlechtitelské stanice Hladké Životice.

Číselné označení analyzovaných materiálů trav rodů *Festuca* a *Lolium* a jejich hybridů:

jílek mnohokvětý:	1 – Romul	<i>Festulolium</i> JM x KR (L):	5 – Bečva
	2 – Lolita	<i>Festulolium</i> JM x KR (L):	6 – Felina
košťava luční:	3 – HŽ-II4	<i>Festulolium</i> JM x KL (F):	7 – Perun
košťava rákosovitá:	4 – Kora	<i>Festulolium</i> JM x KR (F):	8 – Hykor

Kultivace rostlinného materiálu

Analýza biochemických markerů byla prováděna ze semen a prvního pravého listu 14. den po vyklíčení. Rostliny byly pěstovány v řízených světelných a tepelných podmínkách (při 12hodinové fotoperiodě a teplotách 25 °C přes den a 15 °C přes noc) ve sterilním perlitu.

Extrakce enzymů ze semen

50 semen každého vzorku bylo rozdrceno v třecí misce na prášek, který po přenesení do mikrocentrifugační zkumavky byl homogenizován ve 100 µl 2% glutathionového pufru (2 % glutathionu, redukováná forma, titrováno 2M Trizma do pH = 7,6) na ledu. Hrubý homogenát se 3–4 minuty centrifugoval při 10 000 g ve 4 °C a 40 µl supernatantu se přeneslo k 10 µl nanášecího pufru (60% glycerol, 10 mg BPB) do nové mikrocentrifugační zkumavky. Vzorky byly bezprostředně zmrazeny a uchovávány v mrazicím

boxu při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ max. jeden týden (po uplynutí této doby je nebezpečí ztráty enzymové aktivity).

Extrakce enzymů z listů

14 dnů po vyklíčení byl odebrán z každé varianty vzorek 50 listů, které byly homogenizovány v mikrocentrifugační zkumavce a enzymy extrahovány stejným způsobem jako ze semen.

Elektroforetická separace isoenzymů

Isoenzymy byly separovány pomocí elektroforézy (zařízení HOEFER SE 600 a zdroj BIO-RAD POWER/PAC 300) na polyakrylamidovém gelu v diskontinuálním nedenaturačním systému – 7,5% separační gel, $\text{pH} = 8,8$ a 3,75% zaostřovací gel, $\text{pH} = 6,8$, a elektroodový pufr Tris-glycinový o $\text{pH} = 8,3$ pro oba enzymové systémy (EST a SDH). Na gel bylo nanášeno 40 μl extraktu a elektroforéza probíhala přibližně 4–5 hodin při konstantním proudu 25 mA/gel a napětí 110–170 V (Čurn et al., 1995).

Detekce enzymatické aktivity na gelu a fixace

Po ukončení elektroforézy byly gely opláchnuty destilovanou vodou, na 5–10 minut při 4–6 $^{\circ}\text{C}$ umístěny do pufru, který byl používán pro detekci enzymatické aktivity příslušného enzymu, a nakonec byly gely obarveny. Esterasy a shikimát dehydrogenasy byly stanoveny metodami, již dříve použitymi na našem pracovišti u jiných rostlinných druhů (zástupci čeledi brukvovitých, ječmen a hrách).

Esterasy (EST, EC 3.1.1.2) – 100 mg Fast Blue BB se rozpustí v 10 ml roztoku acetonu se substráty (10 ml 50% acetonu, 50 mg α -naftylacetátu a 50 mg β -naftylacetátu), nakonec se přidá 100 ml 0,1M Tris-HCl pufru o $\text{pH} = 7,2$, inkubace ve 37 $^{\circ}\text{C}$ ve tmě, 2x 10–15 minut.

Shikimát dehydrogenasa (SDH, EC 1.1.1.25) – barvicí roztok byl složen z 25 mg shikimové kyseliny, 1 ml NADP (10 mg/ml), 1 ml MTT (20 mg/ml), 1 ml PMS (4 mg/ml), 100 ml 0,1M Tris-HCl pufru o $\text{pH} = 8,5$, inkubace při 28 $^{\circ}\text{C}$ ve tmě 30–60 minut.

Vyhodnocení elektroforeogramů

Isoenzymová spektra byla vyhodnocována digitální obrazovou analýzou elektroforetických dat a jejich clusterovou analýzou metodou UPGMA pomocí programu GelManager v.1.5.

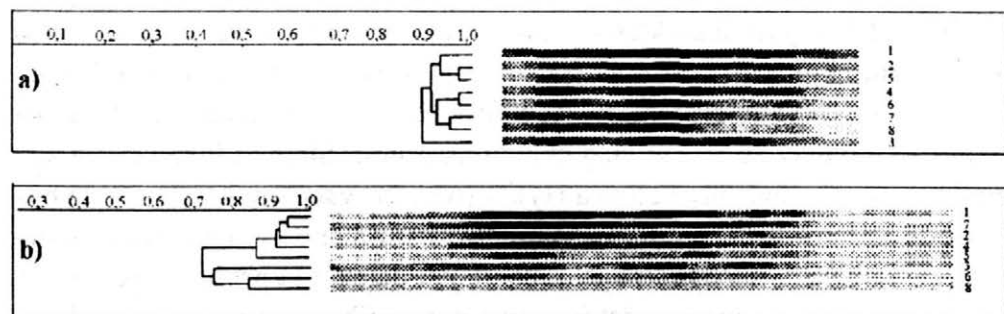
VÝSLEDKY A DISKUSE

Byly hodnoceny dva isoenzymové systémy (EST a SDH), EST v semelech a zelených listech, SDH v zelených listech.

Esterasy

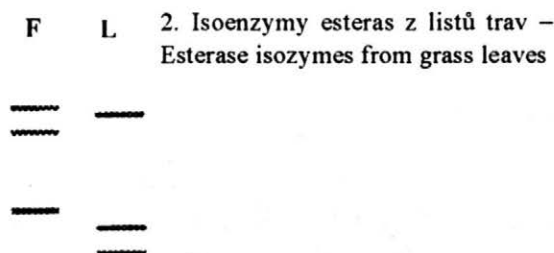
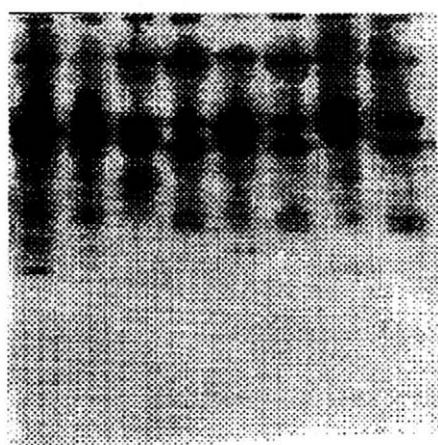
Ve výsledcích je uveden dendrogram souboru jílek, kostřav a mezirodových hybridů (materiál semena – obr. 1b). Je sestaven z Pearsonových koeficientů korelace. Celý soubor se rozdělil podle korelace mezi absorpčními profily na dvě skupiny, které se jeví jako nesourodé, a proto nelze na základě elektroforetické analýzy u semen rozlišit rody, podobně u mezirodových hybridů není možné usuzovat na původní rodičovské komponenty.

Při isoenzymové analýze v listech (obr. 1a) se vytvořily rovněž dvě skupiny s korelačními koeficienty 0,90 uvnitř obou skupin. Dvě odrůdy jílku mnohokvětého a mezirodový hybrid Bečva (lolioidního charakteru) jsou v první skupině, kostřava rákosovitá a hybridy festucoidního charakteru včetně jednoho hybridu lolioidního charakteru (Perun) ve druhé skupině. Klíčem k vysvětlení pro umístění hybridu Perun by mohla být kostřava luční, která byla použita jako jedna z komponent při křížení, na rozdíl od kostřavy rákosovité použité u ostatních hybridů. Kostřava luční se nachází vně obou skupin s korelačním koeficientem nižším než 0,90. Tato zjištění jsou dobře demonstro-



1. Isoenzymy esterasy z pravých listů (a) a ze semen (b) – Esterase isozymes from true leaves (a) and from seeds (b)

vána na gelu (obr. 2): Varianty 1, 2 (jílky), 5, 7 (hybridy lolioidního charakteru) mají jeden velmi silný band v zóně 1 (část gelu blíže ke katodě) a v zóně 3 (část gelu blíže k anodě) slabé bandy. Zbývající varianty 4, 6, 8 (kostřava rákosovitá a dva hybridy festucoidního charakteru) mají zřetelně od sebe oddělené dva bandy v zóně 1. Varianta 3 (kostřava luční) má spektrum obdobné jako kostřava rákosovitá s výraznějšími bandy v zóně 2.



JM-R JM-L KL KR H-B H-F H-P H-H

Shikimát dehydrogenasa

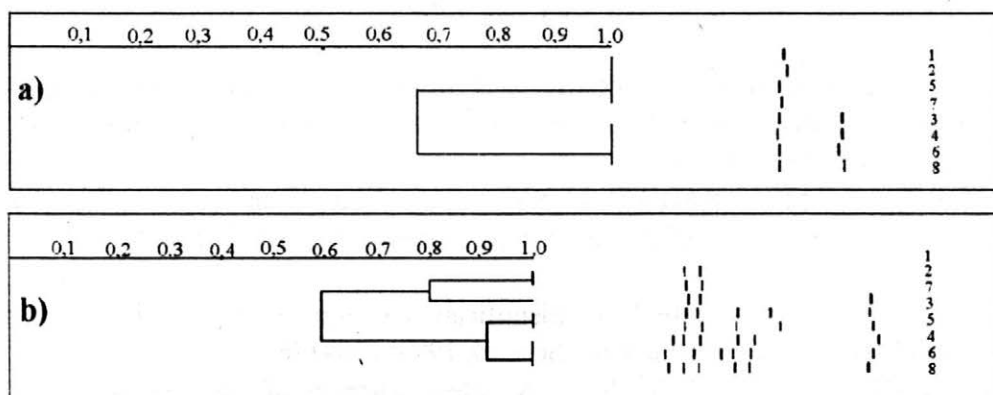
Tento isoenzymový systém byl hodnocen pouze v listech, protože na základě našich zkušeností nebyla ani u jiných rostlinných druhů zaznamenána jeho dostatečná aktivita v semenech. Enzymová aktivita v listech se projevila rozdílně u rodu *Festuca* a *Lolium*, respektive u hybridů. Odrůdy jílku mnohokvětého jsou charakterizovány jedním výrazným bandem se silnou enzymovou aktivitou. Obdobná spektra mají oba hybridy (Bečva a Perun), které jsou lolioidního charakteru. Rod *Festuca* vytváří zřetelně od sebe separované dva bandy se silnou enzymovou aktivitou. Stejnou lokalizaci a sílu bandů mají i oba hybridy Felina a Hykor (obr. 3). Všechny kostřavy a hybridy (lolioidního i festucoidního charakteru) mají méně výrazný proužek enzymové aktivity v anodální zóně, umožňující detekci hybridnosti genotypů. Při počítačovém zpracování dat je genotypová příbuznost nejlépe vyjádřena pomocí dendrogramů z Diceových koeficientů podobnosti, podle kterých se daly opět oddělit rody *Festuca* a *Lolium* a příslušné hybridy.



F **L** 3. Isoenzymy shikimát dehydrogenasy z listů trav – Shikimate dehydrogenase isozymes from grass leaves

JM-R JM-L KL KR H-B H-F H-P H-H

Na obr. 4a je uveden dendrogram získaný na základě analýzy majoritních bandů. V tomto případě dochází ke zřetelnému rozlišení skupiny jílků a hybridů lolioidního charakteru a skupiny kostřav a hybridů festucoidního charakteru. Míra odlišnosti těchto skupin je na úrovni 35 % (koeficient podobnosti je 0,65). V případě zohlednění všech bandů je výsledek zobrazen na obr. 4b – dochází k minimálnímu přeskupení, ale lolioidní hybrid Bečva se objevuje v bloku kostřav a festucoidních hybridů. Příčinu lze spatřovat



4. Isoenzymy shikimát dehydrogenasy z pravých listů, dendrogram na základě hodnocení majoritních proužků (a) a celého spektra isoenzymů (b) – Shikimate dehydrogenase isozymes from true leaves, and a dendrogram constructed on the basis of evaluation of majority bands (a) and whole isoenzyme spectrum (b)

v původu hybridu a isoenzymovém charakteru jeho rodičů. Kostřava rákosovitá má proti kostřavě luční dva velmi výrazné bandy, v hybridním genotypu Bečvy se projevuje jeden silný a jeden slabý band, u Perunu se pak slabší band kostřavy luční neprojevuje.

Uvedená elektroforetická spektra byla charakteristická pro jednotlivé druhy a rody. Podobně jako Janeček a Doležal (1992), kteří zjistili, že je možné pomocí proteinové analýzy spolehlivě potvrdit hybridní charakter a typ hybridů, na základě našeho pokusu je vhodné k analýze použít isoenzymové systémy (např. EST a SDH).

Na základě dvou zmiňovaných enzymových systémů EST a SDH není možné rozlišit jednotlivé genotypy/odrůdy. Rozlišení je možné pouze do úrovně druhu či rodu (skupina jílků, kostřavy rákosovité resp. luční a jejich hybridů). Kromě digitálního zpracování gelů je nezbytné při posuzování hybridnosti materiálů brát v úvahu i primární elektroforeogram (gel) – při tvorbě dendrogramů a stanovování podobnosti spekter je totiž vzhledem k malému počtu proužků zastíráán vliv nevýrazného proužku v anodální zóně, charakteristického pro kostřavy a jejich hybridy.

Pro detailnější charakteristiku jednotlivých genotypů, resp. odrůd a odrůdovou identifikaci bychom doporučili uplatnit více než dva isoenzymové systémy (Nielsen et al., 1985; Greneche et al., 1991) nebo kombinaci proteinové a isoenzymové analýzy.

L i t e r a t u r a

ČURN, V. – SÁKOVÁ, L. – GRAMAN, J.: Elektroforéza isoenzymů a neenzymatických bílkovin – metody a aplikace v genetice a šlechtění rostlin. Genet. a Šlecht., 31, 1995: 207–228.

FERGUSON, J. M. – GRABE, D. F.: Separation of annual and perennial species of ryegrass by gel electrophoresis of seed proteins. J. Seed. Technol., 9, 1984: 137–149.

FERGUSON, J. M. – GRABE, D. F.: Identification of cultivars of perennial ryegrass by SDS-PAGE of seed protein. Crop Sci., 26, 1986: 170–176.

FREEMAN, G. W. – ZODER, Jr., F. A.: Electrophoresis of esterases to identify bentgrass cultivars. J. Seed Technol., 12, 1988: 120–126.

FREEMAN, G. W. – ZODER, Jr., F. A.: Esterase isoenzyme electrophoresis as a method of separating and creeping bentgrass mixtures. J. Seed Technol., 14, 1990: 13–18.

GRENECHE, M. – LALLEMAND, J. – MICHAUD, O.: Comparison of different enzyme loci as a means of distinguishing ryegrass varieties by electrophoresis. Seed Sci. & Technol., 19, 1991: 147–158.

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

NIELSEN, G. – OSTERGAARD, H. – JOHANSEN, H.: Cultivar identification by means of isoenzymes. Z. Pfl.-Züchtg., 94, 1985: 74–86.

OSTERGAARD, H. – NIELSEN, G. – JOHANSEN, H.: Genetic variation in cultivars of diploid ryegrass *Lolium perenne* and *L. multiflorum* at five enzyme systems. Theor. Appl. Genet., 69, 1985: 409–421.

Došlo 13. 11. 1995

Kontaktní adresa:

Dr. Ing. Vladislav Čurn, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta,
Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika,
tel.: 038/770 32 10, 038/770 39 11, fax.: 038/403 01, e-mail: curn@zf.jcu.cz

**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 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).

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Adaptace ve šlechtění rostlin

Ve dnech 31. července až 4. srpna 1995 se v Jyväskylä ve Finsku konal XIV. generální kongres společnosti EUCARPIA na téma Adaptace ve šlechtění rostlin. Tato problematika, rozdělená do deseti tematických okruhů, se týkala zemědělských plodin i lesních dřevin. Vzhledem k obsáhlosti tématu a širokému spektru plodin bylo nutné tuto informaci zaměřit především na významné polní plodiny.

Po uvítacích proslovech prezidenta společnosti EUCARPIA (t. č. prof. P. M. A. Tigerstedta z Finska) a představitelů univerzity v Jyväskylä seznámil finský ministr zemědělství a lesnictví Dr. K. Hemilä přítomné s aktuálními problémy severu. Perspektivu má větší diverzita lesních porostů, tedy smíšené porosty namísto monokultur. V zemědělství půjde o co nejefektivnější využití dostupné půdy a vodních ploch, v čemž mají klíčový význam genetické zdroje, genetika a šlechtění rostlin a zvířat.

První tematický okruh, uvedený referátem prof. R.W. Allarda (Davis, USA), byl nazván **Genetické základy evoluce adaptability u rostlin**. K nejnovějším výsledkům patří prokázání významu selekce na zlepšenou adaptabilitu s využitím biochemických a molekulárních markerů, a to i přes složitost genetického založení této vlastnosti. T. A. Szabó (Szombathely, Maďarsko) ukázal, že v procesu adaptace se pravděpodobně i u rostlin uplatňuje alometrie v růstu spojená s molekulární alometrií, tj. specifická akumulace různých genových substancí v různých orgánech rostliny. V adaptaci populací některých trav (*Poa pratensis* L.) má nesporný význam zjištěná fakultativní apomixie (F. Veronesi, Ancona, Itálie). Z praktických aspektů je významný simulační model predikce adaptace na genovém základě (GeneGro), který demonstroval J. W. White (Griffin, USA).

V druhé sekci věnované **genetické adaptaci k půdním a klimatickým podmínkám** referoval P. de la Vega (León, Španělsko) o genetické podstatě adaptačních procesů u rostlin. Molekulární genetické analýzy na genové a populační úrovni otevřely nové cesty k lepšímu poznání genetické adaptace rostlin. Genetická analýza termální adaptace u kukuřice (projekt IGER Aberystwyth, Velká Británie, a CIMMYT, Mexiko) ukázala významný vliv prostředí na expresi lokusů pro kvantitativní znaky (QTL). V dalších 20 sděleních převládaly genetické a šlechtitelské otázky adaptace ke klimatickým podmínkám, především k nízkým teplotám. E. C. Calleberg (Uppsala, Švédsko) prokázal význam selekce *in vitro* na odolnost k nízkým teplotám v prašnickových kulturách brambor. U jetele *Trifolium subterraneum* L. (E. Piano et al., Lodi, Itálie) byly na základě studia variability mezi populacemi v různém prostředí a uvnitř populací sestaveny výkonné směsi linií.

Třetí sekce byla zaměřena na **genetické a fyziologické mechanismy adaptace rostlin**. V úvodním příspěvku předložil V. A. Dragavcev (St. Petěrburg, Rusko) ekogenetický model organizace kvantitativních znaků. Hlavním zaměřením dalších příspěvků byly genetické mechanismy podmiňující speciální kvalitu a přizpůsobivost určitým (i okrajovým) podmínkám prostředí. V programu CIMMYT, Mexiko (E. Haro) byly vytvořeny blíže izogenní linie pšenice s geny *Vrn* a *Ppd* a prokázán jejich význam ve šlechtitelských programech, v nichž je cílem uniknout streům působeným vysokými teplotami, ranými mrazy a některými chorobami. Byly identifikovány molekulární markery pro tyto geny. Také u rýže je dosažení necitlivosti k fotoperiodě (gen *el*) nezbytné u odrůd pěstovaných v regionu Hokkaido (Y. Okumoto, Kyoto, Japonsko). L. Pinter (Keszthely, Maďarsko) pokusně prokázal význam genu *o-2* u kukuřice, umožňujícího výrazné zkrácení vegetační periody a zvýšení produkce biomasy, což je předpokladem uplatnění této plodiny v podmínkách Skandinávie. Přesvědčivé byly výsledky selekce *in vitro* u vojtěšky na toleranci k zasoleným půdám (A. Safarnejad, Liverpool, Velká Británie). Podařilo se identifikovat významný gen *p49* odpovědný za produkci prolínu v buněčných stěnách. Dva významné geny (*paf93* a *cdr29*) uplatňující se při stresu z nízkých teplot a sucha byly detekovány u ječmene (A. M. Stanca, Fiorenzuola d'Arda, Itálie). Vlastní sdělení (Šíp et al.) pojednávalo o genech zakrslosti a necitlivosti na aplikovaný giberelin u pšenice v podmínkách České republiky.

Čtvrtá sekce se zabývala **koevolucí hostitele a patogena, vzájemnou adaptací**. Úvodní referát na toto téma přednesl B. A. McDonald (Texas, USA). Autor studoval změny v populaci *Septoria* spp. u obilnin a zjistil, že přirozený výběr vlivem hostitele měl na populaci menší vliv než způsob propagace patogena. Většina dalších přednesených referátů a posterových příspěvků z této sekce se zabývala obilninami. U ječmene byla věnována pozornost hnědé skvrnitosti (*Pyrenophora teres*) v příspěvcích, které předložili O. Afanasenko (St. Petěrburg, Rusko), I. Robinson (Jokioinen, Finsko) a D. Ševčenko (St. Petěrburg). V prvním příspěvku byl navržen testovací sortiment na základě analýz virulence vzorků patogena z Evropy i Ameriky a uvedeny výsledky studia genetiky rezistence. Řídí ji nejméně 20 genů a je většinou mono- či digenní. Druhý příspěvek pojednával o diverzitě finských izolátů a rezistenci výkonných ječmenů. Zvýšenou rezistencí k této chorobě ječmene a k dalším chorobám u regenerantů z kultur nezralých embryí se zabýval třetí příspěvek. S. Bulat (St. Petěrburg) pojednal o UP-PCR analýze a analýze virulence osmi populací patogena *Cochliobolus sativus* z ječmene kulturního a planého a z pšenice. Zjistil čtyři charakteristické polymorfismy pro ječmen – jeden pro planý ječmen a dva pro pšenici. A. Dreiseitl (ZVÚ Kroměříž) diskutoval v abstraktu o riziku použití genu *ml-o* pro rezistenci k padlí travnímu u ječmene jarního a ozimého. I. Rašal (Salaspils, Litva) srovnával výsledky analýz virulence v populaci padlí travního v Litvě s virulencí v sousedních zemích ve

vztahu ke genům rezistence v pěstovaných odrůdách ječmene. Z tohoto hlediska obsahovala populace řadu nepotřebných genů virulence.

Zvýšenou odolnost k viru žluté zakrslosti ječmene u čtyř linií dosáhli G. Delogu a kol. (Firenzuola d'Arda, Itálie) křížením s linií ICARDA-CBB 130 s genem rezistence *Yd2*. U pšenice uvedla L. Michajlova (St. Petěrburg) údaje o třech populacích rzi pšeničné v bývalém SSSR. Migrace probíhá spíše mezi populacemi evropskou a kavkazskou než mezi těmito dvěma populacemi a populací asijskou. P. Bartoš shrnul výsledky studia virulence v populacích rzi napadajících pšenici ve vztahu k rezistenci pěstovaných odrůd v ČSR a ČR za posledních 30 let. Při testování stupně napadení 1 093 odrůd pšenice plísni sněžnou byly nejméně postiženy odrůdy z Finska, Švédska a Ruska (V. S. Kornějev, St. Petěrburg). Ze studovaných genů odolnosti ke sněti hladké byly v Maďarsku zcela účinné geny *Bt8*, *Bt9* a *Bt10* (O. B. Veisz a kol., Martovášár, Maďarsko). V. S. Ivaščenko (St. Petersburg) ukázal, že šlechtění na odolnost k hnilobě stonku u kukuřice vedlo k pozdějším hybridům. Rezistence k hmyzu a hádátkům byla předmětem několika příspěvků pracovníků ze St. Peterburgu (A. V. Konarev, E. E. Radčenko, I. S. Ivaščenko a kol.) a jednoho příspěvku z Německa (T. Thieme, Rostock).

Pátá sekce pojednávající o **intergenotypových interakcích ve směsi rostlin** měla kromě úvodního referátu pouze sedm příspěvků. Úvodní referát, který přednesl R. A. Turkington (Vancouver, Kanada), se zabýval interakcemi různých druhů na pastvinách obsahujících trávy a jeteloviny. Jílek anglický měl pozitivní vliv na jetel plazivý. Směsi různých travin a jetelovin se týkaly též další tři příspěvky (A. Elgersma, Wageningen, Holandsko; T. M. McNeilly, Liverpool, Velká Británie; A. V. Konarev, St. Petěrburg, Rusko). J. Hill (Kodaň, Dánsko) pojednal obecně o výběru komponent vhodných pro směsi. Významná je dobrá ekologická kombinační schopnost, zjišťovaná jednak testováním vybrané komponenty vůči sérii testerů reprezentujících druhou komponentu (analogie topcrossu), jednak šlechtěním a testováním obou komponent ve všech kombinacích (analogie dialelního křížení). U řepky prokázal A. M. Engquist (Svalöf, Švédsko) v porovnání s monokulturami vyšší výkonnost syntetických populací založených na třech dihaploidních liniích. Šlechtitelskými důsledky pěstování fazolu v dvojkultuře s kukuřicí v tropech se zabýval M. Zimmermann (Goinania, Brazílie).

Šestá sekce byla věnována **adaptaci k speciálním stresovým podmínkám**. Část referátů, zejména ze Skandinávských zemí a z Ruska, byla zaměřena na extrémní teplotní a světelné poměry dané severní polohou. V úvodním referátu analyzoval O. Savolainen (Oulu, Finsko) adaptaci borovic za polárním kruhem. M. Puolimatka (Jokioinen, Finsko) referoval o využití prašnickových kultur ve šlechtění pšenice pro zlepšení mrazuvzdornosti. C. A. Cilke (Novosibirsk, Rusko) hodnotil křížení pšenice *T. aestivum* x *T. durum* jako metodu pro získání adaptability pro

západní Sibiř. L. M. Turuljova (St. Petěrburg, Rusko) hledala potenciální zdroje odolnosti k mrazu pro brambory v kolekci planých druhů.

Další skupina příspěvků se zabývala problematikou tolerance k stresovým faktorům přítomným v půdě. A. Aniol (Radzików, Polsko) studoval fyziologické aspekty tolerance k Al-iontům u pšenice. Gen řídící mechanismus chránící apikální meristém kořínků před poškozením Al-ionty je lokalizován na dlouhém rameni chromozomu 2D. M. F. B. Quedas (Bologna, Itálie) popsal metodu zjišťování citlivosti kukuřice k Al stresu podle klíčivosti pylu na substrátu s hliníkem. Šlechtěním na zvýšený příjem zinku u pšenice se zabýval H. I. Braun (CIMMYT, Ankara, Turecko), poněvadž deficit zinku snižuje v Turecku výnos zrna. S. K. Yau (Aleppo, Sýrie) zaměřil příspěvek na toleranci k nadbytku boru u ječmene a pšenice. M. Winslow (Cali, Columbia) studoval adaptaci rýže v podmínkách chudých na křemík. Metodice zjišťování tolerance ječmene ke stresům v semiaridních podmínkách byl věnován příspěvek J. Voltase (Lleida, Španělsko). Zajímavý byl příspěvek ze CIMMYTu, Mexiko (H. J. Braun a kol.), pojednávající o šlechtění pšenice na toleranci k suchu. Do roku 1983 probíhalo šlechtění pšenice za optimálních vláhových podmínek, později byly štěpící populace vystaveny jednak suchu, jednak pěstovány při závlaze. Výkonné odrůdy pak byly zkoušeny v různých typech stresu suchem. Nejvyšší výnos dávaly odrůdy vyšlechtěné za optimálních vláhových poměrů a v podmínkách reziduální půdní vláhy. A. M. Stanca (Fiorenzuola d'Arda, Itálie) studoval adaptaci ječmene k suchu a chladu na molekulární úrovni s cílem izolovat proteiny a geny související s adaptací. A. Žofajová (Piešťany, Slovensko) uvedla manipulaci s poměrem source-sink jako možnou techniku pro screening ječmene na toleranci k stresům. Lokalizaci genů pšenice řídících adaptaci ke stresům studoval J. Sutka (Martonvásár, Maďarsko) a zjistil jako nejvýznamnější chromozom 5A.

V rámci sedmé sekce nazvané **Šlechtění na širokou adaptabilitu** podal retrospektivní přehled výsledků úspěšného šlechtění hybridů kukuřice v USA A. F. Troyer (Cargill Hybrid Seeds, Aurora). Přizpůsobování agrotechnických zásahů jednotlivým hybridům kukuřice nebyla ekonomicky efektivní cesta, a tak široká adaptabilita zohledňující odolnost ke stresům a zároveň vysokou výkonnost v příznivých podmínkách prostředí je hlavní šlechtitelskou strategií (P. Pal, Debrecen, Maďarsko). Podobně v rozsáhlém programu CIMMYT, Mexiko (S. Rajaram) je cílem vyšlechtit odrůdy pšenice s širokou adaptabilitou. Nejprve byly vyčleněny relativně velké územní celky (mega-environments – ME) vyznačující se podobnými biotickými a abiotickými stresy, podobnými pěstebními systémy a ekonomickými preferencemi. Prvním krokem je výběr šlechtitelského materiálu v podmínkách blízkých optima a pak následují výběry v různých lokalitách určitého ME se specifickými stresy. Vymezení rozhodujících stresových faktorů v oblasti Ukrajiny a předložení vhodných fyziologických kritérií výběru bylo předmětem příspěvku

A. Šalina (Mironovka). Cestou k zvýšení adaptability u bobu (*Vicia faba* L.) bylo využití hybridů mezi genotypy pocházejícími z odlišných center (střední Evropa a Středomoří – W. Link, Stuttgart, Německo). U brambor je ve šlechtění na adaptabilitu využívána somaklonální variabilita (R. Thieme, Gross Lüsewitz, Německo). N. N. Saulesku (Fundulea, Rumunsko) předložil model (CERES), který počítá s využitím součtu čtverců odchylek od simulovaného výnosu jako míry adaptability. Analýza interakce genotypů s prostředím u ječmene (M. Nurminen, Ås, Norsko) vedla k závěru, že charakteristiky adaptability a výnosové schopnosti jsou geneticky nezávislé, což indikuje možnost separátní manipulace těchto vlastností. U pšenice byla dokumentována možnost spojit vysokou adaptabilitu a výnosnost v programu INRA ve Francii (M. Brancourt – Hulmel, Genlis).

Tématem osmé sekce byla **adaptace k nízkým/vysokým vstupům**. Zásadní referát zde přednesl S. Ceccarelli (ICARDA, Sýrie), který ukázal, že nejlepší cesta k trvalému vzestupu zemědělské produkce v zemědělských systémech s nízkými vstupy vede přes lokální šlechtitelské programy. Povzbudivé jsou výsledky studia genetické variability u pšenice ozimé v podmínkách s nízkými vstupy, a to především při snížené dusíkaté výživě (J. Le Gouis, Estrées-Mons, Francie; P. Pal, Debrecen, Maďarsko). Závěrem je konstatování možnosti úspěšně šlechtit na vyšší efektivitu v příjmu a utilizaci dusíku. Z výnosových složek vykazoval v tomto směru nejvyšší odrůdovou variabilitu počet klasů na jednotku plochy. Potřebná genetická variabilita v příjmu dusíku byla zjištěna také u rýže (H. Hasegawa, Shiga, Japonsko). Výhodnost nových odrůd jetele bílého pro zemědělské systémy s nízkými vstupy ozřejmil I. Rhodes (Aberystwyth, Velká Británie). Šlechtitelské výběry v podmínkách nízkých a vysokých vstupů probíhají u ječmene ozimého v Itálii (A. M. Stanca a kol.). Reakce odrůd jarního ječmene na dusíkatou a fosforečnou výživu a závlahu byla předmětem příspěvku M. Užíka (Piešťany, Slovensko).

Pouze tři příspěvky zahrnovala devátá sekce, v níž V. Koski (Vantaa, Finsko) referoval o **reakci šlechtění na dlouhodobé klimatické změny (oteplování)**. Vzhledem k tomu, že průběh oteplování nelze s jistotou do budoucna předpovědět, nelze v tomto směru přehodnotit šlechtitelské cíle. Jediným rozumným postupem je tvorba divergentního šlechtitelského materiálu. Na základě dlouhodobé predikce průběhu počasí v souvislosti s globálním oteplováním lze u ozimých obilnin ve střední Evropě očekávat příznivější podmínky pro přezimování a naopak rizikovější podmínky v průběhu vegetace (O. B. Veisz, Martonvásár, Maďarsko).

Velmi obsáhlá byla desátá sekce, věnovaná **významu genetických zdrojů ve šlechtění na adaptaci**. Úvodní referát k jednání celé sekce přednesl G. C. Hawtin, generální ředitel IPGRI, Řím. Zdrojem genů podmiňujících adaptaci rostlin mohou být šlechtěné odrůdy, příbuzné plané druhy, popř. i druhy vzdálenější. Všechny tyto zdroje, shromážděné v dobře charakterizovaných a zdokumentovaných kolekcích, jsou šlechtitelům k dispozici pro přenos potřebných genů. V cíle-

ném a efektivním přenosu genů stále více pomáhají molekulární techniky a nové technologie v práci s genofondy (např. „core“ kolekce, elektronické informační systémy atd.). Výrazná diverzita zahrnující řadu adaptivních genových komplexů je často nalézána v marginálních oblastech, např. v místních krajových odrůdách, a šlechtitelé tyto zdroje ne vždy plně využívají. Uchování krajových odrůd farmáři umožňuje pokračování evoluce genetické diverzity. Zabezpečení genetických zdrojů pro další rozvoj zemědělství zajistí pouze součinnost při konzervaci genofondů a aplikaci optimálních šlechtitelských strategií.

Nový pohled na genetické založení doby květu ve vztahu k fotoperiodě a teplotě u hlavních obilnin a luskovin poskytl příspěvek R. J. Summerfielda (Reading, Velká Británie). Doba květu je ovlivňována primárně odezvou na fotoperiodu a teplotu, s výraznými rozdíly mezi genotypy. Modelem využívajícím těchto dvou charakteristik lze hodnotit genotypy mnohem efektivněji než záznamem počtu dnů od výsevu do kvetení. Pro tento účel byl vypracován program, umožňující ohodnocení reakce genotypu na fotoperiodu a teplotu. Deset příspěvků bylo věnováno metodám molekulárních technik a jejich uplatnění ve šlechtění a charakterizaci genotypů. O. Manninen (ARC Jokioinen, Finsko) informoval o postupu projektu mapování genomu ječmene. Pro studium hospodářsky významných znaků byly vybrány dvě odrůdy, adaptované k odlišným podmínkám prostředí. Z 340 zkoušených RAPD primerů jich 50 mohlo rozlišit alespoň jeden rozdílný znak mezi rodiči. Významným zdrojem adaptace jsou nové geny získávané vzdálenou hybridizací. To dokumentovali ve svých příspěvcích S. Grando (ICARDA, Sýrie) u ječmene, T. Gavrilenko (Ústav šlechtění zelenin, Moskva) u rajčat, J. Pilch (IHAR Krakov, Polsko) u pšenice a další.

Za významný adaptační prvek lze považovat rezistenci (toleranci) k abiotickým stresům, chorobám a škůdcům. Na toto téma bylo předneseno 19 referátů. Nové poznatky o zdrojích rezistence k některým půdou přenášeným virovým chorobám obilnin (virové mozaiky ječmene BaMMV a BaYMV) obsahoval příspěvek F. Ordoña a kol. z Univerzity v Giessenu, Německo. Zmíněné virové choroby se stávají významnými chorobami v západní Evropě zejména u ozimého ječmene. Mezi západoevropskými genotypy byl dosud potvrzen pouze jeden recesivní gen rezistence (*ym4*), který však není efektivní ke kmeni BaYMV-2. Zdroje rezistence k tomuto kmeni jsou hledány v exotických genetických zdrojích, zejména původem z východní Asie a z *H. spontaneum* z Turecka a Izraele. Byla zajištěna široká genetická diverzita v rezistenci ke zmíněným virózám a perspektivní materiály jsou dále vyhodnocovány. Výsledky společného šlechtitelského výzkumu zaměřeného na šlechtění pšenice na adaptaci při využití kombinace konvenčních a biotechnologických metod prezentovali maďarští a finští vědci (J. Pauk, M. Puolimatka a kol. z CRI Szeged a Agric. Res. Centre, Jokioinen). Byl vypracován systém selekce ve dvou kontrastních prostředích (Szeged, Jokioinen). Je prováděn výběr v ra-

ných generacích (F_2 – F_5) a materiály jsou testovány na zmíněných stanovištích. Vysoce adaptabilní kombinace jsou využívány pro produkci dihaploidů a ke šlechtění na buněčné úrovni. Produkty (dihaploidní linie) jsou testovány dále ve dvou zmiňovaných prostředích.

Kongres byl zdařile organizován a jeho novým rysem bylo překročení hranic Evropy (poměrně široké zastoupení zámořských států). Uspořádání kongresu ve Finsku napomohlo i k větší účasti východoevropských postkomunistických zemí. Součástí kongresu bylo též plenární zasedání EUCARPIA. Prezidentem na období 1995–1998 byl zvolen prof. G. S. Mugnozza (Itálie), a tak místem konání XV. kongresu v roce 1998 bude Řím. Novým předsedou sekce obilnin se stal prof. P. Ruckebauer (Rakousko). Za člena výboru a reprezentanta České republiky pro období 1995–2001 byl zvolen Ing. L. Dotlačil, CSc., z VÚRV Praha-Ruzyň. Výbor schválil platnost 50% redukce členských příspěvků (20 SwF) pro východoevropské země do roku 1998.

*Ing. Václav Šíp, CSc., Ing. Ladislav Dotlačil, CSc.,
Ing. Pavel Bartoš, DrSc.*

Konference o šlechtění pícnin na kvalitu

Ve dnech 5. až 8. října 1994 se sešlo 19. zasedání EUCARPIE v belgických Bruggách, aby se věnovalo otázkám šlechtění pícnin na kvalitu. V současné době je to téma obzvláště aktuální, neboť role zemědělství a zvláště postavení pícnin se výrazně mění.

Jednání bylo tematicky rozděleno do sedmi sekcí a ve formě přednášky nebo posteru bylo prezentováno 40 příspěvků.

V prvním celku nazvaném **Význam parametrů kvality** hovořil J. Ingram o praktickém významu testů na kvalitu při hodnocení odrůd pícnin, J. de Boever o významu hodnoty stravitelnosti konzervované travní hmoty pro mléčný skot a L. Carlier přednesl svou vizi o pícninářských parametrech kvality pro budoucnost (pícnina by měla obsahovat tolik cukrů jako kukuřice a tolik stravitelných bílkovin jako jetel).

V druhé sekci **Měření parametrů kvality** referovali P. Dardenne o analýze pícnin pomocí NIRS, R. van Loo, D. Reheul a J. W. Cone o genetické variabilitě u jílku vytrvalého s ohledem na různou produkci plynů při bacherové fermentaci, A. de Smet, P. de Brabander a J. de Boever o hodnocení fyzikální struktury čerstvé a konzervované píce. Posterová diskuse byla věnována měření stravitelnosti u jílku a metodě NIRS.

V sekci č. 3 **Nezemědělsky využívané trávy** přednesli U. Feuerstein a N. Roulund příspěvek zabývající se vlivem kornatky travní na kvalitu travníků a Ch. Snijders a G. H. Winkelhorst hovořili o výběrech odolných typů jílku vytrvalého a kostřavy červené vůči této chorobě za podmínek umělé infekce. Poster byly věnovány výběrům na toleranci k zastínění a hodnocení sortimentu travníkových typů ve střední Itálii.

Ve čtvrté sekci **Studium germaplasmy a genetické variability kvalitativních parametrů** proběhla diskuse k šesti prosterům, které se zabývaly jak vojtěškou, tak výskytem endofytních hub u kostřavy rákosovité a jílku vytrvalého.

Ústředním tématem sekce č. 5 byly **pokroky ve šlechtění**. J. Baert hovořil o obsahu sušiny u tetraploidů, U. Posselt o parametrech kvality při šlechtění jílku vytrvalého, P. Marum o zvýšení stravitelnosti a obsahu proteinu jako hlavním kritériu ve šlechtění bojínku lučního a srhy laločnaté v Norsku a A. Grusea o variabilitě dědivosti kvalitativních ukazatelů u srhy laločnaté. Poster zařazené do této sekce byly věnovány otázkám variability a výběru genotypů s cennými agromickými vlastnostmi u jílku vytrvalého a kostřavy rákosovité.

V sekci č. 6 **Laboratorní technika** hovořil M. Humphreys o genetické manipulaci s obsahem cukrů a bílkovin u trav a M. Odoardy o inhibitech proteinasy u *Medicago scutellata*. Jediný poster zařazený do této sekce se zabýval selekcí genotypů kostřavy luční odolných vůči metabolitům hub rodu *Drechslera*.

V rámci jednání sedmé sekce **Šlechtění odrůd a jejich hodnocení** hovořil B. Boller o šlechtění jetele lučního na snížený obsah formononetinu, F. Veronesi referoval o změnách kvalitativních parametrů u vojtěšky při šlechtění na vícesečnost, A. Larsen o obsahu alkaloidů u nových populací lesknice kanárské a D. Johnston o možnostech šlechtění na zvýšený obsah stravitelné sušiny u kosťavy rákosovité. D. Reheul a A. Chesquiere referovali o stavu šlechtění jílku vytrvalého na zvýšenou stravitelnost, na podobné téma přednesl příspěvek L. Beerepoot. P. Wilkins a R. W. Davies seznámili s dosaženým pokrokem ve šlechtění na vysoký obsah sušiny v kombinaci se snížením počtu plodných stébel a zvýšenou stravitelností u jílku vytrvalého a de Vliegheer a L. Carlier hovořili o stravitelnosti jakožto kritériu pro testování odrůd. Postery této sekce se zabývaly výběry na nízký obsah saponinů u vojtěšky, agronomickou hodnotou mezirodových kříženců a krmnou hodnotou vojtěšky bez saponinů.

Velmi zajímavé bylo sdělení A. J. O. van Wijka o návrhu nového systému hodnocení odrůd pícnin trav, jetelovin i trav pro travníkařské účely.

Podnětná diskuse proběhla v rámci jednání pracovních skupin (workshop). Diskutovalo se o prioritách ve šlechtění na kvalitu, o měření parametrů kvality, jaké postavení zaujímá tzv. šlechtitelský výzkum v evropských výzkumných ústavech, co to vlastně je šlechtění na kvalitu, co by mělo být především zařazeno mezi kritéria hodnocení odrůd pícnin a další. Vhodným doplňkem a pokračováním diskuse v praxi byla návštěva jednoho z nejstarších pícninařských pracovišť v Evropě – Rijksstation voor Plantenveredeling v Merelbeke nedaleko Gentu.

Konference potvrdila, že kvalita pícnin je stále prvořadým šlechtitelským kritériem, zároveň však poukázala na její mnohotvárnost a obtíže při získávání rostlinných materiálů splňujících nároky racionální výživy zvířat.

Ing. Bohumír Cagaš, CSc.

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 50 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.

Uživatelům 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

Nové odrůdy – New Varieties

Ječmen jarní Akcent

Povolen: Česká republika 1992
Slovenská republika 1992

Šlechtitelská práva: SELGEN a.s., Praha, Česká republika

Šlechtitel a udržovatel: SELGEN a.s., Šlechtitelská stanice Stupice

Rodokmen: HVS 827 x EP 79

Metoda šlechtění: Rok křížení 1981. Rané zkoušení výkonu. V generaci F_2 individuální výběr rostlin, F_3 potomstva rostlin na parcelách $1,2 \text{ m}^2$. Základem odrůdy se stalo potomstvo 6 595 z rostliny 1431-1.8-2.3, vyznačující se dobrým odnožováním, nepoléhavostí, dobrým zdravotním stavem a vyrovnaností. V generacích F_4 až F_7 výnosové zkoušky na parcelách 10 m^2 v 1-4 opakováních a na 1-10 lokalitách. V generaci F_4 provedena reselekce – individuální výběry rostlin. Počínaje generací F_4 testování odolnosti proti padlí travnímu (*Erysiphe graminis*), rzi ječné (*Puccinia hordei*) a hnědé skvrnitosti (*Pyrenophora teres*) ve fytoškolkách s umělou infekcí, odolnost proti padlí travnímu testována také ve skleníku. Rovněž od F_4 testování sladovnické jakosti. Do prvního roku státních zkoušek zařazen v roce 1989, po tříletém zkoušení povolen pod názvem Akcent.

Odolnost k chorobám: Geny odolnosti *Mla7* + *Ml(La)* zajišťují dobrou odolnost proti padlí travnímu. Vynikající odolnost proti rzi ječné je pravděpodobně založena geny *Pax* + *Pay*. Horší je odolnost proti hnědé skvrnitosti a rynchosporiové skvrnitosti (*Rhynchosporium secalis*).

Sladovnická jakost: Vysoká a vyrovnaná ve všech ukazatelích. Obsah bílkovin v zrna je optimální, extrakt ve sladu o něco nižší než u odrůdy Rubin, relativní extrakt a Kolbachovo číslo vysoké, kladem je i zvýšená diastatická mohutnost. Dosažitelný stupeň prokvašení, friabilita a obsah beta-glukanů mají velmi dobré hodnoty. Odrůda patří do skupiny ječmenů s výběrovou sladovnickou kvalitou.

Výnos zrna: Velmi dobrý, především v řepařské a bramborářské výrobní oblasti. Nehodí se do sušších oblastí.

Ostatní vlastnosti: Polopozdní odrůda s krátkým stéblem, dobře odnožující, odolná proti poléhání. Zrno je středně velké, plné, plucha je jemně vrásčitá, slámově žlutá.

Spring barley Akcent

Registered: Czech Republic 1992
Slovak Republic 1992

Plant Breeders Rights: SELGEN a.s., Prague, Czech Republic

Breeder and maintainer: SELGEN a.s., Plant Breeding Station Stupice

Parentage: HVS 827 x EP 79

Breeding method: Year of crossing 1981. Early yield testing. In F₂ generation individual plant selection, F₃ plant progenies on 1.2 m² plots. Variety originates from plant progeny 6 595 of 1434-1.8-2.3 plant, with lodging resistance, good tillering, disease resistance and good homogeneity. Grain yield was evaluated since F₄ to F₇ in trials with 10 m² plots in 1-4 replications and at 1-10 locations. In F₄ we started reselection to select homogeneous lines. Beginning in F₄ generation there was tested resistance to powdery mildew (*Erysiphe graminis*), brown rust (*Puccinia hordei*), and net blotch (*Pyrenophora teres*) in artificially inoculated nurseries. Resistance to powdery mildew was evaluated also in greenhouse tests. Line ST 145 was tested in the official trials since 1989 to 1991 and then registered as variety Akcent in 1992.

Disease resistance: Good powdery mildew resistance is provided by genes *Mla7* + *Ml(La)*, excellent brown rust resistance results probably from the effect of genes *Pax* + *Pay*. Resistance to net blotch and scald (*Rhynchosporium secalis*) is lower.

Malting quality: Excellent, all traits of quality have good level. Protein content in grain is optimum, hot water extract only somewhat lower than in Rubín variety, other traits (relative extract, Kolbach number, diastatic power, final attenuation, friability and beta-glucans content) are very good, too. Variety belongs to the group of varieties with excellent malting quality.

Grain yield: Very good, especially in the sugar beet and potato growing regions. Locations with less precipitation are not suitable.

Other characteristics: Medium late variety, short stem, good tillering, lodging resistance. Grain is of average size, plump, with fine, yellow husk.

Ing. Ivan Langer, CSc., Ing. Marie Langrová
SELGEN, a.s. Šlechtitelská stanice Stupice, 250 84 Sibřina
tel: 02/677 10 646, 02/677 10 676, fax: 02/677 11 398

Ječmen jarní Amulet

Povolen: Česká republika 1995

Slovenská republika 1995

Šlechtitelská práva: SELGEN a.s., Praha, Česká republika

Šlechtitel a udržovatel: SELGEN a.s., Šlechtitelská stanice Stupice

Rodokmen: HE 2591 x Salome

Metoda šlechtění: Rok křížení 1983. Rané zkoušení výkonu. V generaci F₂ proveden individuální výběr rostlin, potomstva rostlin v generaci F₃ vyseta na parcelách 1,2 m². V generacích F₄–F₈ vysety výnosové zkoušky, velikost parcel 10 m² v 1–4 opakováních na 1 až 10 lokalitách. V generaci F₄ provedena reselekce – individuální výběry rostlin. Počínaje generací F₄ testování odolnosti proti padlí travnímu (*Erysiphe graminis*), rzi ječné (*Puccinia hordei*) a hnědé skvrnitosti (*Pyrenophora teres*) ve fytoškolkách s umělou infekcí. Odolnost proti padlí travnímu testována také ve skleníku, rezistence proti hnědé skvrnitosti testována ještě na listových segmentech v laboratoři. Od F₄ prováděno testování sladovnické jakosti. Do prvního roku státních zkoušek zařazen v roce 1992 pod označením SG-S 160, po třiletém zkoušení povolen pod názvem Amulet.

Odolnost k chorobám: Geny odolnosti *Mla13* + *Ml(La)* zajišťují střední odolnost proti padlí travnímu. Odolnost proti rzi ječné je také střední, odolnost proti hnědé skvrnitosti a proti rynchosporiové skvrnitosti (*Rhynchosporium secalis*) je dobrá, geny rezistence nebyly určeny.

Sladovnická jakost: Odrůda vykazovala v průběhu SOZ optimální hnodnoty obsahu bílkovin v zmu, Kolbachova čísla, diastatické mohutnosti a obsahu beta-glukanů ve sladině. Ostatní znaky kvality (extrakt, relativní extrakt, dosažitelný stupeň prokvašení) mají střední až dobrou úroveň. Odrůda byla zařazena do skupiny ječmenů s výběrovou sladovnickou kvalitou.

Výnos zrna: Dobrý ve všech oblastech, velmi dobře snáší i sušší podmínky. Výnosy předního zrna (nad 2,5 mm) z jednoho hektaru velmi vysoké.

Ostatní vlastnosti: Poloraná odrůda s krátkým stéblem, dobře odnožující, odolná proti poléhání. Zrno je velké, plné, podíl zrna nad 2,5 mm vysoký. Plucha je jemně vrásčitá, slámově žlutá.

Spring barley Amulet

Registered: Czech Republic 1995
Slovak Republic 1995

Plant Breeders Rights: SELGEN a.s., Prague, Czech Republic

Breeder and maintainer: SELGEN a.s., Plant Breeding Station Stupice

Parentage: HE 2591 x Salome

Breeding method: Year of crossing 1983. Early yield testing starts with individual plant selection in F₂ generation. F₃ plant progenies planted on 1.2 m² plots. Grain yield was evaluated since F₄ to F₈ generation in trials with 10 m² plots on 1-4 replications and at 1-10 locations. We started reselection in F₄ to find homogeneous lines. Since F₄ generation there was tested resistance to powdery mildew (*Erysiphe graminis*), brown rust (*Puccinia hordei*), and net blotch (*Pyrenophora teres*) in artificially inoculated nurseries. In addition, the resistance to powdery mildew as well as the resistance to net blotch was evaluated also in greenhouse tests and laboratory tests, respectively. Line labelled SG-S 160 was tested in the official trials since 1992 to 1994 and then registered as variety Amulet in 1995.

Disease resistance: Genes *Mla13* + *Ml(La)* provide medium powdery mildew resistance. Brown rust resistance is medium, too. The resistance to net blotch and scald (*Rhynchosporium secalis*) is good, major genes of resistance were not detected.

Malting quality: Very good level of protein content in grain. Kolbach number, diastatic power, and beta-glucans content is optimum. Other trait value (hot water extract, relative extract, final attenuation, friability) are medium to good. Variety belongs to the group of varieties with excellent malting quality.

Grain yield: Good in all regions, even under conditions with less precipitation. Yield of grain above 2.5 mm is very high.

Other characteristics: Medium early variety with short stem, good tillering, and lodging resistance. Grain is large, very plump, grading on 2.5 mm sieve is excellent, husk is fine, yellow.

Ing. Ivan Langer, CSc., Ing. Marie Langrová
SELGEN, a.s. Šlechtitelská stanice Stupice, 250 84 Sibrina
tel: 02/677 10 646, 02/677 10 676, fax: 02/677 11 398

Pšenice ozimá Siria

Povolena: Česká republika 1994

Dánsko 1995

Šlechtitelská práva: SELGEN a.s., Praha, 1995

Šlechtitel a udržovatel: SELGEN a.s., Šlechtitelská stanice Stupice

Rodokmen: (Arminda x Maris Marksman) x Regina

Metoda šlechtění – rodokmenová: Individuální výběry od F_2 do F_4 , v F_5 dvouřádkové mikroparcely. Výnos zrna byl hodnocen od F_6 do F_{10} na parcelách 10 m^2 postupně ve více opakováních a na více lokalitách (zkoušky staniční, firemní a mezistaniční). Selekcce na odolnost k hlavním chorobám byla prováděna od generace F_1 , většinou pod umělými infekcemi padlím travním a rzemi, od generace F_6 i u *Septoria nodorum* a *Pseudocercospora herpotrichoides*. Podrobnější testy pekařské jakosti, mrazuvzdornosti a odolnosti k prorůstání zrna byly prováděny od generace F_6 . Nové šlechtění ST265 bylo přihlášeno do Státních odrůdových zkoušek v roce 1991 a povoleno pod názvem Siria v roce 1994 (generace F_{13}).

Odolnost k chorobám: Ve srovnání se sortimentem povolených odrůd má nadprůměrnou odolnost k padlí travnímu, rzi plevové, rzi pšeničné, braničnatce plevové a běloklasosti. Není odolná ke rzi travní a k viru BYDV.

Genetické založení odolnosti: Padlí travní – $Pm2 + Pm4b + Pm6$ (VÚRV Praha-Ruzyně). Podle analýz v Dánsku rovněž $Pm4b + Pm6$, ale dále uvádějí $Pm5$.

Rez plevová – $Yr2$ (VÚRV Praha-Ruzyně), odolnost ke rzi pšeničné je řízena dosud nepojmenovaným genem (+). U *Pseudocercospora herpotrichoides* byla zjištěna zvýšená kvantitativní rezistence na úrovni odrůdy Regina (VÚRV Praha-Ruzyně).

Jakost pekařská A6: Obsah lepku Go 24–26 %, odpovídající bobtnavost ($Qo\ 9\text{ cm}^3$), dobrý objem pokusných bochníčků i číslo poklesu (250–350 s). V letech s nepříznivým počasím v době dozrávání může objemová hmotnost být na hranici vyhovující úrovně (780 g.l^{-1}). Gluteninové podjednotky: 7 + 9 a 5 + 10. Odolnost k prorůstání je velmi dobrá.

Mrazuvzdornost: Nižší, hodnocená stupněm 4–5, $LT\ 50 = -9,5\text{ °C}$ (VÚRV Praha-Ruzyně).

Výnos zrna: Nadprůměrný, v průběhu státních zkoušek za roky 1991–1995 překonávala podle oblastí nejvýnosnější odrůdy o 2 až 15 %. Nejvyšší výnosy měla v oblasti bramborářské a horské.

Ostatní vlastnosti: Polopozdní až pozdní odrůda se střední délkou stébla (95 až 100 cm) i střední odolností k poléhání. Klas je bílý, polokyjovitého tvaru, středně hustý, v horní čtvrtině klasu krátce osinkatý.

Winter wheat Siria

Registered: Czech Republic 1994

Denmark 1995

Plant breeders rights: SELGEN a.s., Prague, Czech Republic 1995

Breeder and maintainer: SELGEN a.s., Plant Breeding Station Stupice

Parentage: (Arminda x Maris Marksman) x Regina

Breeding method – pedigree: Individual plant selections from F₂ to F₄, in F₅ bulk harvest of plant progeny microplots. From F₆ to F₁₀ grain yield was evaluated progressively in more replications and at more locations with plot size 10². Screening for disease resistance was practised from F₁ mainly under artificial infections with mildew and rusts, from F₆ also with *Septoria nodorum* and *Pseudocercospora herpotrichoides*. More detailed analyses of baking quality, frost resistance and sprouting resistance were performed from F₆. After three years of official trials line ST265 was registered in F₁₃ as Siria.

Disease resistance: Moderately resistant to mildew, yellow rust, brown rust, *Septoria nodorum* and foot diseases. It is susceptible to stem rust and BYDV.

Resistance genes: Mildew – *Pm2* + *Pm4b* + *Pm6* (VÚRV Praha-Ruzyně). According to analyses in Denmark: *Pm4b* + *Pm5* + *Pm6*.

Yellow rust – *Yr2*, *Pseudocercospora herpotrichoides* – better in quantitative resistance.

Quality: Baking quality A6. Glutenin subunits: 7 + 9 and 5 + 10, wet gluten content 24–26%, falling number mostly between 250–350 s and good sprouting resistance.

Frost resistance: Lower, evaluated with note 4–5, LT 50 = –9,5 °C (VÚRV Praha-Ruzyně)

Grain yield: In average of official variety tests (1991–1995) yields 2–15% above average, depending on the region. The highest yields were recorded in cool high-land locations.

Other characteristics: A late variety with average straw length (95–100 cm) and average lodging resistance. The spike is white, semi-clavate shape, with normal density and with short scurs in the upper part.

Ing. Alena Hanišová, Ing. Miloš Haniš, CSc.

SELGEN, a.s., Šlechtitelská stanice Stupice, 250 84 Sibřina

tel.: 02/677 10 646, 02/677 10 676, fax: 02/677 11 398

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.

Manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. Articles on **floppy disks** are particularly welcome. Please indicate the editor programme used.

Text

Full research manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, a short review of literature (without "Introduction" subtitle), Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures. A title page must contain the title, the complete name(s) of the author(s), the name and address of the institution where the work was done, and the telephone and fax (e-mail) numbers of the corresponding author. The Abstract shall not exceed 120 words. It shall be written in full sentences and should comprise base numerical data including statistical data. As a rule, it should not give an exhaustive review of literature. In the chapter Materials and Methods, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication of trials. Organisms must be identified by scientific name. Abbreviations should be used if necessary. Full description of abbreviation should follow the first use of an abbreviation. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used. Results should be presented with clarity and precision. Discussion should interpret the results. It is possible to combine Results and Discussion in one section. References in the text to citations comprise the author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first one should be named in the text, followed by the phrase "et al.". References should include only publications quoted in the text. They should be listed in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, full title of an article, abbreviation of the periodical, volume number, year, first and last page numbers.

Tables and Figures

Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes. Figures should be referred solely to the material essential for documentation and for the understanding of the text. Duplicated documentation of data in figures and tables is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Figures cannot be redrawn by the publisher. All figures should be numbered. Photographs should exhibit high contrast. Both line drawings and photographs are referred to as figures. Each figure should contain a concise, descriptive legend.

Offprints: Forty offprints of each paper are supplied free of charge to the author.

Authors have full responsibility for the contents of their papers. 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.

OBSAH – CONTENTS

Kučera V., Vyvadilová M., Tomášková D., Havel J.: Tvorba autoin-kompatibilních linií řepky ozimé pomocí dihaploidního systému – Develop-ment of self-incompatible lines of winter rape by means of doubled haploid system.	1
Havel J.: Získávání autoinkompatibilních linií u řepky ozimé – Production of self-incompatible lines in winter rape	9
Salava J., Nováková B., Lydiat D.: Dědičnost počtu chlopní na šesuli u <i>Brassica campestris</i> L. (syn. <i>Brassica rapa</i> L.) – Inheritance of number of pod valves in <i>Brassica campestris</i> L. (syn. <i>Brassica rapa</i> L.)	19
Kubánek J.: Odlišení odrůd hrachu Komet a Celeste pomocí elektroforézy zásobních bílkovin – Differentiation of pea varieties Komet and Celeste by electrophoresis in storage proteins	25
Ehrenbergerová J., Hrstková P., Chloupek O.: Variabilita a selekce lupiny andské (<i>L. mutabilis</i> L.) – Variability and selection of <i>Lupinus mutabilis</i>	31
Sáková L., Čurn V., Graman J.: Využití enzymových systémů esterasy a shikimát dehydrogenasy pro charakterizování vzdálených hybridů trav – Utili-zation of esterase and shikimate dehydrogenase isozymes in characterization of intergeneric hybrids of forage grasses	47
Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA	
Šíp V., Dotlačil L., Bartoš P.: Adaptace ve šlechtění rostlin	57
Cagaš B.: Konference o šlechtění píce na kvalitu	64
Nové odrůdy – New Varieties	
Langer I., Langrová M.: Ječmen jarní Akcent – Spring barley Akcent ..	67
Langer I., Langrová M.: Ječmen jarní Amulet – Spring barley Amulet ..	69
Hanišová A., Haniš M.: Pšenice ozimá Siria – Winter wheat Siria	71

Vědecký časopis GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ ♦ Vydává Česká akademie země-dělských 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 1996

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