

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ

GENETICS AND PLANT BREEDING

2

ROČNÍK 33 (LXX)
PRAHA 1997
CS ISSN 0862-8629

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

Abstracts from the journal is comprised in Agrindex of FAO (AGRIS database), Food Science and Technology Abstracts, Dairy Science Abstracts, Chemical Abstracts, PASCAL – CD-ROM (INIST), WLAS, TOXILINE PLUS and Czech Agricultural Bibliography.

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. Antonín 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

Dr. I. Bos (The Netherlands), prof. Dr. V. A. Dragavcev (Russia),
prof. Dr. Z. Staszewski (Poland), RNDr. D. Šubová (Slovak Republic),
Ing. M. 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 1997 is 204 Kč, 51 USD (Europe) and 53 USD (overseas)

Periodicity: The journal is published four times a year.

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

tel.: 42 2 25 10 98; fax: 42 2 24 25 39 38; e-mail: braun@uzpi.agrec.cz

VLIV FOTOPERIODICKÉ A JAROVIZAČNÍ REAKCE ODRŮD PŠENICE NA JEJICH RANOST*

The Influence of Photoperiodic and Vernalisation Reactions of Wheat Varieties on their Earliness

Jindřich KOŠNER, Kateřina PÁNKOVÁ

Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Czech Republic

Abstract: The experiment was aimed to ascertain the basic characteristics of the growth and the development of wheat (earliness = number of days from emergence to heading under full 8-week vernalisation and photoperiod longer than 14 hours; photoperiodic sensitivity = number of days by which the period from heading under full 8-week vernalisation and 10-hours photoperiod is prolonged in contrast to photoperiod longer than 14 hours; vernalisation requirement = number of weeks of vernalisation sufficient for the full vernalisation – period to heading is not significantly prolonged in contrast to full 8-week vernalisation; characteristic of growth habit = number of weeks of vernalisation after which plants do not get into head) and determine their relations, first to ascertain how photoperiodic sensitivity, vernalisation requirement and growth habit influence the earliness. Seven winter wheat varieties and seven spring wheat varieties were followed. The results have shown that there are considerable differences among observed varieties in all characteristics followed and that earliness is, except for growth habit, conditioned by various combinations of photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement in particular that complement and compensate each other. Certain type of earliness can be obtained by appropriate combination of components with corresponding selected photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement.

wheat; growth habit; photoperiodic sensitivity; vernalisation requirement; earliness

Abstrakt: Experiment byl zaměřen na zjištění základních charakteristik růstu a vývoje pšenice (ranost = počet dní od vzejití do metání při plné osmítýdenní jarovizaci a světelné periodě delší než 14 hodin; fotoperiodická citlivost = počet dní, o které se prodlouží doba do metání při plné osmítýdenní jarovizaci a 10hodin-

* Práce byla uskutečněna za finanční podpory Grantové agentury České republiky v rámci grantu č. 521/96/0114.

nové světelné periodě proti světelné periodě delší než 14 hodin; potřeba jarovizace = počet týdnů jarovizace, jež jsou dostačující k plné jarovizaci – statisticky významně se nezvětšuje doba do metání proti plné osmítýdenní jarovizaci; charakteristika růstového typu = počet týdnů jarovizace, kdy rostliny ještě nemetají) a určení jejich vztahů, především zjištění vlivu fotoperiodické citlivosti, potřeby jarovizace a růstového typu na ranost. Bylo sledováno sedm odrůd pšenice ozimé a sedm odrůd pšenice jarního charakteru. Výsledky prokázaly, že mezi hodnocenými odrůdami jsou značné rozdíly ve všech sledovaných charakteristikách a že ranost je podmíněna kromě růstového typu především různou kombinací fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace, které se vzájemně doplňují a kompenzují. Určitý typ ranosti je možné získat vhodně zvolenou kombinací komponent s určitou fotoperiodickou citlivostí a potřebou jarovizace.

pšenice; růstový typ; fotoperiodická citlivost; potřeba jarovizace; ranost

Ranost (pozdnost) je jednou z důležitých vlastností odrůd pšenice ovlivňující řadu výnosových prvků a je na ni upřena i pozornost šlechtitelů. Znalost genetických mechanismů, řídících nebo ovlivňujících tuto vlastnost a poskytujících možnost jejího efektivního ovlivnění, je proto významná.

Řada prací prokázala, že ranost pšenice je z genetického hlediska určována především citlivostí genotypu k délce světelné periody. Geneticky je fotoperiodická citlivost určována třemi lokusy označenými *Ppd1*, *Ppd2*, *Ppd3*, lokalizovanými na chromozomech 2D, 2B a 2A (Keim et al., 1973; Pirasteh, Welsh, 1975; Law et al., 1978). Pirasteh a Welsh (1975) vyslovili domněnku, že genotypy s dominantní alelou *Ppd1* jsou rané, genotypy s *Ppd2* a současně s *Ppd3* jsou intermediální, genotypy s *Ppd2* nebo s *Ppd3* jsou pozdní a genotypy s recesivní sestavou velmi pozdní.

Na ranost pšenice působí i geny řídící jarovizační reakci a růstový typ; neuspokojení jarovizačních potřeb prodlužuje dobu do metání, případně je příčinou nevymetání. Pugsley (1970, 1972) určil čtyři hlavní lokusy odpovědné za jarovizační reakci, jež byly označeny *Vrn1*, *Vrn2*, *Vrn3* a *Vrn4*. Genotypy s recesivní sestavou alel těchto genů určují ozimý růstový typ a vyžadují dlouhou dobu jarovizace. Jarní růstový typ se projevuje, je-li v genotypu přítomna některá dominantní alela *Vrn*; dominantní alely *Vrn* jsou inhibitory potřeby jarovizace. Epistatická a nejsilněji inhibující je *Vrn1*. Stelmach a Avsenin (1965) uvádějí, že nejvíce ovlivňuje ranost lokus

Vrn1 a nejméně lokus *Vrn2*. Stelmach (1993) sledoval efekt dominantních genů *Vrn* na dobu metání a na agronomické znaky pšenice. Prokázal silné ovlivnění doby metání i sledovaných agronomických znaků včetně hmotnosti zrn na rostlinu. Předpokládá, že vliv genotypů *Vrn* je silnější než vliv pozadí a prostředí. Nejpriznivěji se uplatňovaly genotypy středně rané; dvojitě dominantní genotypy *Vrn1 Vrn2 vrn3* dobře odnožovaly a poskytovaly dobrý potenciál pro nalévání zrna, genotypy *Vrn1 vrn2 vrn3* vykazovaly všechny výnosové komponenty okolo středu a skrze svoji vhodnou ranost se vyznačovaly vynikajícím naléváním zrna, což se projevilo maximální hmotností zrna na rostlinu.

Kromě genů systému *Ppd* a *Vrn* mohou existovat i jiné geny, které ovlivňují ranost (Scarth, Law, 1984). Tento typ ranosti bývá označován jako ranost *per se*.

V letech 1991 až 1994 byla určována fotoperiodická citlivost řady odrůd pšenice domácího i zahraničního původu a byla sledována závislost ranosti na fotoperiodické citlivosti (Košner, Bromová, 1993; Košner, Žůrková, 1995, 1996). Obecně byla ve všech těchto experimentech ranost silně závislá na fotoperiodické citlivosti. Neplatilo to však zcela bez výhrad pro všechny sledované odrůdy stejně; některé byly ranější, jiné pozdnější, než odpovídalo regresi celého souboru. Rovněž byly rozdíly mezi jařinami a ozimy; jařiny, tj. genotypy s některým lokusem *Vrn* dominantním, byly jako celek ranější. Na základě těchto výsledků byl založen tento experiment, jehož cílem bylo určit, jakou měrou se na ranosti kromě fotoperiodické citlivosti podílí růstový typ a jarovizační reakce.

MATERIÁL A METODY

Pro experiment byl na základě výsledků minulých pokusů (Košner, Bromová, 1993; Košner, Žůrková, 1995, 1996) vybrán soubor odrůd tak, aby byly zastoupeny odrůdy s různou citlivostí k fotoperiodě a současně aby byly zastoupeny odrůdy s raností odpovídající regresi na fotoperiodickou citlivost, odrůdy ranější a odrůdy pozdnější než by odpovídalo zjištěné regresi. Polovina odrůd byla ozimého růstového typu a polovina jařního. Vybrané odrůdy, jejich ranost a fotoperiodickou citlivost zjištěnou v minu-

minulých experimentech, vztah ranosti a fotoperiodické citlivosti a rok experimentu jsou uvedeny v tab. I.

Z takto vybraného souboru odrůd byl založen experiment k zjištění základních charakteristik růstu a vývoje a určení jejich vztahů. Základní charakteristiky růstu a vývoje byly pro tento experiment stanoveny takto:

I. Vybrané odrůdy, jejich ranost a fotoperiodická citlivost zjištěná v minulých experimentech, vztah ranosti a fotoperiodické citlivosti a rok experimentu – Select varieties, their earliness and photoperiodic sensitivity detected in previous experiments, the relation of earliness and photoperiodic sensitivity, and the date of experiment

Odrůda ¹	Zjištěná ranost ²	Zjištěná fotoperiodická citlivost ³	Ranost ve vztahu k fotoperiodické citlivosti ⁴	Rok experimentu ⁵
Jařiny⁶				
Sonora 64	raná ⁷	necitlivá ⁸	odpovídající ⁹	kontrola ¹⁰
Barant 83	raná	střední ¹¹	ranější ¹²	1993
UH-7035	střední	střední	odpovídající (ranější)	1994
Dragon	střední	střední	odpovídající (pozdnější ¹³)	1993
Henika	střední	citlivá ¹⁴	ranější	1993
Linda	střední	citlivá	ranější	1992
Maja	pozdní ¹⁵	střední	odpovídající	1992
Ozimy¹⁶				
Košútka	raná	necitlivá	odpovídající	1991
Mironovská 28	raná	necitlivá	odpovídající	1993
Barbara	střední	necitlivá	pozdnější	1994
Vlada	střední	střední	odpovídající	1992
Zdar	střední – pozdnější	střední – citlivá	odpovídající	kontrola
Trane	pozdní	citlivá	odpovídající	1994
Salut	pozdní	střední	pozdnější	1993

¹variety; ²earliness detected; ³photoperiodic sensitivity determined; ⁴earliness in relation to photoperiodic sensitivity; ⁵date of experiment; ⁶spring varieties; ⁷early; ⁸insensitive; ⁹corresponding; ¹⁰control; ¹¹intermediate; ¹²earlier; ¹³later; ¹⁴sensitive; ¹⁵late; ¹⁶winter varieties

Ranost je určována počtem dní od vzejití do metání při plné osmitýdenní jarovizaci a světelné periodě delší než 14 hodin.

Fotoperiodická citlivost je určována počtem dní, o které se prodlouží doba do metání při plné osmitýdenní jarovizaci a 10hodinové světelné periodě proti světelné periodě delší než 14 hodin (ranost).

Potřeba jarovizace je určována počtem týdnů jarovizace, jež jsou dostačující k plné jarovizaci, tzn. že při této době jarovizace se již statisticky významně nezvětšuje doba do metání proti plné osmitýdenní jarovizaci.

Charakteristika růstového typu je určována počtem týdnů jarovizace, při nichž ještě rostliny nemetají.

Všechny použité materiály ozimého i jarního charakteru byly nakličovány v týdenních intervalech a jarovizovány za krátké světelné periody při teplotě +1 až +3 °C tak, aby k datu výsadby 20. dubna byly připraveny varianty s 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 týdny jarovizace. Rostliny všech variant jarovizace byly vysázeny do řádků na nezatemňované parcelky a na zatemňovanou parcelku byly vysázeny rostliny plně (8 týdnů) jarovizované. Všechny rostliny byly vysázeny 20. dubna, kdy světelná perioda (délka dne) v zeměpisných šířkách experimentu (50° severní šířky) přesahovala 14 hodin, což je možné charakterizovat jako dlouhý den a je i předpoklad, že po tomto termínu již nebude příliš velké dojarovizování působením nízkých teplot. Na zatemňované parcelce byl po dobu dvou měsíců 10hodinový režim; světelná perioda byla od 8 do 18 hodin V následném období již parcelka zatemňována nebyla. Hodnocena byla doba od vzcházení do metání. Za datum vzcházení byl považován 20. duben, kdy byly jarovizované rostlinky vysázeny, a za datum vymetání byl považován den, kdy rostlina měla vymetanou polovinu klasu na první odnoži.

Ze získaných dat byly odvozeny základní charakteristiky růstu a vývoje. Výsledky byly zpracovány vícerozměrnými statistickými metodami.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Získaná data jsou v tab. II. Jsou zde uvedeny počty dní od vzcházení do metání všech variant pokusu, rozdíly v počtu dní jednotlivých variant od varianty s plnou (osmitýdenní) jarovizací při dlouhém dni pěstování a hodnoty t-testu určující průkaznost jednotlivých variant od varianty s plnou (osmitýdenní)

II. Počty dní od vzházení do metání všech variant pokusu, rozdíly v počtu dní jednotlivých variant od varianty s plnou (osmitýdenní) jarovizací při dlouhém dni pěstování a hodnoty *t*-testu určující průkaznost rozdílů jednotlivých variant od varianty s plnou (osmitýdenní) jarovizací při dlouhém dni pěstování – Numbers of days from germination to heading of all the variants of the experiment, differences in numbers of days of single variants from the variant with full (8 weeks) vernalisation under long day growing conditions, and values of the *t*-test determining significance of differences of single variants from the variant with full (8 weeks) vernalisation under long day growing conditions

Odrůda ¹		Dlouhý den ²									Krátký den ³ 8 týdnů
		8 týdnů ⁴	7 týdnů	6 týdnů	5 týdnů	4 týdny	3 týdny	2 týdny	1 týden	0 týdnů	
Barant 83	a	44,00	47,53	49,86		52,82	57,50	57,60	58,69	68,93	64,73
	b		3,53	5,86		8,82	13,50	13,60	14,69	24,93	20,73
	c		(1,67)	(3,60)		(7,15)*	(8,07)*	(13,42)*	(9,90)*	(25,62)*	(10,82)*
Sonora 64	a	45,33	44,00	43,40	44,87	46,07	47,87	48,53	48,62	63,38	61,00
	b		(1,33)	(1,93)	(0,47)	0,73	2,53	3,20	3,28	18,05	15,67
	c		1,33	1,99	0,26	(0,79)	(3,48)*	(4,40)*	(3,06)*	(13,86)	(4,52)*
UH-7035	a	57,07	63,00	58,53	59,20	60,36	59,60	61,20	61,67	64,00	81,80
	b		5,93	1,46	2,13	3,29	2,53	4,13	4,60	6,93	24,73
	c		(2,80)*	(0,89)	(1,20)	(1,97)	(1,59)	(2,60)*	(2,52)*	(3,38)	(15,54)*
Henika	a	57,46	55,60	58,13	59,27	60,80	60,00	63,47	60,86	68,27	82,82
	b		(1,86)	0,67	1,81	3,34	2,54	6,01	3,40	10,81	25,36
	c		1,79	(0,77)	(1,68)	(3,81)*	(2,68)*	(6,07)*	(3,02)*	(10,95)*	(23,96)*
Linda	a	58,38	55,87	63,42	54,40*	61,64	57,67	57,53	57,57	60,93	87,50
	b		(2,51)	5,04		3,27		(0,84)	(0,80)	2,56	29,13
	c		1,03	(1,73)		(1,38)		0,43	0,33	(1,19)	(9,49)*
Dragon	a	58,42	55,33	60,82	59,40*	61,14	60,36	62,07	62,53	65,20	82,21
	b		(3,08)	2,40		2,73		3,65	4,12	6,78	23,80
	c		1,92	(1,46)		(1,88)		(2,61)*	(2,78)*	(4,54)*	(17,73)*
Maja	a	58,73	57,07	58,27	58,27	60,07	59,13	59,71	59,33	63,33	82,47
	b		(1,67)	(0,47)	(0,47)	1,34	0,39	0,98	0,60	4,60	23,73
	c		1,09	0,36	0,34	(1,12)	(0,27)	(0,85)	(0,53)	(3,51)*	(21,99)

Košťutka	a	59,67	58,13	59,36	61,60	69,29	72,07				74,40
	b		(1,53)	(0,31)	1,93	9,62	12,40	60,0 %	80,0 %		14,73
	c		0,88	0,18	(1,26)	(5,32)*	(5,75)*				(9,30)*
Barbara	a	65,70	75,33	58,60	95,92						79,33
	b		9,63	(7,10)	30,22	26,7 %					13,63
	c		(4,93)*	4,21*	(9,17)*						(9,67)*
Mironovská 28	a	66,20	68,40	68,73	71,38	91,53					80,62
	b		2,20	2,53	5,17	25,33	73,3 %				14,42
	c		(1,36)	(1,91)	(1,80)	(14,14)*					(9,05)*
Vlada	a	68,46	66,80	70,80	84,67						82,43
	b		(1,66)	2,34	16,21	60,0 %	13,3 %				13,97
	c		1,10	(1,69)	(5,02)*						(11,36)*
Zdar	a	70,13	70,53	76,93	89,23						85,53
	b		0,40	6,80	19,10	26,7 %					15,40
	c		(0,55)	(6,25)	(13,43)*						(24,14)*
Trane	a	73,00	71,71	72,42	76,80	79,80					88,92
	b		(1,29)	(0,58)	3,80	6,80	80,0 %				15,92
	c		1,61	0,68	(3,60)*	(7,49)*					(12,29)*
Salut	a	78,27	82,15	85,92	97,42						93,07
	b		3,89	7,65	19,15						14,80
	c		(3,03)*	(6,79)*	(8,52)*						(23,46)*

a = počet dní od vzejí do metání – number of days from germination to heading
b = rozdíl v počtu dní do metání od plně jarovizovaných – difference in number of days to heading from variants fully vernalised
c = *t*-test k plně jarovizovaným při dlouhém dni pěstování – *t*-test to fully vernalised under long day growing conditions

¹variety; ²long day; ³short day; ⁴weeks

 metá se statisticky významným zpožděním – heading with significant delay
 metá částečně (některé rostliny ještě vymetaly) – heading partly (some plants still headed)
 nemetá (žádné rostliny nevymetaly) – is not heading (no plants headed)

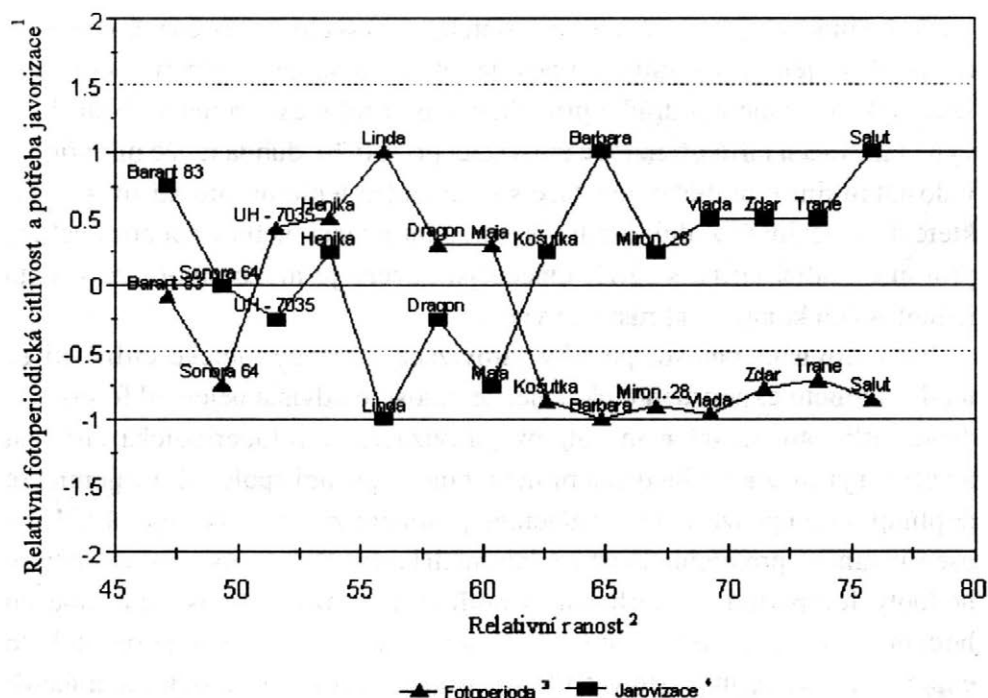
jarovizací při dlouhém dni pěstování. Z těchto dat již lze odvodit údaje pro základní charakteristiky růstu a vývoje, jež jsou uvedeny v tab. III.

Z těchto údajů je zřejmé, že mezi hodnocenými odrůdami tohoto experimentu jsou značné rozdíly ve všech sledovaných charakteristikách. Všechny jařiny experimentu jsou ranější než ozimy. Potřeba jarovizace je celkově u jařin nižší, i když některé na jarovizaci reagují výrazněji než některé ozimy. Rozdíly v ranosti fotoperiodicky stejně citlivých jařin lze vysvětlit jejich

III. Základní charakteristiky růstu a vývoje sledovaného souboru odrůd – Basic characteristics of growth and development in the studied set of varieties

Odrůda ¹	Ranost ² (dny do metání ⁶)	Potřeba jarovizace ³ [týdny ⁷]	Fotoperiodická citlivost ⁴ (prodloužení doby do metání [dny] ⁸)	Charakteristika růstového typu ⁵ (týdny jarovizace potřebné k vmetání ⁹)
Jařiny¹⁰				
Barant 83	44,00	7	20,73	0
Sonora 64	45,33	4	15,67	0
UH-7035	57,07	3	24,73	0
Henika	57,46	5	25,36	0
Linda	58,38	0	29,13	0
Dragon	58,42	3	23,80	0
Mája	58,73	1	23,73	0
Ozimy¹¹				
Košútka	59,67	5	14,73	1
Barbara	65,70	8	13,63	4
Mironovská 28	66,20	5	14,42	3
Vlada	68,46	6	13,97	3
Zdar	70,13	6	15,40	4
Trane	73,00	6	15,92	3
Salut	78,27	8	14,80	5

¹variety; ²earliness; ³vernalisation requirement; ⁴photoperiodic sensitivity; ⁵characteristics of growth habit; ⁶days to heading; ⁷weeks; ⁸extension of interval to heading (days); ⁹weeks of vernalisation required for heading; ¹⁰spring varieties; ¹¹winter varieties



¹relative photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement; ²relative earliness; ³photo-period; ⁴vernalisation

1. Působení fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace na ranost a interakce mezi nimi; na ose x je relativní ranost, na ose y jsou relativní hodnoty fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace, transformované do hodnot v intervalu od -1 do +1 – The effect of photoperiodic sensitivity and of vernalisation requirement on earliness, and the interaction between them; x -axis – relative earliness, y -axis – relative values of photoperiodic sensitivity and of vernalisation requirement, transformed into the values ranging from -1 to +1

rozdílnou potřebou jarovizace v důsledku různých sestav dominantních genotypů *Vrn*. Silný vliv rozdílných dominantních genů *Vrn* a jejich sestav na dobu metání prokázal Stelmach (1993). Rozdíly v nárocích na jarovizaci u ozimů mohou mít příčinu v rozdílnosti recesivních alel genů *Vrn*, tj. v mnohočetném alelomorfismu těchto alel, jak předpokládá Pugsley (1973), nebo v působení genů modifikátorů (*Ivr*, *Dvr*) v genetickém pozadí (Gotoh, 1980, 1983). Fotoperiodická citlivost je naopak u jařin tohoto experimentu vyšší než u ozimů. Všechny jařiny tohoto experimentu vymetaly i při nulové jarovizaci, u ozimů jsou rozdíly v rozmezí 1 až 5 týdnů.

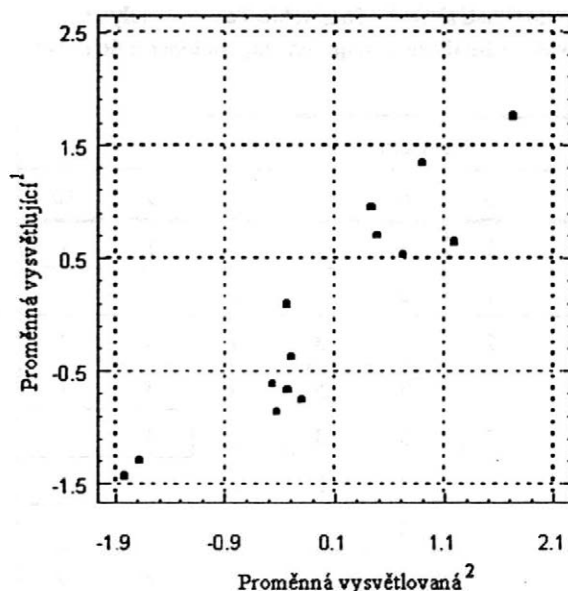
Při hodnocení je nutné mít na zřeteli, že všechny zjištěné údaje jsou relativní, že jejich absolutní platnost je omezena na tento experiment s jeho specifickou skladbou odrůd a průběhem teplot roku experimentu. Například vymetání všech jařin při nulové jarovizaci při seti 20. dubna může mít příčinu v dostatku dní v průběhu vegetace s jarovizační teplotou pro jařiny s *Vrn2*, které k vymetání vyžadují určitou krátkou jarovizaci, nebo v souboru nebyla přítomna žádná jařina s *Vrn2*. Obecnější závěry je možné tvořit ze vztahů jednotlivých komponent růstu a vývoje.

Při porovnání ranosti, potřeby jarovizace a fotoperiodické citlivosti se u odrůd tohoto experimentu ukazuje, že ranost je odvislá nejen od fotoperiodické citlivosti, nýbrž i od potřeby jarovizace, že fotoperiodická citlivost a potřeba jarovizace z hlediska projevu ranosti působí společně, vzájemně se doplňují a kompenzují. Toto vzájemné působení zřetelně ukazuje obr. 1; na ose x je ranost, pro přehlednost v relativních hodnotách, na ose y jsou relativní hodnoty fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace, transformované do hodnot v intervalu od -1 do $+1$. Z grafu je patrné, že u odrůd tohoto experimentu je velmi často větší fotoperiodická citlivost vyrovnávána menší potřebou jarovizace a naopak. U jařin je, kromě odrůdy Barant 83 a Sonora 64, působení fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace opačné než u ozimů.

Ke komplexnímu zhodnocení vlivu fotoperiodické citlivosti, potřeby jarovizace a růstového typu na ranost byla použita kanonická korelace. Koeficient determinace 0,8526 prokazuje, že ranost je z více než 85 % určována těmito charakteristikami. Korelační koeficient je 0,9233. Kompenzace vlivu fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace na ranost je zřetelná z jednotlivých koeficientů pro kanonické korelace těchto dvou proměnných (koeficient fotoperiody = 0,316; koeficient jarovizace = $-0,351$). Jejich hodnoty jsou téměř shodné, ale opačné orientace. Kanonická korelace je graficky znázorněna na obr. 2.

Výsledek naznačuje, že ranost je z převážné většiny důsledkem působení uvedených tří komponent. Z toho vyplývá, že je-li dělán výběr na určitou ranost, může být tato ranost podmíněna, kromě růstového typu, především různou kombinací fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace.

Jak vyplývá z dřívějších prací zaměřených na vztah fotoperiodické citlivosti a ranosti (Košner, Bromová, 1993; Košner, Žůrková, 1995, 1996) je pravděpodobné, že změnu ranosti častěji způsobuje změna



2. Kanonické korelace; vysvětlovanou proměnnou je ranost, vysvětlující proměnné jsou fotoperiodická citlivost, potřeba jarovizace a charakteristika růstového typu – Canonic correlations; dependent variable is earliness, independent variables are photoperiodic sensitivity, vernalisation requirement and characteristics of growth habit

¹ independent variables;

² dependent variable

odické citlivosti, a potřeba jarovizace se jevila jako konstantnější, protože většina odrůd hodnocených v těchto experimentech svojí raností víceméně sledovala fotoperiodickou citlivost, zvláště byly-li regrese dělány odděleně pro ozimy a jařiny. V rozdílech mezi ozimy a jařinami se projevoval vliv dominantních alel genů *Vrn* charakterizujících růstový typ.

Většina odrůd, u kterých se v předchozích pokusech vyskytovaly výraznější odchylky od regrese ranosti na fotoperiodické citlivosti, je zařazena v tomto experimentu, protože výběr odrůd byl dělán tak, aby byly zastoupeny odrůdy s různou citlivostí k fotoperiodě a současně aby byly zastoupeny odrůdy s raností odpovídající regresi na fotoperiodickou citlivost, odrůdy ranější a odrůdy pozdnější, než by odpovídalo zjištěné regresi. Touto větší rozmanitostí je tento soubor specifický a je proto nutné považovat jej za modelový pro účely tohoto experimentu.

K určení, které odrůdy v souboru si jsou podobné z hlediska uvedených charakteristik růstu a vývoje, byla použita shluková (klastrová) analýza. Aby byl zjištěn stupeň a váha podobnosti, byla shluková analýza dělána hierarchicky od rozčlenění odrůd do dvou shluků do rozčlenění do deseti shluků. Výsledky ukazuje tab. IV. Při členění do dvou shluků byly odděleny jařiny a ozimy. Pak následovalo oddělení nejranějších dvou jařin, za ním oddělení

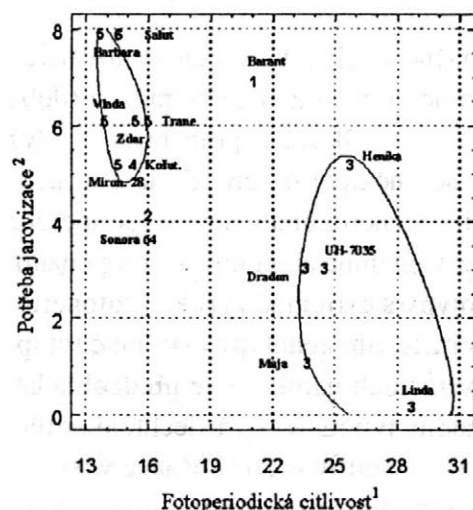
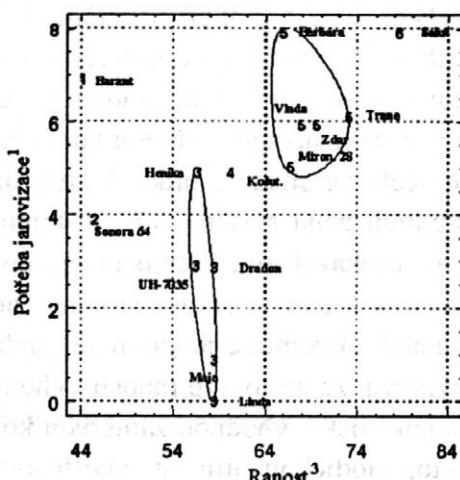
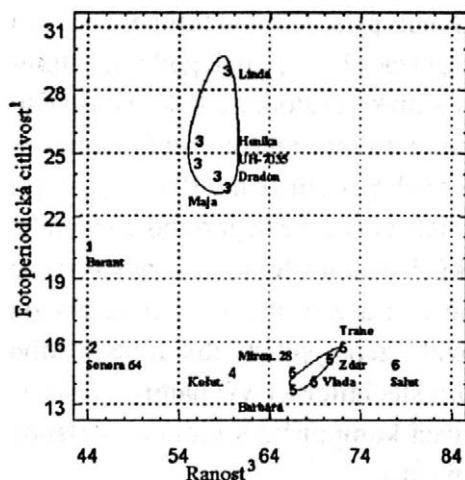
IV. Hierarchická shluková analýza od dvou do deseti shluků – Hierarchical cluster analysis (2–10 clusters) of observed characteristics (earliness, vernalisation requirement, photoperiodic sensitivity and growth habit)

Odrůda ¹	Počet shluků ²									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Barant 83	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Sonora 64	1	1	1	1	2	2	2	2	2	
UH-7035	1	2	2	2	3	3	3	3	3	
Henika	1	2	2	2	3	3	3	3	3	
Linda	1	2	2	2	3	3	3	4	4	
Dragon	1	2	2	2	3	3	3	3	3	
Maja	1	2	2	2	3	3	3	3	5	
Košútka	2	3	3	3	4	4	4	5	6	
Barbara	2	3	4	4	5	5	5	6	7	
Mironovská 28	2	3	4	4	5	6	6	7	8	
Vlada	2	3	4	4	5	6	6	7	8	
Zdar	2	3	4	4	5	6	7	8	9	
Trane	2	3	4	4	5	6	7	8	9	
Salut	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

¹variety, ²number of clusters

nejranější ozimé odrůdy, pak nejpozdnější ozimé odrůdy, až při deseti shlucích zbyl u jařin jeden větší shluk odrůd středně raných (mimo odrůdu Linda) a u ozimů dva shluky odrůd středně raných.

Na obr. 3 je znázorněno rozložení odrůd ve shlucích při dvourozměrném pohledu z hlediska ranosti a fotoperiodické citlivosti, ranosti a potřeby jarovizace a fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace jako příklad při šesti shlucích. I z těchto grafů je patrné komplexní působení fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace na ranost. Porovná-li se rozmístění odrůd na grafech vyjadřujících vztah mezi raností a fotoperiodickou citlivostí s grafy vyjadřujícími vztah mezi raností a potřebou jarovizace (osa y), je zřejmé, že většina odrůd má podle osy y opačné umístění. Zvláště patrné je to u odrůd



¹ photoperiodic sensitivity; ² earliness;
³ vernalisation requirement

3. Rozložení odrůd ve shlucích při dvourozměrném pohledu z hlediska ranosti a fotoperiodické citlivosti, ranosti a potřeby jarovizace a fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace (při šesti shlucích) – Distribution of the varieties in clusters at two dimensional view from the standpoint of earliness and photoperiodic sensitivity, earliness and vernalisation requirement, and photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement (6 clusters)

Linda, Barbara a Salut, tzn. že u odrůdy Linda je při dané ranosti vysoká fotoperiodická citlivost kompenzována nízkou potřebou jarovizace a u odrůd Barbara a Salut naopak. U ostatních odrůd tento jev existuje také, ale ne v tak vyhraněné podobě. Na grafech vyjadřujících vztah mezi fotoperiodickou citlivostí a potřebou jarovizace se to projevuje tendencí odrůd řadit se víceméně po úhlopříčce od odrůd na fotoperiodu necitlivých s velkou potřebou jarovizace (ozimy) k odrůdám na fotoperiodu citlivým s nízkými nároky na jarovizaci (jařiny). Je pravděpodobné, že jde o důsledek výběru na určitý

výhodný typ ranosti při šlechtění odrůd. Genotypy s vysokou fotoperiodickou citlivostí a současně vysokou potřebou jarovizace byly pravděpodobně eliminovány pro extrémní pozdnost a genotypy s nízkou fotoperiodickou citlivostí a současně nízkou potřebou jarovizace pro extrémní ranost. Tento poznatek je zcela ve shodě s prací, kterou publikoval Stelmach (1993), jenž při studiích genů systému *Vrn* v dominantních genotypech jarního růstového typu prokázal silné ovlivnění agronomických znaků včetně hmotnosti zrn na rostlinu sestavou dominantních genotypů *Vrn* a z ní vyplývající rozdílnou raností, přičemž se nejprůzračněji uplatňovaly genotypy středně rané. Z toho vyplývá, že určitý typ ranosti výhodný pro šlechtitelsky významné znaky je možné získat vhodnou záměrnou kombinací komponent s určitou zvolenou fotoperiodickou citlivostí a potřebou jarovizace.

Závěr

Mezi hodnocenými odrůdami jsou značné rozdíly ve všech sledovaných charakteristikách. Všechny jařiny experimentu jsou geneticky ranější (doba do metání) než ozimy; potřeba jarovizace je celkově u jařin nižší, i když některé na jarovizaci reagují výrazněji než některé ozimy. Ranost je podmíněna, kromě růstového typu, především různou kombinací fotoperiodické citlivosti a potřeby jarovizace, které se vzájemně doplňují a kompenzují. V souboru se nevyskytují současně genotypy s extrémně vysokou fotoperiodickou citlivostí a velkou potřebou jarovizace, ani genotypy extrémně fotoperiodicky necitlivé a současně bez jarovizačních nároků. Lze předpokládat, že je to důsledkem výběru na určitý výhodný typ ranosti při šlechtění odrůd, při němž genotypy s vysokou fotoperiodickou citlivostí a současně vysokou potřebou jarovizace byly pravděpodobně eliminovány pro extrémní pozdnost a genotypy s nízkou fotoperiodickou citlivostí a současně nízkou potřebou jarovizace pro extrémní ranost. Určitý typ ranosti výhodný pro šlechtitelsky významné znaky je možné získat vhodnou záměrnou kombinací komponent s určitou zvolenou fotoperiodickou citlivostí a potřebou jarovizace.

L i t e r a t u r a

GOTOH, T. (1980): Gene analysis of the degree of vernalization requirement in winter wheat. *Jpn. J. Breed.*, 30: 1–10.

- GOTOH, T. (1983): Varietation and inheritance mode of vernalization requirement in common wheat. In: Proc. 6th int. Wheat. Genet. Symp., Kyoto, Japan: 475-478.
- KEIM, D. L., WELSH, J. R., McCONNEL, R. L. (1973): Inheritance of photoperiodic heading response in winter and spring cultivars of bread wheat. Can. J. Pl. Sci., 53: 247-250.
- KOŠNER, J., BELATKOVÁ, P. (1993): Testování pšenice obecné na citlivost k fotoperiodě. Genet. a Šlecht., 28: 263-270.
- KOŠNER, J., BROMOVÁ, P. (1993): Určení genů systému *Vrn* u některých odrůd pšenice jarní. Genet. a Šlecht., 29: 99-104.
- KOŠNER, J., ŽŮRKOVÁ, D. (1995): Fotoperiodická citlivost některých novějších odrůd pšenice. Genet. a Šlecht., 31: 241-252.
- KOŠNER, J., ŽŮRKOVÁ, D. (1996): Photoperiodic response and its relation to earliness in wheat. Euphytica, 89: 59-64.
- LAW, C. N., SUTKA, J., WORLAND, A. J. (1978): A genetic study of day-length response in wheat. Heredity, 41: 185-191.
- PIRASTEK, B., WELSH, J. R. (1975): Monosomic analysis of photoperiod response in wheat. Crop Sci., 15: 503-505.
- PUGSLEY, A. T. (1970): Thirty years improvement of Dirk wheat. Ann. Wheat Newsletter, 17: 21.
- PUGSLEY, A. T. (1972): Additional genes inhibiting winter habit in wheat. Euphytica, 21: 547-552.
- PUGSLEY, A. T. (1973): Control of developmental patterns in wheat through breeding. In: Proc. 4th int. Wheat. Genet. Symp., Columbia, Mo: 857-859.
- SCARTH, R. C., LAW, C. N. (1984): The control of day-length response in wheat by the group 2 chromosomes. Z. Pfl. Zücht., 92: 140-150.
- STELMACH, A. F., AVSENIN, V. I. (1985): Katalog sortov jarovoj mjadkoj pšenicy po genotipam sistěmy *Vrn*. Oděsa.
- STELMACH, A. F. (1993): Genetic effect of *Vrn* genes on heading date and agronomic traits in bread wheat. Euphytica, 65: 53-60.

Došlo 21. 11. 1996

Summary

The experiment was aimed to ascertain the basic characteristics of the growth and development of wheat (earliness = number of days from emergence to heading under full 8-week vernalisation and photoperiod longer than 14 hours; photoperiodic sensitivity = number of days by which the period from heading under full 8-week

vernalisation and 10-hour photoperiod is prolonged in contrast to photoperiod longer than 14 hours; vernalisation requirement = number of weeks of vernalisation sufficient for the full vernalisation – period to heading is not significantly prolonged in contrast to full 8-week vernalisation; characteristic of growth habit = number of weeks of vernalisation after which plants do not get into head) and determine their relations, first to ascertain how photoperiodic sensitivity, vernalisation requirement and growth habit influence the earliness. The experiment was based on the results of previous works so that all the varieties with different sensitivity to photoperiod and at the same time with supposed different vernalisation requirement might be represented. Half of varieties were winter and half were spring habit. Selected varieties, their earliness and photoperiodic sensitivity stated in previous experiments, the relation between earliness and photoperiodic sensitivity and year of experiment are shown in Table I. All used materials, both winter and spring character, were germinated in 1-week intervals, and vernalised under short photoperiod at a temperature from +1 to +3 °C so that at the date of planting on April 20th when photoperiod (length of day) at geographic latitude of the experiment (50° north latitude) exceeds 14 hours, variants were prepared referring to 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 weeks of vernalisation. Plants of all the variants of vernalisation were set onto rows on unshaded plots and plants fully (8 weeks) vernalised were planted onto the plot with 10-hour photoperiod. Interval from planting to heading was evaluated. Basic data acquired and their evaluation are shown in Table II and basic characteristics of growth and development, derived from them are in Table III. It follows from the evaluation that all spring varieties in this experiment are earlier than winter varieties, vernalisation requirement is generally lower, although some of them respond to vernalisation more markedly than some winter ones, photoperiodic sensitivity on the contrary is higher in spring varieties than in winter ones, and all spring varieties in this experiment formed ears at zero vernalisation, in winter varieties the differences range from 1 to 5 weeks. Obviously photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement from the standpoint of expression of earliness work together, complement each other and compensate as shown in Fig. 1. Complex assessment how photoperiodic sensitivity, requirement of vernalisation and growth habit influence earliness, is in the majority shown in canonical correlation (Fig. 2). Coefficient of determination 0.8526 displays that earliness is in more than 85% set by these characteristics. Coefficient of correlation is 0.9233. Compensation of the influence of photoperiodic sensitivity and of vernalisation requirement on earliness is evident from single coefficients for canonic correlations of those two variables (coefficient of photoperiod = 0.316; coefficient of vernalisation = -0.351); their values are almost identical but of reverse orientation. Canonic correlation is graphically represented in Fig. 2. It follows from these results that if selection is done in view of certain earliness, this earliness can be conditioned, except for growth habit, by various combinations of photoperiodic sensitivity with vernalisation requirement

in particular. Cluster analysis was used to determine which varieties are similar from the standpoint of mentioned characteristics. To detect extent and importance of similarity, cluster analysis was carried out hierarchically from dividing varieties to two clusters to dividing to ten clusters (Table V). In the case of dividing to two clusters, spring varieties were separated from winter ones. Then separation of two earliest varieties followed, then two latest varieties were separated, etc. until by ten clusters one larger cluster of varieties with middle earliness in spring varieties (except the variety Linda) and two winter varieties with middle earliness remained. In Fig. 3 distribution of varieties in clusters is shown in two-dimensional view from standpoints of earliness and photoperiodic sensitivity, earliness and vernalisation requirement, and of photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement, by six clusters. It resulted from the overall evaluation of the experiment: There are considerable differences between the evaluated varieties in all the characteristics followed. All spring varieties in the experiment are genetically earlier (heading time) than winter ones; vernalisation requirement is generally lower in spring varieties, though some of them react to vernalisation more markedly than winter ones. Earliness is, except the growth habit, conditioned by various combinations of photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement in particular that complement and compensate each other. Neither genotypes with extremely high photoperiodic sensitivity and great vernalisation requirement nor genotypes extremely photoperiodically insensitive without vernalisation requirement occur parallelly in the collection. It is possible to suppose that it is a result of selection concerning a certain advantageous type of earliness during the breeding of varieties, when varieties with high photoperiodic sensitivity and at the same time with great requirement for vernalisation were probably eliminated for extreme lateness and genotypes with low photoperiod sensitivity and at the same time with low vernalisation requirement for extreme earliness. Certain type of earliness, advantageous for important breeding traits can be obtained by appropriate combination of components with certain chosen photoperiodic sensitivity and vernalisation requirement.

Kontaktní adresa:

Ing. Jindřich Košner, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby
161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika
tel.: 00 420 2 328 051, fax: 00 420 2 365 228

RECENZE

The Biology of Grasses

Biologie trav

G. P. Chapman (*Wye College, University of London*), *CB International*, 1996, 273 s.
Cena 69 USD

Čeleď Poaceae představuje nesporně svou rozsáhlostí, různorodostí a způsobem využití, které zasahuje od lidské a zvířecí výživy přes technické využití až po tvorbu a restauraci krajiny, určitou raritu.

Podobně i toto kompendium může být jak netradiční učebnicí, tak poutavou beletrií pro odborníka. Na více než 250 stranách autor rozebírá úlohu trav v současném měnícím se světě, jejich rozšíření, diverzitu, historii využití, kontrastní způsoby životních projevů i způsoby domestikace některých druhů. U jednotlivých podčeledí upozorňuje na výrazné a zvláštní rody a druhy, zabíhá i do historie třídění a znalostí o jednotlivých druzích, všímá si sekundárních metabolitů i odlišných průběhů fotosyntézy.

Kniha je vhodně doplněna netradičními pérovkami i řadou unikátních fotografií. Může být velmi vhodným doplňkem pro specialisty, kteří přicházejí do styku s travami (např. šlechtitele, výzkumníky i architekty krajiny).

Ing. Bohumír Čagaš, CSc.

MOŽNOSTI VÝBĚRU ROSTLIN S GENY ZAKRSLOSTI V RANÝCH
HYBRIDNÍCH GENERACÍCH U PŠENICE OZIMÉ NA ZÁKLADĚ
GIBERELINOVÝCH TESTŮ

Possibility of Early Generation Selection for GA Insensitive Dwarfing
Genes in Winter Wheat

Miroslav ŠKORPÍK, Václav ŠÍP, Ludmila BOBKOVÁ¹, Jana CHRPOVÁ

Research Institute of Plant Production, Prague, Czech Republic,

¹SELGEN a.s., Breeding Station, Úhřetice, Czech Republic

Abstract: In 147 winter wheat crosses from the Breeding Station Úhřetice and their parental varieties the reaction to applied gibberellic acid (GA₃) was evaluated for the detection of GA insensitive dwarfing genes (*Rht1*, *Rht2*). The way of testing was shortly described and the possibility to select *Rht1*, *Rht1* or *Rht2*, *Rht2* genotypes was studied. In the examined set of crosses, 70 crosses showed sensitive reaction to GA and 3 crosses uniformly insensitive reaction (crossing of parents with identical *Rht* genes – Fig. 1). The remaining 74 crosses segregated in generation F₂ for reaction to GA (Fig. 2) and three groups of plants could be determined (Fig. 3): 1) plants insensitive to GA, with *Rht*, *Rht* constitution (GA insensitive response of parental variety), 2) plants typically GA sensitive (*rht*, *rht*) and 3) plants showing weak insensitivity (supposed *Rht*, *rht* constitution). The possibility to determine plants with heterozygous composition is important from practical point of view. The pattern obtained in F₂ generation was decisive for the choice of crosses for further selection of GA insensitive plants in F₃ generation performed at the Breeding Station Úhřetice. It was neither possible nor advantageous to select tall dwarfs (desirable for the conditions of Czech Republic) according to GA response of juvenile plants. The selection for optimum plant height and other important characters was performed in the following hybrid generations. The extent of selection work is given in Table I. The gibberellic programme, lasting for about 10 years, resulted in the new winter wheat variety Šárka (registered from 1997) bred for the presence of *Rht2* gene. This variety had higher resistance to lodging in comparison with the check varieties, connected with advantageous (not very high) shortening of stem (Table II). Another new winter wheat variety from this programme is RU 488 with very high yield performance in 1996 Official

Trials. The results indicate that selection for GA insensitive dwarfing genes present in suitable background genotypes may be effective.

winter wheat; response to applied gibberellic acid; *Rht* genes; selection in early hybrid generations

Abstrakt: U souboru 147 kombinací křížení pšenice ozimé v generaci F₂ pocházejících ze ŠS Úhřetice a u použitých rodičovských odrůd byla hodnocena reakce na aplikovaný giberelin (GA₃) za účelem detekce genů zakrslosti (*Rht1*, *Rht2*). Je popsán způsob testování a ukázány možnosti výběru rostlin s necitlivostí na aplikaci GA₃ v segregujících populacích. U 74 kombinací křížení, v nichž se rodiče v reakci na giberelin lišili, bylo možné vydělit tři skupiny rostlin: I – insenzitivní, S – senzitivní, i – přechodná skupina rostlin s pravděpodobně heterozygotní sestavou alel, se slabou necitlivostí. Na výsledky giberelinových testů v generaci F₂ (VÚRV Praha-Ruzyně) navazovaly u vybraných kombinací křížení giberelinové testy v generaci F₃ na ŠS v Úhřeticích a výběry rostlin necitlivých na giberelin spolu s dalším hodnocením, které je součástí šlechtitelských postupů. Výsledkem záměrného postupu šlechtění na krátkostébelnost, podmíněnou genem *Rht2* je nově povolená odrůda pšenice ozimé Šárka (= RU 23), která ukončila Státní registrační zkoušky v roce 1996. Do druhého roku Státních registračních zkoušek postoupila další nová odrůda pšenice s necitlivostí na giberelin – RU 488 (= Vlasta). Ukazuje se, že při zaměření na vhodné kombinace křížení slibuje uvedený postup výběru získání vysoce produktivních typů.

pšenice ozimá; reakce na aplikovaný giberelin; *Rht* geny; výběry v raných hybridních generacích

Úspěšnost moderní odrůdy pšenice je podmíněna mimo jiné i zkrácením stébla a odolností k poléhání porostů. Mezi geny zakrslosti využitě ve šlechtění pšenice v širokém rozsahu patří geny *Rht1* a *Rht2*, které umožňují zkrácení stébla cca o 18 % a dosažení vysoké produktivity klasu i porostu. Z hlediska produktivity klasu i výnosu zrna lze na základě analýz u hybridních populací považovat za perspektivní delší materiály s těmito geny zakrslosti (tall dwarfs – Gale, Law, 1976) v rozmezí 90–95 cm (Bobková et al., 1988).

Přítomnost genů zakrslosti *Rht1* a *Rht2* je možné detekovat na základě necitlivosti na aplikovaný giberelin (GA₃). Šíp et al. (1988) prokázali, že

výběrem genotypů necitlivých na GA_3 (*Rht2*) v raných hybridních generacích lze zvýšit frekvenci vhodných, vysoce produktivních typů. Předložená studie má za cíl ukázat možnosti výběru rostlin v raných hybridních generacích na přítomnost *Rht* genů po aplikaci GA_3 u klíčících rostlin a posoudit význam tohoto postupu pro šlechtění pšenice ozimé.

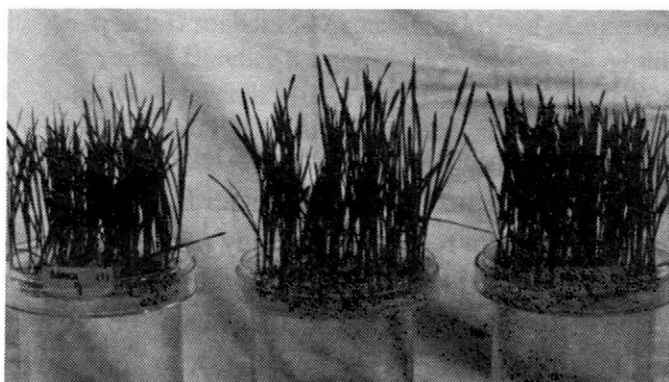
MATERIÁL A METODY

Podle metodiky, kterou popsali Š í p et al. (1986), bylo v letech 1994–1996 hodnoceno 147 kombinací křížení pšenice ozimé v generaci F_2 včetně jejich rodičů giberelinovými testy. Křížence a rodičovské odrůdy poskytla Šlechtitelská stanice Úhřetice, SELGEN a.s. U každé sledované odrůdy nebo kombinace křížení byla reakce na aplikovaný giberelin posuzována u 100 klíčících rostlinek na Petriho misce. Po 10 dnech zálivky roztokem GA_3 o koncentraci 50 ppm byl soubor rodičovských rostlin i kříženců vyhodnocován. Odrůdy necitlivé na giberelin byly při hodnocení označovány jako I (insenzitivní), odrůdy citlivé jako S (senzitivní). Totéž platí pro rostliny u kříženců, kde je navíc užitečné rozlišení rostlin s částečnou necitlivostí (i), tj. rostlin s předpokládanou heterozygotní sestavou alel (*Rht*, *rht*).

Získané údaje byly předávány na ŠS Úhřetice, u nichž byly využity jako podklad pro výběr vhodných hybridních kombinací do tzv. giberelinového programu. Testování v generaci F_3 probíhalo v jarovizačních komorách, kde výsev byl prováděn do mřížek se směsí zeminy a písku. Ošetření giberelinem i hodnocení bylo podobné jako u generace F_2 . Vybrané insenzitivní rostliny byly vysazovány na záhony se závlahou v infekční školce. U sklizených rostlin s odpovídající délkou stébla, produktivním klasem a dostatečnou odolností proti padlí travnímu a rzím byla dále hodnocena hmotnost zrna na klas a rostlinu a HTZ. Vybraná potomstva rostlin byla v následujícím roce vyseta v kmenové školce na plochu 0,5 m² a výběrová kritéria rozšířena o první hodnocení jakosti (mikrosedimentační test) a výnosu zrna z plochy. Současně byla provedena kontrola necitlivosti na GA_3 . V následujících generacích se sledovaly další vlastnosti (mrazuvzdornost, odolnost poléhání, porůstání, odolnost chorobám, jakost) a probíhaly výnosové zkoušky na větších parcelách, s více opakováními, případně na dalších lokalitách.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Z celkového počtu 147 kříženců mělo 70 senzitivní reakci (S) po křížení senzitivních rodičů. Naproti tomu ve třech případech se jednalo o uniformně insenzitivní reakci (oba rodiče s reakcí I) (obr. 1). Uniformita v insenzitivní



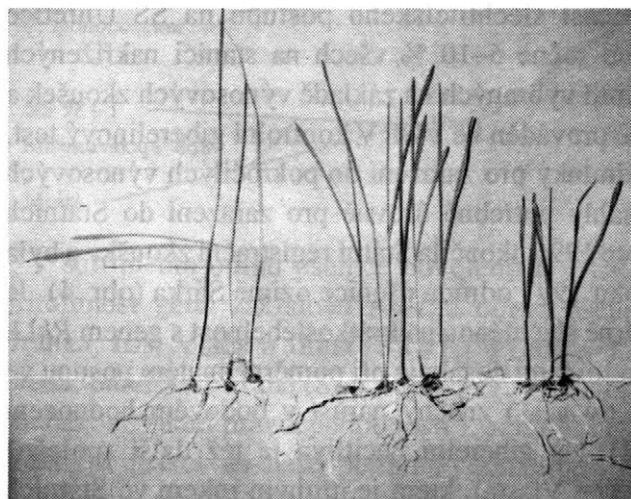
1. Necitlivost na aplikovaný giberelin v F_2 generaci po křížení rodičů se stejným genem zakrslosti (*Rht2*) – Insensitivity to applied gibberellin in F_2 generation after crossing parents with identical *Rht* gene (*Rht2*)

reakci ukazuje, že byly použity rodiče se stejnými *Rht* geny (zřejmě *Rht1* či *Rht2*). U zbývajících 74 kříženců se rodiče lišili v reakci na giberelin a F_2 generace byla v tomto znaku štěpící (obr. 2). Ze 108 použitých rodičovských genotypů bylo 34 rodičů necitlivých na giberelin (I) použito celkem 79krát, z toho 40krát v posledním roce sledování. Počet použitých genotypů s geny *Rht* se tedy poslední rok podstatně zvýšil. Zvýšil se tím i počet kombinací, u kterých bylo zjištěno ve sledované generaci F_2 štěpení rostlin (I, S, i).



2. Štěpení v reakci na giberelin po křížení odrůdy Šárka (*Rht2*) a senzitivní linie SG-U-466 – Segregation for the reaction to applied gibberellin after crossing the variety Šárka (*Rht2*) with the GA sensitive line SG-U-466

U kříženců I x S bylo možné odlišit tři skupiny rostlin (obr. 3). Snadno rozlišitelné byly skupiny evidentně insenzitivních a senzitivních rostlin. Třetí přechodnou skupinu tvořily rostliny s pravděpodobně heterozygotní sestavou alel, se slabou necitlivostí (i). Pro tuto skupinu je charakteristický protažený vzrůst při absenci žloutnutí listů a odklánění listů dolů. Orientace na typ reakce použití insenzitivní rodičovské odrůdy byla pro výběr rostlin s homozygotní sestavou *Rht* alel rozhodující.



3. Tři skupiny rostlin rozlišitelné ve štěpici F₂ populaci (Šárka/ SG-U-466) – vlevo: rostliny s předpokládanou alelickou sestavou *Rht*, *Rht*; uprostřed: *Rht*, *rht*; vpravo: *rht*, *rht* – Three groups of plants distinguishable in the segregating F₂ population (Šárka/ SG-U-466) – on the left: plants with supposed allelic composition *Rht*, *Rht*; in the middle: *Rht*, *rht*; on the right: *rht*, *rht*

Na výsledky giberelinových testů prováděných ve VÚRV v generaci F₂ navazovala aplikace giberelinu u vybraných kříženců generace F₃ ve ŠS Úhřetice s následným výběrem rostlin necitlivých na giberelin. V tab. I je přehled objemu materiálu generací F₃ a F₄, který byl v návaznosti na hodno-

I. Giberelinový program – počty hybridních kombinací, vybraných rostlin generace F₃ a linií generace F₄ s insenzitivní reakcí na aplikovaný giberelin v posledních třech letech – Gibberellic programme – number of crosses and selected F₃ plants and F₄ lines with insensitive reaction to GA in the last three years

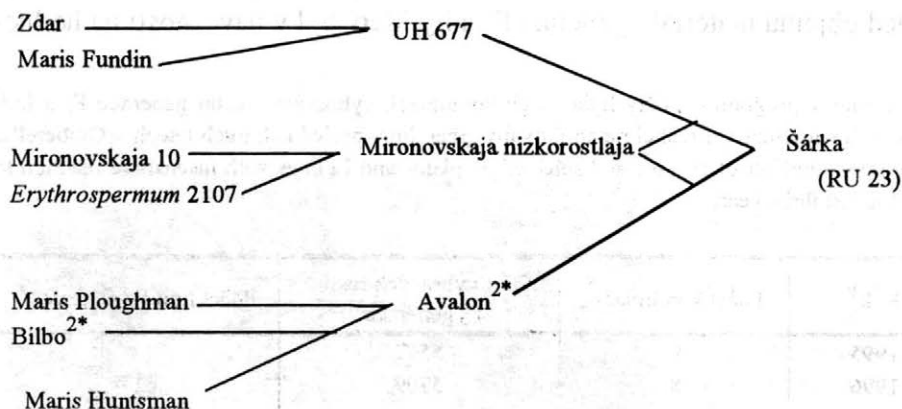
Rok ¹	Počet kombinací ²	Počet vybraných rostlin F ₃ generace ³	Počet linií F ₄ generace ⁴
1995	9	5577	–
1996	8	5709	617
1997	–	–	603

¹year; ²number of examined crosses; ³selected GA insensitive F₃ plants; ⁴and F₄ lines

cení v generaci F_2 vybrán a dále hodnocen v rámci tohoto programu v posledních třech letech. Výběr žádoucích, tzv. vyšších typů s geny zakrslosti podle typu reakce na aplikovaný giberelin u klíčnicích rostlin v generacích F_2 nebo F_3 nebyl prováděn, neboť nesliboval patřičné výsledky a zřejmě není ani opodstatněný (možnost předčasné ztráty žádoucích typů). Na výběry těchto typů je účelné se zaměřit až po výsevu na záhony v polních pokusech.

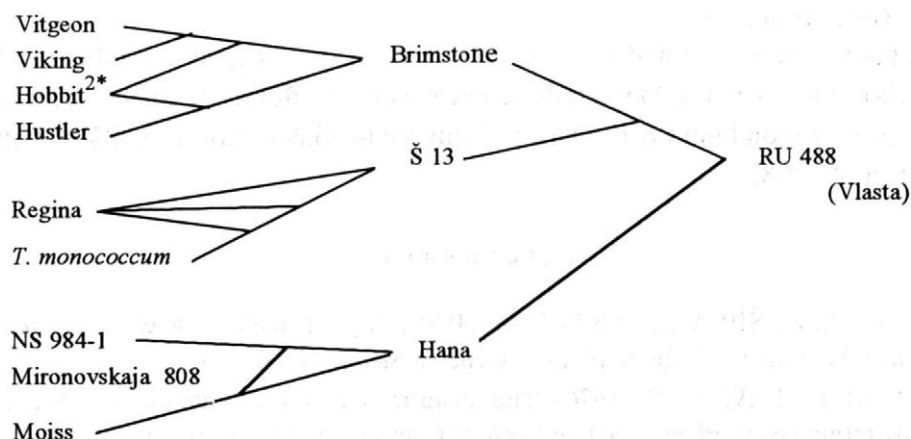
Během desetiletého období, ve kterém je ve spolupráci s VÚRV Praha giberelinový test jako součást šlechtitelského postupu na ŠS Úhřetice prováděn, bylo prozkoušeno ročně 5–10 % všech na stanici nakřížených kombinací. U pokročilých linií vybraných na základě výnosových zkoušek a dalších kritérií je opakovaně prováděn ve VÚRV kontrolní giberelinový test. Několik linií již splnilo podmínky pro zařazení do pokročilých výnosových zkoušek a dvě odrůdy dosáhly potřebné úrovně pro zařazení do Státních registračních zkoušek. V roce 1996 ukončila Státní registrační zkoušky a byla navržena na povolení od roku 1997 odrůda pšenice ozimé Šárka (obr. 4). Je první českou odrůdou záměrně šlechtěnou na krátkostébelnost s genem *Rht2*. Ve srovnání s kontrolními odrůdami dosahuje při poměrně malém posunu ve zkrácení stébla (typu „tall dwarfs“) značný nárůst v bodovém hodnocení odolnosti poléhání (tab. II). Na giberelin necitlivá je též další společně vyšlechtěná odrůda RU-488 (= Vlasta), která je druhým rokem ve Státních registračních zkouškách (obr. 5).

4. Rodokmen odrůdy Šárka – Pedigree of the variety Šárka



**Rht2* (Gale et al., 1981)

5. Rodokmen linie RU 488 – Pedigree of the line RU 488



V sortimentu odrůd pšenice povolených v ČR v 90. letech byla zjištěna přítomnost genu zakrslosti *Rht1* u odrůd pšenice ozimé Agra, Danubia, Branka, Iris, Vlada a Ilona (Škorpík et al., 1995) a odrůd jarní pšenice Linda, Sandra a Saxana (Šíp et al., 1995). Gen *Rht1* u odrůd Linda a Saxana pochází s velkou pravděpodobností z odrůdy Siete Cerros, která vykazovala efektivní reakci na naše podmínky prostředí. K tomu, aby se prosadily genotypy s geny zakrslosti, je zjevně nutné vhodné genetické pozadí. Efektivnost šlechtitelského výběru na *Rht* geny s necitlivostí na giberelin by mohla být vyšší u kříženců, v nichž je použita adaptovaná, moderní odrůda či šlechtitelská linie s *Rht* genem jako rodič. Ve šlechtění potravinářské pšenice

II. Hodnocení výšky rostliny a odolnosti k poléhání u odrůdy Šárka v porovnání s kontrolními odrůdami (průměr státních registračních zkoušek: 1994–1996) – Plant height and resistance to lodging in the variety Šárka and in the control varieties (average of Official Trials: 1994–1996)

Odrůda ¹	Gen zakrslosti ²	Výška rostliny ³ [cm]	Odolnost k poléhání ⁴
Šárka	<i>Rht2</i>	92	7.5
Samanta		104	5.5
Siria		104	5.8
Ilona	<i>Rht1</i>	95	5.9

¹ variety; ² dwarfing gene; ³ plant height (cm); ⁴ resistance to lodging (9–1, 9 without lodging)

je významný i požadavek použít do křížení pekařsky jakostní donory *Rht* genů (Šíp et al., 1991).

Výběr rostlin je výhodné soustředit na delší typy s geny zakrslosti (tall dwarfs), u nichž je předpoklad dosažení vysoké produktivity klasu ve spojitosti se zvýšenou hmotností zrna a počtem zrn na klas na úrovni kratších typů (Šíp et al., 1988).

L i t e r a t u r a

BOBKOVÁ, L., ŠÍP, V., ŠKORPÍK, M. (1988): Využití metody detekce *Rht* genů pomocí giberelinu ve šlechtění pšenice. Genet. a Šlecht., 24: 65-74.

GALE, M. D., LAW, C. N. (1976): The identification and exploitation of Norin 10 semidwarfing genes. Plant Breeding Institute Cambridge, Annual Report: 21-34.

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

ŠÍP, V., ŠKORPÍK, M., TÁBORSKÁ, J. (1986): Metoda testování reakce na aplikovaný giberelin pro detekci genů zakrslosti u pšenice. Genet. a Šlecht., 22: 133-141.

ŠÍP, V., AMLER, P., BOBKOVÁ, L., ŠKORPÍK, M. (1988): Efficiency of early generation selection for *Rht2* in a Czechoslovak wheat breeding programme. In: Proc. 7th Int. Wheat Genet. Symp., Cambridge: 1175-1180.

ŠÍP, V., AMLER, P., BOBKOVÁ, L., ŠKORPÍK, M. (1991): Uplatnění genů krátkostébelnosti v programu šlechtění potravinářské pšenice. Genet. a Šlecht., 27: 7-17.

ŠÍP, V., ŠKORPÍK, M., CHRPOVÁ, J. (1995): Detekce genů zakrslosti u tří odrůd pšenice jarní. Genet. a Šlecht., 31: 25-33.

ŠKORPÍK, M., ŠÍP, V., CHRPOVÁ, J. (1995): Geny zakrslosti v českých a slovenských odrůdách pšenice ozimé vykazující necitlivost na giberelin. Genet. a Šlecht., 31: 91-98.

Došlo 3. 3. 1997

Kontaktní adresa:

Miroslav Škorpík, Výzkumný ústav rostlinné výroby

161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 00 420 2 360 851, fax: 00 420 2 365 22

REKOMBINACE HORDEINŮ PO DIALELNÍM KŘÍŽENÍ SLADOVNICKÝCH ODRŮD JEČMENE*

Recombination of Hordeins after Diallel Cross of Malting Barley Varieties

Igor KRAUS, Oldřich CHLOUPEK¹

Research Institute of Brewing and Malting, Brno,

¹Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic

Abstract: Complete diallel-cross set F_2 without reciprocals of five excellent malting barley varieties (Akcent, Alexis, Forum, Rubín and BR 4148), grown at Plant Breeding Stations Branišovice and Hrubčice in 1995 was evaluated. Hordein spectrum of each cross was evaluated on six plants, each of two grains from both stations. The most frequent was phenotype of Rubín (18.1 %), recombinants were 41.6%. Genetical distance, evaluated from the frequency of identical and different electrophoretical stripes, was small between Alexis and Rubín, however Akcent was most distant from other varieties. Percentage of the maternal phenotypes was in overall average 32.5%, percentage of the paternal ones 41.7% and of new phenotypes 25.8%. The frequency of maternal phenotype occurrence was significantly different from both localities. Diallel analysis did not prove any significant effects either of the general combining ability (GCA) or of the specific combining ability (SCA) on the percentage of the three phenotype categories. Variance for the SCA was about twice greater than that for the GCA. The effects of GCA for genetical distance were related to the effects of GCA for the percentage of new phenotypes ($r^2 = 0.600$). Therefore, the more distant the parents, the more new phenotypes in their progenies in particular in progeny of Akcent, especially when crossed with Alexis. However, the indices about genetical distance traced only to hordein spectrum should be considered carefully since they characterize only a small part of the barley genome.

malting barley; hordeins; diallel-cross; genetical distance; new phenotypes

* Výzkum byl umožněn podporou z grantu GA ČR 506/94/0356 a spoluprací se šlechtiteli stanice Morstar v Branišovicích a Plant Select v Hrubčicích, zejména Ing. F. Růžičkou, CSc., Ing. P. Svačinou a Ing. F. Trunečkou.

Abstrakt: Byla hodnocena kompletní sestava dialelních kříženců F₂ (bez reciprokých) vzniklá křížením kvalitních sladovnických odrůd ječmene Akcent, Alexis, Forum, Rubín a BR 4148, pěstovaných ve Šlechtitelské stanici Branišovice a v Plant Select Hrubčice v roce 1995. Hordeinové spektrum bylo hodnoceno od každého křížence na šesti rostlinách po dvou zrnech z obou stanic. V hybriděch se nejčastěji vyskytoval fenotyp Rubínu (18,1 %), podíl rekombinantů činil 41,6 %. Genetická vzdálenost, hodnocená z frekvence shodných a odlišných elektroforetických pruhů, byla mezi odrůdami Alexis a Rubín malá, kdežto Akcent byl od ostatních odrůd nejvzdálenější. Podíl mateřského fenotypu dosáhl v celkovém průměru 32,5 %, otcovského 41,7 % a nových fenotypů 25,8 %. Frekvence výskytu mateřského fenotypu byla statisticky významně ovlivněna lokalitou pěstování. Dialelní analýza neprokázala významné efekty ani obecné, ani specifické kombinační schopnosti na podíl výskytu uvedených tří kategorií fenotypů. Variance pro obecnou kombinační schopnost (GCA) však byla asi poloviční ve srovnání s variací pro specifickou kombinační schopnost (SCA). Efekty GCA pro genetickou vzdálenost rodičů souvisely s jejich efekty GCA pro podíl nových fenotypů ($r^2 = 0,600$). Čím tedy byli rodiče geneticky vzdálenější, tím v jejich potomstvu vznikalo více nových fenotypů, nejvíce jich bylo v potomstvu Akcentu, zejména po křížení s odrůdou Alexis. Údaje o genetické vzdálenosti, vycházející jenom z údajů o hordeinovém spektru, nutno posuzovat obezřetně, poněvadž charakterizují jen malou část genomu ječmene.

sladovnický ječmen; hordeiny; dialelní křížení; genetická vzdálenost; nové fenotypy

Genetická heterogenita jako předpoklad úspěšné selekce může být hodnocena buď morfologickými, nebo biochemickými metodami. V obou případech se však neřeší problém komplexnosti stanovení genetické heterogenity beze zbytku. Jednou z metod využitelnou pro tyto účely je analýza endospermálních zásobních bílkovin obilky ječmene. Nejvhodnější z těchto bílkovin je skupina prolaminů (hordeinů), které splňují základní požadavky signálních genů, tj. vysoký stupeň polymorfismu a vysokou heritabilitu. Nejvyšší stupeň polymorfismu vykazují hordeinové frakce B a C. To je výsledkem evoluce v úsecích DNA, které kódují hordeiny. Jedním ze základních evolučních mechanismů je opakovaná duplikace částí genomů, čímž vznikají možnosti pro modifikaci původní nukleotidové sekvence. Tak tomu zřejmě je i u genů kódujících hordeiny typu B a C, které se nacházejí na krátkém raménku chromozomu 5 na lokusech Hor 2 a Hor 1. Pro tyto lokusy je charakteristické,

že jsou tvořeny velkým počtem modifikovaných kopií základního motivu sekvence (20–30 kopií). Nižší stupeň polymorfismu vykazují tzv. gama-hordeiny, které jsou determinovány menší genovou rodinou na lokusu Hor 5, který je v těsné vazbě s lokusem Hor 2. Naproti tomu hordeinová frakce D je kódována jedinou kopií genu na lokusu Hor 3, který je lokalizovaný na dlouhém raménku chromozomu 5 (Bunce et al., 1986; Shewry, Tatham, 1990; Kanazin et al., 1993; Chee et al., 1993).

V předložené práci jsme hodnotili variabilitu fenotypového projevu hordeinů po dialelním křížení pěti vynikajících sladovnických odrůd ječmene jarního v generaci F_2 , která má největší variabilitu a v níž se dělají první výběry ve šlechtění. Zejména nás zajímala souvislost frekvence nových fenotypů hordeinů s genetickou vzdáleností rodičů.

MATERIÁL A METODY

Dialelním způsobem bez reciprokých křížení byly nakříženy kvalitní sladovnické odrůdy ječmene jarního Akcent, Alexis, Forum, Rubín a kandivar BR 4148. Odrůda Akcent totiž dosáhla u většiny parametrů požadované kvality pro potřeby českého sladovnického a pivovarnického průmyslu, odrůdy Forum a Rubín byly velmi dobré (Psota, Kosař, 1994). Odrůda Alexis je považována za přední německou sladovnickou odrůdu. Kandivar BR 4148, rovněž s dobrou sladovnickou hodnotou však nebyl povolen. Osivo bylo přes zimu přemnoženo, náhodně rozděleno a v následujícím roce vyseto ve Šlechtitelské stanici Branišovice (BR) a Hrubčice (HE). Od každého z deseti hybridů bylo analyzováno šest klasů pocházejících z různých rostlin a z každého klasu dvě obilky.

Hordeinové frakce byly extrahovány z jednotlivých rozdrcených zralých obilek v 1,5 ml zkumavkách s 500 μ l extrakčního pufru (18,0 g močoviny, 1,0 g 2-merkaptetanolu, 1,0 g metylzeleně, 25 ml 50% 2-chloretanolu na 100 ml) přes noc při laboratorní teplotě. Extrakt se centrifugoval 15 minut při 12 000 g. Dělení hordeinů probíhalo na 8% aPAAG (Protean, Bio Rad). Gel byl po ukončení elektroforézy barven v 0,1% Serva Blue R v 12% kyselině trichloroctové přes noc, pak byl usušen (Gel drayer, Biorad).

Elektroforetická spektra hordeinů byla hodnocena na základě REM vizuálně a byly zaznamenány celkové počty pruhů a počty pruhů odlišných v párovém hodnocení. Odhad genetické vzdálenosti byl stanoven koeficientem:

$$GD_{Dice} = 1 - 2a/(2a + b + c)$$

kde: a – počet pruhů společných v obou fenotypech

b – počet pruhů jen ve fenotypu A

c – počet pruhů jen ve fenotypu B

Získané hodnoty genetické vzdálenosti byly zpracovány shlukovou analýzou (SPSS/PC+) a převedeny do dendrogramového zobrazení.

VÝSLEDKY

V analyzovaném souboru bylo zjištěno celkem 27 různých hordeinových fenotypů, z toho pět rodičovských. V tab. I jsou uvedeny četnosti jednotlivých fenotypů.

Nejčtenějším rodičovským fenotypem byl fenotyp Rubín, nejčtenějšími novými (rekombinantními) fenotypy byly B a V, nejméně čtenými byly

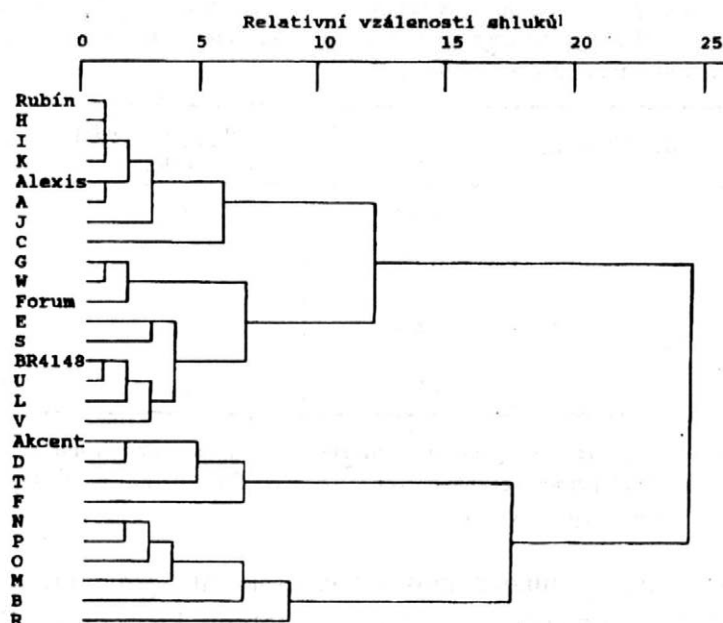
I. Četnost hordeinových fenotypů – The frequency of hordein phenotype

Feno- typ ¹	Akcent		Alexis		Rubín		BR 4148		Forum		A	B	C	D	E	F	G
[%]	10,9		12,6		18,1		16,0		16,4		0,4	3,2	0,8	0,4	0,4	0,4	1,6
Feno- typ	H	I	J	K	L	M	N	O	P	R	S	T	U	V	W		
[%]	2,8	0,4	0,4	2,0	1,6	0,4	0,4	0,4	0,4	2,0	1,2	0,8	0,8	3,2	0,8		

¹phenotype

fenotypy A, D, E, F, I, J, M, N, O a P, fenotypy M a N byly hybridní. Vzhledem k dědičné determinaci D-hordeinů i ostatních složek hordeinového spektra lze předpokládat, že u fenotypů B, C, G, J, L, T a W došlo ke crossing-overu v oblasti centromery, což představovalo 36,7 % z rekombinantních fenotypů. Celkový podíl rekombinantů byl 41,6 %.

V dendrogramu (obr. 1) je znázorněna genetická vzdálenost jednotlivých fenotypů sledovaného souboru. Je z něj patrná genetická blízkost odrůd Rubín a Alexis, kdežto odrůda Akcent je od ostatních rodičovských odrůd nejvzdálenější.



¹relative distances of clusters

1. Dendrogram genetické příbuznosti – Dendrogram of genetic affinity

Analýzou variance jsme hodnotili podíl (%) rodičovských a nových fenotypů v dialelních křížencích F_2 . Hodnocen byl soubor sestávající z 10 kříženců po šesti rostlinách po dvou zrnech ze dvou šlechtitelských stanic. U každé ze 120 hodnocených rostlin byly hodnoceny dvě obilky. Pokud obě vykazaly stejný fenotyp (tj. buď otcovský, nebo mateřský, anebo nový), byla tato rostlina hodnocena údajem 100 %, pokud jen jedna, pak byla hodnocena údajem 50 %, a pokud žádná, pak byla hodnocena údajem 0 %. Takto získané procentní údaje byly úhlově transformovány podle vzorce

$$y = \arcsin \sqrt{p}$$

kde: p – četnost, tj. hodnoty 0 % činily po transformaci opět 0, 50 % po transformaci 45 a 100 % po transformaci 90

Podíl mateřského fenotypu dosáhl v celkovém průměru 32,5 %, otcovského 41,7 % a nových fenotypů 25,8 %. Analýza variance přinesla výsledky uvedené v tab. II.

II. Analýza variance po arcsin transformaci pro podíl rodičovských a nových fenotypů v dialelních křížencích F₂ – Analysis of variance after parental arcsin transformation for the percentage of parental and new genotypes in diallel crosses F₂

Příčina proměnlivosti ¹	df	Variance pro podíl fenotypu		
		mateřského ⁶	otcovského ⁷	nových ⁸
Kříženci ²	9	1 905	2 250	(1 568)
Šlechtitelské stanice ³	1	9 720*	4 320	1 080
Interakce kříženci x stanice ⁴	9	1 808	1 245	1 230
Zbytek ⁵	100	1 366	1 721	1 195

¹source of variability, ²crosses, ³plant breeding stations, ⁴cross x station interactions, ⁵others, ⁶variance for maternal percentage phenotype, ⁷variance for paternal percentage phenotype, ⁸variance for new phenotype percentage

Analýza variance po úhlové transformaci prokázala významný vliv lokality pěstování kříženců na podíl mateřských fenotypů, který činil v BR 22,5 % a v HE 42,5 % v netransformovaných hodnotách. Uvážíme-li, že u 21,7 % z hodnocených rostlin byla získána odlišná hordeinová spektra obou hodnocených obilí z téhož klasu a považujeme-li tuto hodnotu za chybu stanovení, pak uvedený rozdíl dvaceti procent, zjištěný analýzou variance, to podporuje. Ostatní sledované vlivy působící na podíl rodičovských a nových fenotypů byly statisticky nevýznamné. Při hodnocení podílu rodičovských fenotypů připadal z celkové variability největší podíl na lokalitu pěstování, následoval vliv kříženců a interakce kříženců s lokalitou pěstování. Jiná situace byla u podílu nových fenotypů, u nichž připadal největší podíl na vliv kříženců, následoval vliv interakce kříženců s lokalitou pěstování, a nejmenší příčinou proměnlivosti byla lokalita pěstování. I když tedy nebyl vliv kříženců na celkové variabilitě významný, přesto jsme sestavili dialelní tabulky (tab. III).

Dialelní analýza neprokázala, jak se dalo očekávat již z analýzy variance, ani významný vliv obecné, ani specifické kombinační schopnosti. Hodnocení reciprokých vlivů nebylo vzhledem k podkladovým údajům možné. Zdrojem nejvyšší proměnlivosti byla specifická kombinační schopnost se směrodatnou odchylkou 20,4 % následovaná vlivy lokality pěstování se směrodatnou odchylkou 15,8 % a konečně obecná kombinační schopnost s 14,3 % od celkového průměru.

III. Dialelní tabulka F₂ hybridů pro podíl nových fenotypů (%) (v levé spodní polovině jsou údaje z BR, v pravé horní z HE) – Diallel table of F₂ hybrids for the percentage of new phenotypes (%) (data from BR are in the left lower part, data from HE are in the right upper part)

	Akcent	Alexis	Rubín	BR 4148	Forum
Akcent	–	41,7	8,3	25,0	25,0
Alexis	41,7	–	33,3	25,0	16,7
Rubín	41,7	0	–	16,7	33,3
BR 4148	41,7	16,7	8,3	–	0
Forum	33,3	8,3	66,7	33,3	–

Efekty obecné kombinační schopnosti (general combining ability, GCA) byly odhadnuty podle rovnice

$$Y_{ij} = \mu_Y + GCA_i + GCA_j + SCA_{ij}$$

kde: Y – výsledný efekt rodičů i a j hybridu ij

μ_Y – celkový průměr

GCA – efekty obecné kombinační schopnosti

SCA – efekt specifické kombinační schopnosti

Efekty GCA pro podíl nových fenotypů činily u odrůdy:

Akcent	+6,46 %
Alexis	–2,91 %
Rubín	+0,20 %
BR 4148	–5,00 %
Forum	+1,24 %

Největší podíl nových fenotypů byl tedy zjištěn v křížencích, kde byl jedním z rodičů Akcent, následoval Forum, Rubín, Alexis, a nejmenší podíl nových fenotypů byl zjištěn v křížencích s kandidátem BR 4148.

Nejvyšší kladné efekty specifické kombinační schopnosti pro podíl nových fenotypů vykázal kříženec Rubín x Forum (22,72 %) a Akcent x Alexis (12,32 %). Z dialelní tabulky je vidět, že největší podíl nových fenotypů na obou lokalitách celkem byl získán rovněž u posledně jmenovaného hybridu.

Pokusili jsme se vysvětlit, na čem závisel podíl nových fenotypů v potomstvu jednotlivých rodičů. Srovnali jsme průměrné hodnoty uvedené genetické

IV. Souvislost genetická vzdálenosti rodičů s podílem nových fenotypů v jejich vzájemném potomstvu, hodnocená podle projevu aditivní činnosti genů – Relation of parent genetical distance to the percentage of new phenotypes in their mutual progeny, evaluated by the expression of additive effects of genes

Odrůda ¹	Efekty GCA pro genetickou vzdálenost ²	Efekty GCA pro podíl nových fenotypů ³
Akcent	+0,283	+6,46
Alexis	-0,058	-2,91
Forum	-0,060	+1,24
Rubín	-0,111	+0,20
BR 4148	-0,054	-5,00

¹variety; ²GCA effects for genetical distance; ³GCA effects for new phenotype percentage

vzdálenosti s průměrnými hodnotami podílu nových fenotypů. Korelační koeficient mezi těmito pěti párovými hodnotami činil $r = 0,533$, takže vysvětloval jen asi 28 % zjištěné variability ($r^2 = 0,284$). Efekty obecné kombinační schopnosti, kontrolované aditivní činností genů, pro koeficienty genetické vzdálenosti na straně jedné a pro podíl nových fenotypů na straně druhé však byly vzájemně korelovány těsněji. Korelační koeficient činil $r = 0,774$, $n = 5$ a tak vysvětlil asi 60 % zjištěné variability. Podíl nových fenotypů hybridů tedy souvisel s genetickou vzdáleností jejich rodičů, pokud tyto hodnoty byly kontrolovány aditivní činností genů. Souvislost je patrná z tab. IV.

DISKUSE

Současné šlechtění sladovnického ječmene již po mnoho generací vychází z rekombinací sladovnických odrůd, což má bohužel za následek nižší genetickou diverzitu než u jiných plodin, u kterých je kladen menší důraz na kvalitu produktu (Martin et al., 1991). Tak například analýza 85 odrůd ze země Evropské pivovarské konvence (EBC) prokázala, že celkový efektivní počet původních linií byl 43,1, i když pocházel ze 153 původních rodičovských linií. Tyto linie totiž přispívaly různou měrou, od 0,6 do 97 % svých alel (Hintum, Haalman, 1994). To zhoršuje perspektivy dalšího šlechtění a zvyšuje genetickou zranitelnost.

Stupeň polymorfismu na lokusu Hor 1 a Hor 2 přírodních populací *Hordeum spontaneum* dosahuje v centrálních oblastech rozšíření hodnoty (H_e)

0,859, resp. 0,782 (Jaradat, 1991). Tyto údaje naznačují možnosti získávání zdrojů genetické variability pro šlechtění ječmene jarního, jehož české odrůdy jsou všeobecně považovány za velmi příbuzné. Takto však asi nebude možné rozšířit genetickou diverzitu pro sladovnický ječmen. O to se pokoušíme v uvedeném grantovém projektu pomocí rekurentní selekce, při níž se hybridy F_2 znovu kříží, aby se umožnilo vyštěpení méně četných rekombinací.

Největší heteroze pro výnos byla sice zjištěna mezi nepříbuznými dvouřádkovými rodiči, avšak F_1 hybridy s nejlepší sladovnickou kvalitou pocházely z křížení blízce příbuzných rodičů s vysokou sladovnickou hodnotou (Hockett et al., 1993).

Spolehlivost odhadu očekávané heterozy z určitého znaku závisí podle teoretických úvah na tom (Charcosset et al., 1991), jak těsně jsou svázány úseky DNA markerů použitých k odhadu heterozy s geny kontrolujícími vznik této heterozy. V našich pokusech jsme sledovali hordeiny, které souvisejí se sladovnickou hodnotou, jako je množství extraktu, Kolbachovo číslo, diastatická mohutnost a obsah rozpustného dusíku (He et al. 1993). Obdobně vyšší sladovnická hodnota odrůdy Zenit souvisela s vyšší frekvencí hordeinových alel Hrd-D a HrdE (Černý et al., 1990). Totéž bylo zjištěno pro alely Hrd A 12 a Hrd B 19 (Netsvetaev, 1994).

Hordeiny představují asi polovinu proteinů obilky ječmene. Rok 1996 byl na obou stanicích, kde byly hybridy pěstovány, nepříznivý, což se projevilo vysokým obsahem proteinů – v Branišovicích činil v průměru 16,9 %, v Hrubčicích 14,4 %. To může vysvětlovat zjištěný rozdíl v hordeinových spektrech z obou těchto stanic. Hordeiny jsou kódovány na více lokusech ječmenného genomu. Asi 75–90 % je určováno oblastí Hor 2, na čemž se podílí 20–30 kódujících genů. Další 10–20 % hordeinů patří k méně komplexní oblasti Hor 1. Lokusy Hor 2 a Hor 1 jsou v těsné vazbě na krátkém raménku pátého chromozomu. Pro odhad genetické podobnosti se však vyžaduje rovnoměrné rozložení použitých markerů v genomu, a proto má u ječmene podobnost genomů stanovená z podobnosti elektroforeogramů jen omezenou platnost.

Výhodou použití kvantitativních znaků k odhadu genetické podobnosti nebo k očekávané heterozy je to, že zároveň postihují více genů (minor genů) a tak i více úseků genomu. To též platí pro kvantitativní hodnocení proteinů, na jejichž realizaci se může podílet více regulačních genů (Darmerval et

al., 1987). Nevýhodou kvantitativních znaků k odhadu genetické podobnosti je potřeba hodnocení ve více prostředích, protože z celkové variability je jen malá část podmíněna geneticky. Protože lze pomocí RFLP a RAPD nalézt téměř neomezené množství polymorfních markerů, poněvadž lze zachytit již nejmenší rozdíly v sekvenci bází DNA, považuje se RFLP a RAPD za nejvhodnější pro stanovení genetické podobnosti a pro předpověď heterozy (Smith et al., 1990; Demeke et al., 1994).

Je zajímavé, že podíl nových fenotypů byl v našich pokusech nejvíce (i když nevýznamně) ovlivněn svým genetickým původem, kdežto podíl rodičovských fenotypů (opět nevýznamně) především lokalitou pěstování. Dialelní analýza prokázala (Garcera et al., 1991), že hmotnost tisíce zrn, obsah proteinů a příjem vody byly kontrolovány aditivní činností genů, kdežto enzymatické aktivity dominantními účinky. Považujeme-li vznik hordeinových spekter za enzymatický proces, můžeme tyto výsledky potvrdit z našich pokusů, protože v nich převládaly dominantní účinky nad aditivními.

Nejvýznamnějším poznatkem z našeho sledování asi je zjištěná souvislost genetické vzdálenosti rodičů s podílem nových fenotypů v potomstvu, zejména pokud se jednalo o variabilitu působenou aditivní činností genů (obecnou kombinační schopností). Pro vznik co nejvíce nových fenotypů je tedy vhodné křížit co nejvzdálenější rodičovské odrůdy. V našem sledování to byly odrůdy Akcent a Alexis, v jejichž potomstvu bylo na obou stanicích zjištěno přes čtyřicet procent nových fenotypů.

L i t e r a t u r a

BUNCE, N. A. C., FORDE, B. G., KREIS, M., SHEWRY, P. R. (1986): DNA restriction fragment length polymorphism at hordein loci: application to identifying and fingerprinting barley cultivars. *Seed Sci. Technol.*, 14: 419-429.

ČERNÝ, J., ŠAŠEK, A., SÝKOROVÁ, S., BRADOVÁ, J., PAŘÍZEK, P., MALÝ, J. (1990): Utilization of the method of protein genetic markers in cereal variety testing. *Scientia Agric. Bohemoslov.*, 22: 93-102.

DARMERVAL, D., HEBERT, Y., DE VIENNE, D. (1987): Is the polymorphism of protein amounts related to phenotypic variability? A comparison of two dimensional electrophoresis data with morphological traits in maize. *Theor. Appl. Genet.*, 74: 193-202.

- DEMEKE, T., ADAMS, R. P. (1994): The use PCR-RAPD analysis in plant taxonomy and evolution. In: GRIFFIN, G. H. – GRIFFIN, A. M. (Eds.): PCR technology. Current innovation. Boca Raton : 179–191.
- DICE, L. R. (1945): Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology*, 23: 297–302.
- GARCERA, L., SARRAFI, A., JESTIN, L., ECHOARD, R. (1991): Genetic variability for some brewing quality characters in barley. *Pl. Breed.*, 106, 1991: 235–241.
- HE, K., YOSHIDA, H., SOUTOME, K., KAJIWARA, H., KOMATSU, S., HIRANO, H. (1993): Relations between seed storage proteins and malting quality in 2-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Jap. J. Breed.*, 43: 81–89.
- HINTUM, T. J. L., HAALMAN, D. D. (1994): Pedigree analysis for composing a core collection of modern cultivars, with examples from barley. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 70–74.
- HOCKETT, E. A., COOK, A. F., KHAIV, M. A., MARTIN, J. M., JONES, B. L. (1993): Hybrid performance and combining ability for yield and malt quality in a diallel cross of barley. *Crop Sci.*, 33: 1239–1244.
- CHARCOSSET, A., LEFORT-BUSON, M., GALLAIS, A. (1991): Relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci: A theoretical computation. *Theor. Appl. Genet.*, 81: 571–575.
- CHEE, P. W., PEDERSON, L., MATEJOWSKI, A., KANAZIN, V., BLAKE, T. (1993): Development of polymerase chain reaction for barley genome analysis. *ASBC J.*, 51 (3): 93–96.
- JARADAT, A. A. (1991): Grain protein variability among populations of wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) from Jordan. *Theor. Appl. Genet.*, 83: 164–168.
- KANAZIN, V., ANAIEV, E., BLAKE, T. (1993): Variability among members of the Hor-2 multigene family. *Genome*, 36 (6): 1–5.
- MARTIN, J. M., BLAKE, T. K., HOCKETT, E. A. (1991): Diversity among North American spring barley cultivars based on coefficient of parentage. *Crop Sci.*, 31: 1131–1137.
- NETSVETAEV, V. P. (1994): Genotypic variability of malt quality in spring barley. *Cereal Res. Communications*, 22: 65–70.
- PSOTA, V., KOSAR, K. (1994): Characterization of malting barley varieties. *Rostl. Výr.*, 40: 617–625.
- SHEWRY, P. R., TATHAM, A. S. (1990): The prolamine storage proteins of cereal seeds: structure and evaluation. *Biochem. J.*, 267: 1–12.
- SMITH, O. S., SMITH, J. S. C., BOWEN, S. L., TENBORG, R. A., WALL, S. J. (1990): Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F₁ grain yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theor. Appl. Genet.*, 80: 833–840.

SÝKOROVÁ, S. (1996): Enzymové systémy ječmene setého jako genetické markéry.
Genet. a Šlecht., 32: 135-147.

Došlo 25. 9. 1996

Kontaktní adresa:

RNDr. Igor Kraus, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský
Mostecká 7, 614 00 Brno, Česká republika
tel.: 00 420 5 578 703, fax: 00 420 5 453 212 25

TECHNIKA OVLIVNĚNÍ OBSAHU TOXICKÝCH ALKALOIDŮ
V JÍLKU VYTRVALÉM (*Lolium perenne* L.)*

A Technique of Toxic Alkaloid Content Adjustment
in Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.)

Václav MÍKA, Jiří BUMERL¹, Jan SMRŽ¹

*Institute of Agricultural and Food Information, Prague,
Research Station of Grassland Ecosystems, Jevičko;*

¹*TAGRO Červený Dvůr, Breeding Station, Tábor, Czech Republic*

Abstract: The causality between alkaloid occurrence in grasses and the presence of endophytic fungi is well-known. Taking into account some positive effects of host plant – endophytic fungus symbiosis, artificial infection by carefully selected and tried biotypes of endophytes inducing production of alkaloids of a definite type can be recommended. The content of lolines and ergot alkaloids should be minimized in forage grass cultivars while peramine content is indifferent or even useful if the grass is grown under stress conditions (drought, nutrient deficiency) and occurrence of animal pests. The presence of alkaloids in grass cultivars to be exclusively grown in nonproductive lawns seems to be an advantage, especially peramine content is beneficial if there is an increased danger of injury to plants by biotic factors. Methods of isolation and cultivation of the endophytic fungus *Acremonium lolii* are described in this paper, as well as artificial infection in 20 strains of perennial ryegrass. The cultivation was successful on ready-made nutrient medium CMA produced by Difco Ltd. company, expressly improving and accelerating fungus sporulation at 22 °C in darkness. Mycelium on solid media is viable for about 3 months, hence it should be re-cloned in time. A criterion for assessment of mycelium vitality is its perceivable growth (> 5 mm). Inoculation effectiveness was 15.7–28.6%; higher values were recorded when very young shoot and young mycelium were used. It was found that the endophyte would never grow through from the infected shoot to an uninfected one. Some biotypes of endophytic fungi create artificial host – endophyte symbiosis quite easily, in others it is more difficult to achieve it. Symbiosis duration is largely dependent upon the fact whether this combination is optimum or not. The components have been

* Příspěvek byl zpracován za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum MZe ČR, projekt reg. č. RE 5531.

selected randomly until now; therefore further research focused on formulation of exact criteria for selecting a host genotype and endophyte type would be very useful.

grasses; *Acremonium lolii*; alkaloids; artificial infection; symbiosis; breeding; *Lolium perenne*

Abstrakt: V práci jsou popsány metody izolace a kultivace endofytní houby *Acremonium lolii* a umělé infekce u 20 kmenů jílku vytrvalého. Při kultivaci se osvědčila hotová živná půda CMA firmy Difco Ltd, výrazně zlepšující a urychlující sporulaci houby při 22 °C ve tmě. Mycelium na pevných půdách zůstává životaschopné cca tři měsíce, proto je ho třeba vždy včas překlonať. Kritériem pro posouzení vitality mycelia je zřetelný růst (> 5 mm). Úspěšnost inokulace činila 15,7–28,6 %, přičemž vyšších hodnot se dosahuje při použití velmi mladých odnoží a mladého mycelia. Zjistili jsme, že z infikované do neinfikované odnože endofyt nikdy „neproroste“. Některé biotypy endofytních hub vytvářejí umělou symbiózu „hostitel – endofyt“ snáze, jiné obtížněji. Rovněž i doba trvání symbiózy značně závisí na tom, zda se jedná o kombinace optimální, či nikoli. Zatím se komponenty vybírají nahodile; proto další výzkum zaměřený k vypracování exaktních kritérií výběru genotypu hostitele a biotypu endofyta by byl zvlášť užitečný.

trávy; *Acremonium lolii*; alkaloidy; umělá infekce; symbióza; šlechtění; *Lolium perenne*

V našich travách se vyskytují přirozeně endofytní houby, z nichž nejčastěji je dokladován rod *Acremonium*. V rostlinách nevytvářejí žádné sexuální (teleomorfní) stadium. V hostiteli iniciují tvorbu toxických alkaloidů, avšak jeho růst nikterak zjevně nepoškožují. S jejich přítomností v travách je příčinně spjat výskyt toxických alkaloidů.

Pro symbiózu houby *Acremonium lolii* s jíllem vytrvalým je charakteristický výskyt lolitremu B, zatímco pro symbiózu *Acremonium coenophialum* či *A. uncinatum* s košťavou luční výskyt lolinů. Další alkaloidy už nejsou specificky vázány na botanický druh. Např. *Acremonium lolii* a *A. coenophialum* vytváří v hostitelské rostlině peramin (pyrrolpyrazinové alkaloidy), dále lolinové alkaloidy (deriváty N-formyllolinu, N-acetyllofinu). V přítomnosti *A. coenophialum* byly v travách stanoveny též námelové alkaloidy

(klaviny, kyselina lyserginová, její jednoduché amidy, ergopeptiny a ergopeptamové alkaloidy), odpovědné za tzv. kostřavovou toxikózu při zkrmování takového píce skotu (Kalač, Míka, 1988). Rovněž paxalin (prekurzor lolitremu A, B) negativně působí na zvíře (nervové onemocnění zvané jílkové závratě). Perlolin (diazafenantrenový alkaloid) se spolupodílí jak na „kostřavové toxikóze“ (kostřava luční, kostřava rákosovitá), tak i na „jílkových závratích“ (jílek vytrvalý, jílek mnohokvětý).

Obsah alkaloidů v rostlině stoupá s dusíkatým hnojením, teplotou od 23 °C výše a s prohlubujícím se vláhovým deficitem. Pokud endofytní houby nebyly v travách přítomny, žádný z uvedených alkaloidů se v rostlině nevyskytoval.

Přítomnost endofytních hub může být pro hostitelskou rostlinu prospěšná, neboť rostliny lépe odolávají stresům (suchu, nedostatku přijatelných živin, chorobám a škůdcům), jsou vytrvalejší, více odnožují, jejich listy mívají svěží barvu. Přítomnost endofytů, které indukují tvorbu peraminů, se jeví výhodné pro pícní odrůdy trav (při co nejnižší hladině lolinů), zatímco pro trávnickové odrůdy je vysoký biologický účinek obsažených alkaloidů předností bez ohledu na jejich chemické složení. Vzhledem k prokázanému polymorfismu endofytních hub se nabízí možnost izolovat a vyselektovat takové kmeny, které by v rostlině iniciovaly tvorbu alkaloidů určitého typu. Jimi by se pak infikovaly genotypy bez endofytů v souhlase s předpokládaným využitím budoucí odrůdy v pěstitelské praxi.

Tímto způsobem se vytvářejí umělé kombinace endofyt-hostitel většinou nahodile a s tím souvisí nejen poměrně nízká úspěšnost inokulace (ca 20 až 30 %), ale i omezená životaschopnost suboptimálních kombinací (Míka, nepublikované výsledky). Cílem předložené práce je podat popis techniky ovlivnění potenciálního obsahu alkaloidů, která se po 15 letech výzkumné práce jeví jako nejsnáze použitelná ve šlechtění trav.

MATERIÁL A METODY

K ověření vlivu různých biotypů *Acremonium lolii* na úspěšnost umělé infekce bylo z kolekce šlechtitelského materiálu na šlechtitelské stanici Červený Dvůr jako hostitelské rostliny vybráno 20 kmenů jílkou vytrvalého „trávnickového“ typu (tab. I). Od každého kmenu bylo ve skleníku připraveno dvakrát 10 ramet (tj. klonových dílců) v malých kontejnerech z plastu (5 x 5 cm)

tak, aby na každé rametě bylo možné použít k umělé inokulaci pět přibližně stejně starých odnoží nesoucích 1–2 listy. Přebytké odnože byly odstřiženy.

K ověření vlivu stáří odnoží na úspěšnost umělé infekce bylo jako prvních použito sedm kmenů jílku vytrvalého a od každého připraveno třikrát 10 ramet obdobným způsobem. Příprava byla synchronizována tak, aby k datu umělé infekce byly k dispozici tři řady ramet (po 10 ks) lišících se stářím odnoží (tab. II a III).

Infikované kmeny jílku vytrvalého (A^+) biotypem *Acremonium lolii* z novozélandské odrůdy jílku vytrvalého pastevního typu Ellett byly naklonovány a vysazeny do polní školky (po pěti rametách od každého kmenu) ve sponu 40 x 40 cm. Jako srovnávací varianta byla podobným způsobem vysázena výchozí sestava neinfikovaných kmenů (A^-) s rametami přibližně stejně velkými jako u varianty A^+ . V první seči roku 1996 byla hodnocena produkce sušiny (v g) na rostlinu.

Endofytní houba *Acremonium lolii* byla izolována jednak z odrůdy jílku vytrvalého Ellett a jednak ze sběrové položky jílku vytrvalého (z okolí Kozího hrádku) pod označením EKO 78. Obvykle používaná metoda izolace (Bacon et al., 1977) byla zjednodušena takto: v místě kde přisedá bazální pochva ke stéblu se celý výhon odřízne skalpelem, odstraní se zaschlé pochvy a povrchově sterilizuje (20 s v 70% isopropanolu a pak 10 min v 10% chlornanu sodném). Výhon se opláchne převařenou (studenou) vodou, odstraní se vybělený konec a nařeže na ca 10 mm dlouhé segmenty. Ty se pak (v počtu 25 kusů) stejnoměrně rozprostřou na PDA v Petriho misce (např. o průměru 9 cm). Explantáty se mírně přimáčknou do agaru, misky se uzavřou páskou (např. Parafilm) a nechají inkubovat při 22 °C ve tmě. V případě potřeby se odstraňují ložiska infekce. K druhovému určení izolátu byl použit popis (Latch et al., 1984) a referenční kultura z mykotéky dr. Latche.

Předpokladem pro přesné určení druhu je výskyt spor v podmínkách umělé kultury. Jelikož při běžném pěstování speciálně *Acremonium lolii* sporuluje velice sporadicky a mnohdy vůbec ne, osvědčila se nám hotová půda CMA firmy Difco Ltd., průkazně zlepšující a urychlující sporulaci při 22 °C ve tmě. K ní zde dochází již za 2–4 týdny po přenesení mycelia na toto médium.

Životnost endofytů na pevných půdách nebývá dlouhá (max. tři měsíce), proto je třeba je včas překlónovat. Kritériem pro posouzení vitality mycelia je zřetelný růst inokula (> 5 mm).

Umělá infekce kmenů jílku vytrvalého byla provedena vložním útržku mycelia do naříznutého výhonu a ten byl obalen izolepou. Předtím byly výhony zkráceny (na 3–5 cm). K inokulaci bylo použito mycelium z kultury ne starší než 4 týdny, neboť se stářím kultury úspěšnost značně klesá. Skleník v době inokulace (březen 1995) byl částečně stíněn rákosovými rohožemi.

K identifikaci přítomnosti mycelia endofytních hub byla použita standardní metodika barvení obilek či listových pochev (Siegel et al., 1984) neselekčním barvivem bengálská růžová a mikroskopování při 100–400násobném zvětšení.

Obsah peraminu byl stanoven metodou HPLC (Tapper et al., 1989) a vyjádřen jako μg na g sušiny.

VÝSLEDKY

Po umělé infekci byla kontrolována přítomnost mycelia v každém z infikovaných výhonů. Pokud v některém z nich endofyt absentoval, výhon byl odstraněn. Získali jsme tu zkušenost, že z infikovaného do neinfikovaného výhonu nikdy endofyt „dodatečně“ neproroste. Nikdy jsme jeho přítomnost nezjistili v kořenech trav.

Úspěšnost inokulace jílku vytrvalého byla relativně nízká (tab. I), přičemž rozdíly mezi použitými izoláty *Acremonium* u jednotlivých kmenů byly patrné (leč statisticky neprůkazné). Některé biotypy endofytních hub tedy mohou vytvářet symbiózu hostitel – endofyt snáze, jiné obtížněji. Rovněž i doba trvání symbiózy (podle našich dosavadních výsledků sledování) značně závisí na tom, zda se jedná o kombinace optimální, či nikoli.

I. Úspěšnost umělé infekce, provedené inokulem *Acremonium lolii* u 20 kmenů jílku vytrvalého, izolovaného z odrůdy jílku vytrvalého Ellett a ekotypu EKO78 – Successful artificial infection caused by *Acremonium lolii* inoculum in 20 strains of perennial ryegrass, isolated from the perennial ryegrass cultivar Ellett and ecotype EKO78

<i>Acremonium lolii</i>	Průměr 20 kmenů a 10 opakování ¹	Párový <i>t</i> -test ²
Z odrůdy Ellett ³	16,0 ± 7,3	–1,902 N.S.
Z ekotypu EKO78 ⁴	20,0 ± 6,3	

¹average of 20 strains and 10 replications; ²paired *t*-test; ³from Ellett cultivar; ⁴from EKO78 ecotype

II. Úspěšnost umělé infekce odnoží různého stáří, provedené inokulem *Acremonium lolii* Ellett u sedmi kmenů jílku vytrvalého – Successful artificial infection of shoot of various age caused by *Acremonium lolii* inoculum from Ellett in seven strains of perennial ryegrass

Odože ¹	Průměr 7 kmenů a 10 opakování ²	Nejmenší průkazný rozdíl ³	
		$P_{0,95}$	$P_{0,99}$
Velmi mladé ⁴	28,6 ± 6,4	6,14	8,61
Středně staré ⁵	22,9 ± 4,5		
Vyzrálé ⁶	15,7 ± 7,3		

¹hyphae; ²average of 7 strains and 10 replications; ³least significant difference; ⁴very young; ⁵medium old; ⁶mature

Úspěšnost inokulace je vyšší v případě, že se jedná o výhony co nejmladší (tab. II) a čerstvé mycelium. Rozdíl mezi úspěšností inokulace starých a středně starých odnoží byl významný ($P_{0,95}$), u starých ve srovnání s velmi mladými odnožemi byl velmi významný ($P_{0,99}$). Rovněž i v tomto případě se prokázaly rozdíly v kombinačních možnostech biotypu *Acremonium* s jednotlivými kmeny jílku vytrvalého (tab. III).

Obsah peraminu v sušině infikovaných kmenů jílku vytrvalého nebyl stejný (tab. III), což svědčí o závislosti vyvážené symbiózy hostitel – endofyt na genetických a negenetických faktorech. Hlubší studium této otázky by bylo účelné, třebaže asi ne zrovna snadné.

III. Úspěšnost umělé infekce odnoží různého stáří, provedené inokulem *Acremonium lolii* Ellett u sedmi kmenů jílku vytrvalého a obsah peraminu v A⁺ rostlinách (ve směsném vzorku rostlin ze tří variant stáří odnoží) – Successful artificial infection of shoot of various age caused by *Acremonium lolii* inoculum from Ellett in seven strains and peramine A⁺ content in plants (in a mixed sample of plants from three stages of hypha age)

Kmen č. ¹	Průměr 3 variant stáří odnoží ²	Nejmenší průkazný rozdíl ³		Obsah peraminu ⁴ [g.g ⁻¹ suš.]
		$P_{0,95}$	$P_{0,99}$	
1	20,0	10,63	14,91	5,28
2	16,7			6,42
3	30,0			8,20
4	26,7			7,86
5	16,7			4,45
6	20,0			4,79
7	26,7			7,37

¹strain no.; ²average of three stages of hypha age; ³least significant difference; ⁴peramine content

Srovnáním výnosu sušiny na rostlinu u A⁻ (v průměru 20 kmenů a 10 opakování 76,1 g) a A⁺ (79,1 g) se sice neprokázal příznivý vliv (LSD_{0,95} = 5,6 g) symbiózy na produkci hmoty (na této lokalitě s nízkou přirozenou zásobou pohotových živin v půdě), ale určitý trend lze zaznamenat. Výnos sušiny kmenů přitom kolísal v širokých mezích (mezi 43,8 a 100,4 g sušiny) a tyto rozdíly byly statisticky významné ($F = 60,77^{**}$).

DISKUSE

Při kultivaci endofytních druhů *Acremonium* se projevovala značná variabilita v rychlosti růstu mycelia. Nezvykle rychlým růstem se vyznačuje pravidelně plíseň dusivá (*Epichloe typhina*). Naproti tomu pro endofytní druhy *Acremonium* (včetně *A. lolii*) je příznačný velice pomalý růst mycelia na všech médiích *in vitro*. Vzhledem k spojitě variabilitě uvnitř rodu *Acremonium* nelze podle prostého sledování rychlosti růstu a utváření sterilního mycelia druh s jistotou určit (White et al., 1993), k tomu je třeba posuzovat i morfologické charakteristiky mycelia *in vitro* a druhově specifickou sporulaci. Živná půda CMA (od firmy Difco Ltd.) podstatně zlepšovala a urychlovala sporulaci. Proto se její použití jeví jako užitečné.

Pokud se šlechtitel rozhodne využít předností symbiózy trávy s endofytní houbou zvláště při tvorbě odrůd pro trávnickové účely či pro jejich budoucí pěstování ve stresových podmínkách, je tu popsán nenáročný a na řadové šlechtitelské stanici proveditelný postup umělé infekce. Vzhledem k fyziologickým omezením není nahodile vytvořená kombinace hostitel – endofyt vždy optimální. Nelze očekávat, že s různými izoláty *Acremonium* je možné nainfikovat tutéž odrůdu či genotyp ve stejném rozsahu (se stejnou úspěšností). Bylo by třeba oprostit výběr komponentů pro symbiózu od nahodilosti a vypracovat taková kritéria, podle nichž by se vytvářely optimální kombinace, skýtající nejen vysoký biologický efekt, ale i předpoklad dlouhodobého trvání.

Chemické stanovení alkaloidů ve šlechtitelských programech není nutné provádět, pokud rostliny jsou prosté endofytů. V nich se žádné alkaloidy netvoří a šlechtitel docela dobře vystačí s ověřením přítomnosti endofytů na základě mikroskopické barvicí techniky. Očekává-li se však od příští odrůdy maximální výkonnost, vitalita ve stresových podmínkách (zvláště v extrémním suchu) a vytrvalost, potenciální obsah alkaloidů určitého typu a biologických účinků je třeba hodnotit exaktními chemickými metodami. Na jejich

základě lze zatím nejspolehlivěji vyhodnotit optimální kombinace hostitelské rostliny s biotypy endofyta. Pokud se bude jednat o pící odrůdu, je třeba minimalizovat obsah alkaloidů s toxickými účinky na zvíře – býložravce, především lolinů a námelových alkaloidů (Kalač, Míka, 1988). Obsah peraminu bude v tomto případě vcelku indiferentní, resp. užitečný v případě výskytu např. živočišných škůdců, jako je *Oscinella frit*.

Poděkování

Dále autoři děkují za odbornou pomoc v mikrobiologických otázkách a stanovení alkaloidů dr. M. Pfannmollerové z M.-Luther-Universität v Halle/Saale a dr. B. Oldenburgové, FAL Braunschweig, SRN.

Literatura

- BACON, C. W., PORTER, J. K., ROBBINS, J. D., LUTTRELL, E. S. (1977): *Epichloe typhina* from toxic tall fescue grasses. Appl. Environ. Microbiol., 34: 119–125.
- KALAČ, P., MÍKA, V. (1988): Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech. Praha, MZVŽ: 216 s.
- LATCH, G. C. M., CHRISTENSEN, M. J., SAMUELS, G. J. (1984): Five endophytes of *Lolium* and *Festuca* in New Zealand. Mycotaxon, XX: 535–550.
- SIEGEL, M. R., VARNEY, D. R., JOHNSON, M. C., NESMITH, W. C., BUCKNER, R. C., BUSH, L. P., BURRUS II, P. B., HARDISON, J. R. (1984): A fungal endophyte of tall fescue: evaluation of control methods. Phytopathology, 74: 937–941.
- TAPPER, M. R., ROWAN, D. D., LATCH, G. C. M. (1989): Detection and measurement of the alkaloid peramine in endophyte infected grasses. J. Chromatogr., 463: 133–138.
- WHITE Jr, J. F., MORGAN-JONES, G., MORROW, A. C. (1993): Taxonomy, life cycle, reproduction and detection of *Acremonium endophytes*. Agriculture, Ecosyst. Environm., 44: 13–38.

Došlo 14. 2. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Václav Míka, DrSc., ÚZPI Praha – Výzkumná stanice travních ekosystémů
K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko, Česká republika
tel.: 00 420 462 95175, 00 420 361 253044, fax: 00 420 361 253043

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

ANALÝZA OBILEK DIALELNÍCH KŘÍŽENCŮ GENERACE F₂ SLADOVNICKÝCH ODRŮD JEČMENE JARNÍHO*

Oldřich CHLOUPEK, René ŠEVČÍK¹, Vratislav PSOTA²,
Jaroslava EHRENBARGEROVÁ

Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno; ¹Central Control and Testing Institute for Agriculture, Brno; ²Research Institute of Brewing and Malting, Brno, Czech Republic

V roce 1995 jsme hodnotili kompletní sestavu dialelních kříženců (bez recipro-
kých), pěstovaných ve Šlechtitelské stanici v Branišovicích a v Plant Select Hrubčice.
Sestava vznikla křížením kvalitních sladovnických odrůd Akcent, Alexis, Forum, Ru-
bín a BR 4148.

V tomto meteorologicky nepříznivém roce, charakterizovaném vysokými srážkami
a teplotami během „plnění“ zrn, dosáhla koncentrace dusíkatých látek v sušině obiliek
na uvedených stanicích v průměru dialelních kříženců 16,9 a 14,4 %. Jednalo se tedy
o netypický ročník, ale ani takovým se nelze při šlechtění vyhnout.

Analýza variance (tab. I) prokázala, že jediným významným zdrojem proměnlivos-
ti pro koncentraci dusíkatých látek a škrobu byly lokality pěstování hybridů. Tomu
odpovídá i nízký podíl genetické variability na variabilitě celkové, tj. heritabilita
v širším smyslu. U koncentrace dusíkatých látek a škrobu byla totiž nižší (3,3 a 4,5 %) než u koncentrace β -glukanů (44,8 %). Těsná negativní korelace mezi koncentrací
dusíkatých látek a škrobu ($r^2 = 0,797^{**}$) ulehčila výběr pro další křížení. Tyto cha-
rakteristiky nespojují s koncentrací β -glukanů.

I. Analýza variance pro koncentraci proteinu, škrobu a β -glukanů vyjádřená hodnotou vari-
ance

Příčina proměnlivosti	df	Protein	Škrob	β -glukany
Hybridy	9	1,070	1,702	0,0439
Lokality	1	30,258**	34,322**	0,0228
Zbytek	9	1,178	1,805	0,0314

* Práce vznikla za podpory grantu GA ČR 506/94/0356 a spoluprací se šlechtiteli Morstar Branišovice a Plant Select Hrubčice.

Nejnižší koncentrace dusíkatých látek a nejvyšší koncentrace škrobu byla nalezena v křížencích s Rubínem (15,32 % proti průměrné hodnotě všech ostatních kříženců 15,85 %, resp. 56,92 a 55,95 %). Nejnižší koncentrace β -glukanů byla nalezena v křížencích s odrůdou Forum (3,33 %) ve srovnání s průměrnou hodnotou všech ostatních kříženců (3,58 %). Tyto rozdíly však nebyly statisticky významné.

Efekty obecné kombinační schopnosti pro snižování koncentrace proteinu a zvyšování koncentrace škrobu na obou stanicích tedy vykazala odrůda Rubín (-0,20 a +0,52 %, resp. -0,44 a +0,65 %). Záporné efekty pro obsah β -glukanů vykazala odrůda Forum (-0,11 a -0,19 %). Vyšší však byl vliv neaditivních genových účinků.

U kříženců pěstovaných na lokalitě Branišovice, které byly charakterizovány zvláště vysokým obsahem dusíkatých látek, činily efekty specifické kombinační schopnosti (SCA) u hybridů Alexis x Forum -2,03 %, Akcent x Rubín -1,83 %, na lokalitě Hrubčice u hybridů Alexis x BR 4148 a Rubín x Forum v obou případech -0,76 %. V křížencích z lokality Branišovice, u nichž činil průměrný obsah škrobu 55,03 %, byl efekt SCA u hybridu Akcent x Rubín +1,88 %, u hybridu Alexis x Forum +1,93 %, v křížencích z lokality Hrubčice u hybridu Alexis x BR 4148 +1,22 %. Pro obsah β -glukanů činily stejné efekty v křížencích z lokality Branišovice pro hybridy Alexis x Rubín -0,12 % a pro hybridy z lokality Hrubčice (Akcent x Alexis) -0,16 %.

Analysis of F₂ Diallel Crosses between Malting Barley Varieties

Complete set of diallel crosses without reciprocals of varieties Akcent, Alexis, Forum, Rubín and BR 4148 was evaluated in two locations in 1995. The year was unfavourable from breeding aspects, characterized by mean protein content of 16.9% and 14.4% in the two locations, respectively. Percentage of genetical variance in the total variance was very low for protein and starch content (3.3 and 4.5, resp.) in comparison with the percentage for β -glucans (44.8). The variety Rubín decreased content of protein and increased content of starch in its progeny and similarly the variety Forum decreased the content of β -glucans in both locations.

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita,
613 00 Brno, Česká republika
tel.: 00 420 5 4513 3302, fax: 00 42 5 542 111 28, e-mail: chloupek@poko.vszbr.cz

INFORMACE

ZÁKON O ODRŮDÁCH, OSIVU A SADBĚ

Dne 15. března 1996 přijal parlament České republiky Zákon č. 92 Sb. o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin. Zákon je kompatibilní s právními předpisy Evropské unie a tak zabezpečuje nejen obdobnou legislativu, ale i využití odrůd a obchod s osivem a sadbou. Nabyl účinnosti 1. července 1996. V tomto výkladu podávám zjednodušené vysvětlení, které nemá právní závaznost, neboť ta je pouze v pravomoci parlamentu nebo soudu.

Do oběhu (na trh) se podle tohoto zákona smí uvádět u hospodářsky významných druhů jen osivo a sadba **základní** či **certifikovaná**, u zelenin a léčivých rostlin i osivo a sadba **standardní** (§ 21). Hospodářsky významné druhy jsou uvedeny v příloze 1 k tomuto zákonu a patří sem 87 druhů (7 druhů obilovin, 9 luskovin, 3 olejnin, 2 okopanin, 5 technických plodin, 2 jetelovin, 17 trav, 1 meziplovin, 4 léčivých a kořeninových rostlin, 20 zelenin a 17 ovocných druhů). Ve skutečnosti je jich však ještě více, poněvadž je zde např. uvedeno *Trifolium* (jetel). U ostatních druhů se mimo uváděné kategorie smí uvádět na trh i tzv. **obchodní** osivo, které musí být zdravé a druhově pravé a náležet jednotně ozimé nebo jarní formě. U obchodního osiva smí být uveden název odrůdy jen, jedná-li se o odrůdu **registrovanou**, **chráněnou**, nebo je-li její popis, jenž ji odlišuje od jiných odrůd daného druhu, uložen u Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (dále jen ústav).

Pro identifikaci odrůd je nutná jejich **registrace**, která je možná u všech druhů, i u méně významných (§ 5). Registrována však může být jen odrůda (§ 7), která je odlišná od jiných, je uniformní, stálá a má zajištěné udržování. U druhů uvedených v druhovém seznamu, s výjimkou zelenin, ovocných a okrasných druhů, je další podmínkou registrace tzv. užitná hodnota. Zákon stanoví ve shodě s evropským odrůdovým právem, že odrůda má užitnou hodnotu, představuje-li podle pokusů prováděných ústavem souhrnem svých vlastností alespoň v některé pěstitelsky významné oblasti České republiky jasný přínos proti jiným registrovaným odrůdám. Odrůda je odlišná, pokud se projevem geneticky kontrolovaných znaků liší od jiných odrůd našich či od odrůd ve smluvní zemi (například Evropské unii). Uniformita je dána nízkým podílem odlišných typů rostlin a je předpokladem odlišitelnosti. Stálost je projev charakteristických znaků ve všech generacích. Udržování odrůdy může být ústavem přezkoumáváno již během registračního řízení i po celou dobu registrace, tj. deset let (§ 15). Po uplynutí této doby je možné požádat o prodloužení doby registrace. Registrované odrůdy se zapisují do Státní odrůdové knihy včetně udržovatele a struč-

ného popisu. Ústav každoročně vydává seznam všech registrovaných odrůd. Ze Státní odrůdové knihy může být registrovaná odrůda vymazána i dříve než za deset let, pokud ztratí užitnou hodnotu, uniformitu či stálost, nebo pokud ohrožuje zdraví lidí, zvířat, rostlin či životní prostředí. Rovněž takové udržování odrůdy, které nezabezpečuje udržení vlastností, které vedly k její registraci, může být důvodem ke zrušení registrace a k výmazu ze Státní odrůdové knihy (§ 16).

Registrované odrůdy se u nejdůležitějších druhů, uvedených v příloze 2, zkoušejí pro Seznam doporučených odrůd. Dosud však není stanoveno, jak bude toto zkoušení zabezpečeno, zejména u těch druhů, které nejsou ve středu zájmu zpracovatelského průmyslu. Pro pěstitele jsou však výsledky zkoušek pro Seznam doporučených odrůd důležitou informací. Tento seznam tedy bude vydáván pro pšenici, žito, ječmen, oves, kukuřici, hrách, fazol, bob, řepku, slunečnici, cukrovku, brambory, vinnou révu, jablono, hrušeň, slivoň, třešeň, višne, meruňku, broskvoň, cibuli, mrkev a zelí, tj. pro 23 druhů. Po celou dobu zápisu odrůdy do Seznamu doporučených odrůd pokračuje její zkoušení. Také tento seznam se každoročně zveřejňuje.

Zákon rozlišuje tyto kategorie osiva a sadby (§ 2):

1. **Základní** (jen u registrované odrůdy) je produkováno udržovatelem odrůdy, nebo pod jeho dohledem pomocí udržovacího šlechtění; tento stupeň musí být uznaný ústavem.
2. **Certifikované** vzniká bezprostředně ze základního nebo i certifikovaného a musí být uznáno ústavem.
3. **Standardní** (také jen u registrovaných odrůd) podléhá následné kontrole (tj. kontrole osiva či sadby, nemusí se tedy uznávat v porostu).
4. **Obchodní** osivo a sadba nemusí splňovat uvedená kritéria, tzn. jako obchodní osivo může být nabízeno i osivo či sadba neregistrovaných odrůd, nemusí být znám genetický původ osiva a ani nemusí být uznané.

Uznávání množitelských porostů a osiva a sadby je v kompetenci ústavu. Uznávají se porosty (§ 22) sloužící k výrobě **základního** nebo **certifikovaného** osiva a sadby a bezprostředně následující generace. Osivo a sadba se uznávají z odebraného vzorku. Ministerstvo zemědělství stanoví vyhláškou minimální požadavky na uznání porostů i osiva a sadby. Již zákonem (§ 22) jsou však stanoveny uzavřené oblasti pro výrobu **základní** sadby brambor, kde lze pěstovat brambory výhradně jen ze **základní** nebo **certifikované** sadby, tzn. s nízkým výskytem chorob a škůdců. Ústav je oprávněn přezkoumávat odrůdovou pravost, čistotu a zdravotní stav uznaného osiva a sadby, uvedených do oběhu. Pokud nesplňují stanovené požadavky, zruší uznání a zakáže uvádění do oběhu.

Základní, certifikované a standardní osivo a sadba uváděné do oběhu musí nést označení druhu a odrůdy. Ze zahraničí se může dovážet **základní a certifikované** osivo a sadba jen tehdy, jestliže byly v zemi původu v těchto stupních uznány. Do

oběhu mohou být osivo a sadba uváděny jen v takových obalech, které zamezují záměnu obsahu (§ 28). Zákaz klamání stanoví, že osivo a sadba nesmějí být uváděny do oběhu s nepravdivými, neúplnými, přehnanými či jinak klamajícími údaji. Záruční doba je u jednoletých druhů jeden rok, u víceletých končí jeden rok po dosažení vývojového stadia potřebného k určení pravosti odrůdy. Pokuty ve výši 0,2 až 1 mil. Kč se udělí za ztěžování či maření kontrol, za uvedení osiva a sadby do oběhu, když to není dovoleno, za nevedení záznamů podle zákona, za neuchování vzorků, za nevyhovující balení, za pěstování brambor z neuznané sadby v uzavřené oblasti aj.

Z prováděcí vyhlášky č. 191/96 Sb. uvádím alespoň ustanovení týkající se počtu generací a označování kategorií osiva a sadby.

Maximální počet generací v kategoriích osiva a sadby u některých druhů:

plodiny	základní	certifikované
obiloviny	4	2
kukuřice	1	1
luskoviny	4	2
olejnin a prádlné rostliny: len	4	2
ostatní	2	2
jeteloviny a trávy	3	1
řepa	1	1
brambory	3	2
ovocné dřeviny, réva, chmel	2	2
zeleniny: fazole, hrách	3	2
česnek, kořeninové	2	2
ostatní	1	2
květiny	1	1

Barva návěšek podle kategorií osiva a sadby:

kategorie	označení	barva návěšky
základní	SE 1, SE 2, SE 3 (tj. superelita)	bílá s fialovým pruhem
	E (elita)	bílá
certifikované	C 1 nebo hybridní osivo	modrá
	C 2	červená
standardní	S	tmavě žlutá
obchodní	O	hnědá

Některé praktické zkušenosti

Praktické zkušenosti s novým zákonem již vedly k veřejné kritice některých jeho částí. Je kritizováno, že ústav jako správní úřad nesmí zveřejňovat výsledky pokusů s odrůdami, které ještě nebyly registrovány a teprve čekají na správní rozhodnutí o registraci. Je to bolestné pro ty, kteří byli v minulosti zvyklí na průběžné zveřejňování výsledků Státní odrůdových zkoušek. Důvodem je, že správní úřad nesmí porušit princip důvěrnosti a smí sdělovat úřední zjištění v ještě neukončeném řízení výhradně účastníkovi řízení. Tato důvěrnost je ostatně uplatňována i ve významných zemích Evropské unie, např. v Německu.

Do oběhu může být uváděno obchodní osivo s názvem odrůdy, pokud je u ústavu uložen její popis (§ 25, odst. 2). Pro řadu okrasných rostlin však nejsou k dispozici klasifikátory. Zákon také nestanovil podmínky dovozu osiva, sadby a školkařského materiálu pro předstihové množení odrůd, u kterých probíhá registrační řízení.

Za úvahu stojí i možnost certifikace nižších stupňů osiva a sadby semenářskými organizacemi, při níž by byl ústav povinován superkontrolou a vegetačními zkouškami, jak se také v EU ověřuje. Vedlo by to ke zrychlení uznávacího řízení (což je důležité zejména u ozimů, které se vysévají brzy po sklizni), ke zlevnění semenářství a k pocitu vyšší zodpovědnosti semenářských organizací.

Uznávání zřejmě nemusí podléhat rodičovské komponenty hybridů, pokud nejsou přímo uváděny do oběhu. Doporučoval bych také možnost přípravy uznaného osiva i ze zamítnutého porostu, pokud se jedná o odstranitelnou závadu (např. vyšší počet plevelů).

*Prof. Oldřich Chloupek, DrSc.,
Mendelova zemědělská a lesnická univerzita,
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika*

The Plant Variety and Seed Act

The Parliament of the Czech republic recently accepted the law No. 92/1996 Sb. "On varieties and seeds of cultivated plants, which went into force on 1st of July 1996. It replaces the law No. 61/1964 Sb. "On the development of plant production, which was not compatible with market economy and with EU-regulations concerning seeds and plant varieties. The new law is fully compatible with EU-regulations. According to it, variety registration in the National Variety List, inspection of multiplication fields and seed certification are official acts, the responsible office is the "Central Institute for Control and Testing in Agriculture (ÚKZÚZ). As in the EU, the law distinguishes four principal marketable categories of plant propagation material (seed), i.e. basic, certified, standard and commercial. The law gives in its annex a "List of Species, i.e. a list of economically important plant species, whose propagation material shall not be put on the market unless it belongs to an officially registered variety and is either officially tested and certified, or, in the case of vegetables or medicinal plants, is standard seed (i.e. not officially certified, but subject to official aftercontrol). Varieties of any species of the plant kingdom are eligible for registration, if the variety is maintained, if official tests have proven it's distinctness, uniformity and stability, and, in case the variety belongs to a species in the List of Species and is not a vegetable, it has an officially tested satisfactory value for use and cultivation (VUC). In accordance with the EC regulation 70/457/EEC, a variety is considered to have satisfactory VUC, if it represents a clear improvement compared with other registered varieties in at least one important growing region. Seed of plants not mentioned in the List of Species may be marketed as basic, certified, or standard seed, if it belongs to an officially registered variety, or as commercial seed, if it does not belong to a registered variety. Commercial seed may carry a variety denomination only, if the variety is officially registered or plant breeders rights to it have been granted or if the description of the variety is deposited at the office (the office is not responsible for the content of the description, it only keeps it available). The new law enables also the establishment of officially recognised Recommended Variety Lists for the most important crops (out of registered varieties), if a suitable testing institution follows testing and evaluation guidelines specified by the Ministry of Agriculture and is authorised by the ministry to publish such lists. However, the testing for the Recommended List is not performed or paid by the office.

Summary by Erik Schwarzbach



COST
European Cooperation
on Scientific and
Technical Research

RICP
Research Institute
of Crop Production
Prague - Ruzyně



The organizing committee from COST action 817 looks forward to your participation in the conferences

**"APPROACHES TO IMPROVING DISEASE RESISTANCE TO MEET
FUTURE NEEDS: Airborne pathogens of wheat and barley"**

11-13 November 1997, Prague, Czech Republic

The preliminary schedule of the conference:

November 11 – afternoon: Opening of the conference
Relevance of virulence survey for practical breeders
November 12 – morning: Deployment of race specific resistance
afternoon: Breeding strategies for partial resistance
November 13 – morning: How to assess level of partial resistance
Closing of conference

Session will be opened by invited speakers.

Accommodation: Single room – Price 750 Kč/night
Double room – 500 Kč/night/bed

Registration fee: 250 DEM

The registration fee includes Proceedings (containing abstracts of all papers and posters) and the Conference Dinner

Deadline for preliminary registration is 31 May 1997. Those who submit the preliminary registration form will receive detailed information on the programme and the final registration form during June 1997.

Official language of the conference is English.

The preliminary registration form, as well as all correspondence should be addressed to:

Renata Hanušová
Research Institute of Crop Production
CZ-161 06 Prague 6-Ruzyně

Phone: 00 420 2 360 851
Fax: 00 420 2 365 228
E-mail: hanusova@genbank.vurv.cz

Organizing committee: Renata Hanušová, Pavel Bartoš – Czech Republic
Rosemary Bayles – United Kingdom
Rients E. Niks – The Netherlands

PŘEHLEDY

TRANSGENY PRO ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN

Miloš ONDŘEJ

Ústav molekulární biologie rostlin Akademie věd České republiky,
České Budějovice, Česká republika

Transgenoze je termín, který označuje vnášení jednotlivých klonovaných genů do eukaryontního genomu. Bylo třeba použít jiný termín než transformace u bakterií, protože termín transformace u živočišných buněk již byl vyhrazen pro nádorovou transformaci. Někdy se však přesto používá pojem transformace i pro vnášení genů do eukaryont.

Transgenoze rostlinného genomu bakteriemi *Agrobacterium tumefaciens* nebo přímým vnesením DNA se stává nástrojem tvorby nových odrůd. Geny vnesené do genomu rostlin z příbuzných i zcela nepříbuzných genomů především zvyšují rezistenci k různým biotickým i abiotickým faktorům, ale podmiňují i řadu nových zajímavých vlastností. Zcela zvláštní, ale již dosti rozvětvenou skupinu tvoří transgenní rostliny, které produkují specifické nové produkty, použitelné především ve farmakologii. Zdá se, že rostliny budou v nedaleké budoucnosti také producenty biodegradovatelných polymerů. Nejrozšířenější transgenní kulturní rostlinou se proti původnímu očekávání stala řepka olejná. Za ní následují tabák, rajče a řada dalších kulturních rostlin. Jsou mezi nimi i jednoděložné rostliny, především kukuřice, rýže, ale také pšenice a další obilniny. Řada transgenních rostlin bude vyžadovat nové technologie pěstování, které budou mít mnohem blíže k udržovacímu šlechtění než k dnešnímu zemědělství.

Budou uvedeny jednotlivé typy transgenů již využívaných nebo využitelných ve šlechtění rostlin. Transgenům, jež se využívají nově, bude věnováno více pozornosti než déle používaným a dobře známým transgenům.

Rezistence k herbicidům

Herbicid zpravidla působí toxicky na jediný enzym, významný pro život rostlin. Existují tři hlavní mechanismy navození rezistence rostlin k herbicidům transgenozi:

1. Transgen kóduje nadbytek enzymu, který je inaktivován herbicidem.
2. Transgen kóduje odlišnou formu enzymu, která není herbicidem inaktivována.
3. Transgen kóduje enzym, který rozkládá herbicid.

V současné době existují transgeny, které podmiňují rezistenci k řadě typů herbicidů, ale nejvíce jsou rozšířeny transgeny dvou typů:

1. Transgeny pro rezistenci ke glyfosátu. Glyfosát blokuje aktivitu enzymu, který zprostředkovává syntézu aromatických aminokyselin (fenylalanin, tryptofan, tyrosin). Podstatou rezistence dodané transgenem je nadprodukce enzymu nebo tvorba odlišného enzymu.

2. Transgeny pro rezistenci k herbicidům typu fosfinotricinu. Herbicid blokuje enzym glutaminsyntasu. Ta detoxikuje amoniové ionty vzniklé redukcí dusičnanů, degradací aminonokyselin a dalšími cestami. Transgen pochází z genomu aktinomyce *Streptomyces hygroscopicus* a jím kódovaný enzym fosfinotricinacetyltransferasa detoxikuje herbicid.

Mechanismy působení těchto transgenů byly již popsány (Ondřej, 1992). Transgeny pro rezistenci k herbicidům byly včleněny do nových odrůd kulturních rostlin, u nichž některé se již v zahraničí velkoplošně pěstují. Tato problematika bude vzhledem ke svému významu samostatně pojednána v dalším přehledném článku.

Transgeny pro rezistenci ke škůdcům

Využití genu pro delta endotoxin *Bacillus thuringiensis* jako transgenu pro navození rezistence rostlin k hmyzím škůdcům je známý systém, který byl poprvé využit již asi před deseti lety. V poslední době byla jeho účinnost podstatně zvýšena a spektrum hmyzích řádů, na které působí, podstatně rozšířeno (Coleoptera, Lepidoptera, Diptera). Jednotlivé poddruhy a kmeny produkují proteiny s různým spektrem citlivých hmyzích taxonů. Geny pro tyto proteiny byly klonovány a prostřednictvím T-DNA včleněny do rostlinného genomu. Pro zvýšení účinnosti se používaly zkrácené varianty proteinu. Jejich účinnost byla i tak obvykle dosti nízká. Příčinou byla především nestabilita mRNA v rostlinných buňkách. Původní geny byly proto modifikovány. Gen pro delta endotoxin z *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* byl syntetizován znovu tak, aby při zachování struktury výsledného proteinu bylo využito degenerovaných kodonů, vyskytujících se v rostlinném genomu nejčastěji. Takovýto gen byl vnesen do genomu bramboru a byla zjištěna vysoká rezistence k mandelince bramborové. Byla zjištěna vysoká účinnost upraveného genu (Adang et al., 1993; Perlak et al., 1993). Transgenní brambory jsou odolné k mandelince bramborové, jejich výnosové a jakostní parametry zůstávají stejné a mikrobiální populace na transgenních rostlinách se jen nepatrně liší od těch, které byly nalezeny na standardních odrůdách (Donegan et al., 1996). U tabáku bylo publikováno další podstatné zvýšení proporce delta-endotoxinu v proteinech listů, jestliže byl protein směřován do chloroplastů (McBride et al., 1995). To je nový směr dalšího zvýšení účinnosti tohoto transgenu. Transgeny pro delta-endotoxin

byly zavedeny také do genomu sóji (Parrott et al., 1995), rajčete (Rhim et al., 1995), brokolice (Metz et al., 1995), bavlníku a dalších kulturních rostlin, kde poskytují účinnou ochranu proti hmyzím škůdcům. Obdobně byl upraven také gen pro rezistenci k motýlím škůdcům, pro delta-endotoxin cryIA(b) *B. thuringiensis*, který se přenášel do genomu rýže se sekvencí bázi v kódujícím úseku upravenou tak, aby poskytoval maximální expresi v genomu rýže (Fujimoto et al., 1993).

Do rostlinného genomu byly vpraveny také geny, jejichž proteiny podmiňují blokádu některých enzymů trávicího traktu hmyzu a to vede k jeho uhynutí. Existují například rostliny hrachu, které nesou transgen pro inhibitor alfa-amylasy (Shade et al., 1994), nebo rostliny s geny pro inhibitory proteas (Leplé et al., 1995). Některé z těchto genů pro inhibitory proteas pocházejí z genomu lyšaje *Manduca sexta* (Thomas et al., 1995), který napadá tabák. Transgenní tabák s genem pro delta endotoxin *B. thuringiensis* je právě toxický pro lyšaje *Manduca sexta*. Někdy transgen aktivuje geny přítomné v rostlině pro inhibitory proteas, jako transgen kódující prosystemin (proteinový signál poranění) v genomu rajčete (McGurl et al., 1994). Rovněž gen pro inhibitor chymotrypsinu z tabáku, který patří do skupiny genů pro inhibitory proteasy II, podmiňuje při silné konstitutivní expresi v rostlinách tabáku rezistenci k hmyzím škůdcům (McManus et al., 1994).

Rezistence k virům

Sanford a Johnson (1985) vyslovili hypotézu podle které hostitel, u něhož dochází k expresi určitých sekvencí nukleových kyselin patogena, se může stát rezistentní k tomuto patogenu. Tato koncepce byla poprvé potvrzena Powell-Abel et al. (1996), kteří zjistili rezistenci transgenních rostlin tabáku, v jejichž genomu se projevuje gen pro plášťový protein, k viru tabákové mozaiky. V současné době se projev transgenu pro plášťový protein považuje za obecně působící mechanismus rezistence k odpovídajícímu viru. Rostliny bramboru, které jsou rezistentní k *X* viru bramboru, byly již úspěšně testovány v polních pokusech (Jongedijk et al., 1992).

Nesprávná funkce mutovaných virových genů použitých jako transgeny také všeobecně podmiňuje rezistenci k virům, i když se těchto mechanismů pro navozování rezistence kulturních rostlin zatím pro šlechtění nevyužívá. Například gen pro virovou replikázu viru *Y* bramboru, použitý jako transgen, navozuje rezistenci kulturních rostlin (Audy et al., 1994). Konstitutivní projev genu však vedl ke zpomalení růstu rostlin.

Transgenní rostliny, které mají ve svém genomu konstitutivně přítomny části virové RNA, i takové, jež jsou kratší než gen, jsou rezistentní k infekci tímto virem

pravděpodobně proto, že konstitutivně přítomná část RNA interferuje s normální replikací viru (Smith et al., 1994).

Dlouho se nedařilo získat rezistenci k virům pomocí antisense konstrukcí transgenů. antisense RNA vzniká transkripcí DNA, která je komplementární ke kódující genové sekvenci. V současné době jsou pouze v některých případech pro získání rezistence účinné transgeny kódující antisense RNA k rostlinným virům. Tak je tomu např. u potyvirového viru žluté mozaiky bobu (BYMV) (Hammond, Kamo, 1995), nebo u geminivirového viru zlaté mozaiky rajčete (TGMV) (Day et al., 1991).

Lodge et al. (1993) použili u tabáku a bramboru jako transgen gen pro antivirový protein z *Phytolacca americana*. Tento protein působí rezistenci k virovým infekcím obecně.

V poslední době byl klonován z genomu tabáku gen *N* pro rezistenci k viru tabákové mozaiky (Whitham et al., 1994).

Truve et al. (1993) popsali transgenní rostliny bramboru, které ve svém genomu mají krysí gen pro 2-5 oligoadenylát synthetasu a které jsou rezistentní k *X* viru bramboru více než transgenní rostliny s genem pro plášťový protein tohoto viru. Enzym úzce souvisí s interferonovým systémem savců. Interferony jsou specifické proteiny, vylučované savčími buňkami při virové infekci, při proliferaci buněk a imunitních procesech. Indukují syntézu dalších proteinů, které vedou k inhibici množení virů. Jedním z těchto proteinů je právě 2-5 oligoadenylát synthetasa. Tento enzym je aktivován dvojvláknovou RNA, která je intermediátem replikace virů. Enzym polymerizuje ATP na sérii 2-5 oligoadenylátů. Ty aktivují latentní endoribunkleasu (RNasaL), která degraduje virovou, ale také buněčnou RNA a je pak sama degradována buněčnou 2-fosfodiesterasou. U rostlin je tento systém také a vnesení genu pro 2-5 oligoadenylát synthetasu zvyšuje rezistenci bramboru k *X* viru bramboru a měla by obecně zvyšovat rezistenci rostlin k RNA virům.

Rezistence k bakteriálním a houbovým chorobám

Transgeny, které kódují chitinasy, zvyšují rezistenci rostlin k houbovým chorobám. V polních pokusech již byly testovány rostliny řepky olejné s transgenem pro chitinasu, které vykazují zvýšenou odolnost k různým houbovým patogenům, jako je *Cylindrosporium concentricum*, *Phoma ingram*, *Sclerotinia sclerotinium* (Grierson et al., 1996). Transgeny pro glukanasu zesilují účinek transgenů pro chitinasy (Melchers et al., 1993; Zhu et al., 1994).

Existuje ještě řada dalších mechanismů rezistence k bakteriálním a houbovým chorobám, navozených transgenozí. Jedním z nich je využití transgenů pro lysozym z bakteriofága T4, který narušuje buněčné stěny bakterií. V genomu bramboru působí vysoký stupeň rezistence k *Erwinia carotovora* (Düring et al., 1993).

Účinné jsou také transgeny pro některé obranné toxické proteiny jiných rostlinných druhů. Například exprese genu pro thionin ječmene v genomu tabáku vede ke zvýšení rezistence k bakteriálním patogenům (Carmona et al., 1993). Transgen pro rezistenci k tabtoxinu z *Pseudomonas syringae* patovar *tabaci* působí rezistenci tabáku k uvedenému bakteriálnímu patogenu (Anzai et al., 1989). Živočišný gen pro laktoferin, což je protein vyskytující se v mléce, glykoprotein, který váže železo, v genomu tabáku rovněž působí vysoký stupeň rezistence k bakteriálním patogenům a tato rezistence bude pravděpodobně mít obecný charakter (Mitra, Zhang, 1994). Již dlouhou dobu se pracuje na využití genů pro antibakteriální proteiny hmyzí hemolymfy lysozymů, attacinů a cecropinů pro dosažení rezistence bramboru k bakteriálním patogenům (Jaynes et al., 1987).

Transgen pro protein, který inaktivuje ribosomy z ječmene, působí zvýšení rezistence k houbovým patogenům u tabáku (Logeman et al., 1992). Gen proti houbovým chorobám ve svém vlastním genomu a v genomu bramboru (osmotin) a tabáku s konstitutivním promotorem 35S působil zvýšení rezistence (Kashchandra et al., 1994).

Složení zásobních látek rostlin

Pod tímto pojmem bude v dalším textu pojednáno o zásobních olejích a zásobních proteinech semen, ale také o škrobu v bramborových hlízách a zde účelově i o ligninu. Syntézu všech uvedených typů makromolekul lze v současné době účinně modifikovat transgenozi a všechny pozitivní změny mají obrovský význam pro výživu, krmivářství nebo průmysl.

Klonování genů, zvláště z *Arabidopsis thaliana*, umožnilo poznat genetické založení biosyntézy a mechanismu ukládání lipidů. Má to praktický význam jednak proto, že transgenoze umožňuje navozování změn spektra mastných kyselin v olejích kulturních rostlin, a jednak proto, že membránové lipidy ovlivňují toleranci k nízkým teplotám (Gibson et al., 1994), účinnost fotosyntézy, procesy hydratace a dehydratace pylu a toleranci k suchu. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem se účastní při zrání plodů, senescenci květů, klíčení pylu, klíčení semen, růstu axilárních pupenů a dalších procesech. Lipidy jsou prekurzory kyseliny jasmonové, která zprostředkovává přenos signálu v rostlinách (Gibson et al., 1994).

Byla již klonována celá řada rostlinných genů, které se účastní při biosyntéze lipidů. Většina z nich byla použita při experimentech s transgenozi. Zde si povšimneme především těch transgenů, které byly využity pro navození změn spektra olejů semen olejodárných rostlin, především řepky olejné. V pokusech bylo využito nejen rostlinných, ale i živočišných a bakteriálních genů.

Světová roční produkce rostlinných olejů představuje 60 mil. tun a hodnota těchto olejů činí asi 20 mld. dolarů (Battley et al., 1989). Spotřeba rostlinných olejů

stoupá. V roce 2010 se předpokládá spotřeba asi 100 mil. tun a hodnota 70 mld. dolarů. Hlavní čtyři kulturní rostliny pro produkci olejů jsou sója, olejová palma, řepka olejná a slunečnice. Oleje slouží jednak k přímé konzumaci člověkem a zkrmování zvířaty (asi dvě třetiny), jednak pro různé průmyslové využití. Ve všech případech je podstatné složení mastných kyselin v olejích.

V jedlých olejích převažují mastné kyseliny, které mají 18 uhlíků a 2–3 dvojně vazby. Kyseliny olejové se obvykle charakterizují poměrem (např. 18 : 2), v němž první číslo udává počet uhlíků a druhé počet dvojných vazeb v molekule. Převažuje sedm hlavních typů mastných kyselin, které tvoří celkem 95 % obsahu jedlých olejů: kyselina palmitová (16 : 0), stearová (18 : 0), olejová (18 : 1), linolová (18 : 2), linolenová (18 : 3), eikosnová (20 : 1) a eruková (22 : 1). Rostlinné oleje mají obvykle formu triglycerolů, v nichž tři mastné kyseliny jsou esterifikovány třemi hydroxylovými zbytky. Základní výstavba mastných kyselin se děje v chloroplastech, kde dochází ke skládání jednotek obsahujících dva uhlíky do řetězců obsahujících 16–18 uhlíků.

Potravinářské oleje by měly mít co nejnížší obsah nenasycených mastných kyselin. Řepka olejná má přes 60 % mastných kyselin 20 : 1 a 22 : 1. V současné době je hlavní olejninou právě řepka olejná a hlavním cílem šlechtění a genetického inženýrství je snížení obsahu kyseliny erukové, snížení obsahu kyseliny linolenové a případně produkce kyseliny gama-linolenové. Tato mastná kyselina má řadu příznivých somatických účinků, především snižování hypercholesterolemie a dalších klinických poruch, které vedou ke koronárním a cévním onemocněním. Kromě toho působí ústup atopického exému u dětí, ústup alergií a zmiřování periodických obtíží žen. Olej s vysokým obsahem této mastné kyseliny se získává ze semen pupalky, brutnáku nebo černého rybízu a prodává se jako velmi drahý komerční farmakologický produkt. Kyselina gama-linolenová není obsažena v oleji semen řepky, je tam však kyselina linolenová, která může být přeměněna na gama-linolenovou prostřednictvím enzymu delta-6-desaturasy. Gen pro tento enzym byl zatím klonován z genomu sinice *Synechocystis* a upravený přenesen do genomu tabáku, kde docházelo v semenech k syntéze kyseliny gama-linolenové (Reddy, Thomas, 1996).

Jiný šlechtitelský cíl je snížení obsahu kyseliny erukové. Bylo toho dosaženo i tradičním šlechtěním řepky olejné. V USA se pěstuje řepka, která má velmi nízký obsah kyseliny erukové.

Existuje již celá řada typů a linií transgenních rostlin řepky se změněným spektrem mastných kyselin v olejích semen nejen pro potravinářské, ale i pro průmyslové využití (Murphy, 1996).

Dvě prozatím nejpozoruhodnější linie s modifikací poměru mastných kyselin v olejích semen byly uvedeny do polních pokusů v roce 1993/94 firmou Calgene.

Řepka obsahuje v olejích semen 1–2 % kyseliny stearové a méně než 0–1 % kyseliny laurové. Existují linie s obsahem 40 % kyseliny stearové a 40 % kyseliny laurové v olejích semen. Odrůda s vysokým obsahem kyseliny laurové byla již v roce 1995 v USA uvolněna pro komerční využití. Jsou i další linie novošlechtění, z nichž každá obsahuje jeden transgen, který mění obsah mastných kyselin v olejích semen. Odrůda s vysokým obsahem kyseliny laurové obsahuje gen pro lauroyl-ACP thioesterasu z genomu jiné rostliny (Völker, 1992). Tento enzym způsobuje předčasné ukončení řetězce a hromadění mastných kyselin C_{12} (kyseliny laurové) místo C_{18} (kyseliny stearové a olejové). Oleje s převahou kyseliny laurové jsou využitelné hlavně pro výrobu mýdel a detergentů, ale také v cukrovinkářských tucích a náhražkách mléka. Odrůda s vysokým obsahem kyseliny stearové obsahuje antisense kopii genu pro stearát desaturasu z řepky. Tato antisense genová konstrukce inhibuje projev genomového genu pro stearát desaturasu, což vede k hromadění olejů s nadbytkem kyseliny stearové, protože je blokována její desaturace na kyselinu olejovou. Olej s vysokým podílem kyseliny stearové je zvláště vhodný pro výrobu margarínu.

Manipulace se spektrem zásobních proteinů semen se provádí se dvěma praktickými cíli:

1. Optimalizace spektra aminokyselin v zásobních proteinech semen. Semena rostlin, zvláště luskovin a obilnin, slouží k potravinářským i krmivářským účelům, ale z hlediska složení aminokyselin nejsou plnohodnotná. Semena luskovin mají nedostatek methioninu a cysteinu, obilninám chybí lysin a methionin. Cílem genových manipulací je doplnit zásobní proteiny semen o typy, které obsahují nadbytek těchto aminokyselin.
2. Ve specifických případech je výhodné, aby byly do genomu vneseny geny pro další proteiny, které by mohly být ukládány podobně jako zásobní proteiny, protože jsou v této formě snadno extrahovatelné a využitelné např. farmakologicky.

Proteiny semen *Brassica napus* jsou významné z hlediska vyváženého, plnohodnotného složení aminokyselin, protože pokrutiny zbylé ze semen řepky po extrakci olejů se používají jako krmivo. Proteiny semen řepky mají nedostatek aminoyselin lysinu a methioninu. Byl klonován gen pro zásobní protein semen z *Bertholletia excelsa* (paraorch). Tento albumin 2S obsahuje vysokou proporci methioninu. Jeho gen, i s původním promotorem, byl vnesen do genomu řepky. V semenech dochází k expresi transgenu a tím ke zlepšení složení aminokyselin v jejich proteinech (Denis et al., 1995).

Stejný gen, ale s promotorem leguminu *Vicia faba*, byl včleněn také do genomu *Vicia narbonensis* a projevoval se v semenech této vikvovité rostliny, v nichž se trojnásobně zvýšil obsah methioninu (Saaibach et al., 1995).

Existuje ještě jiný přístup, jak zvýšit obsah lysinu v semenech řepky – zvýšením biosyntézy aminokyseliny lysinu. Falcó et al. (1995) ve svých pokusech využili pro transgenozi dva bakteriální geny, které kódují enzymy podílející se na biosyntéze lysinu, a to aspartokinasy a syntasy kyseliny dihydropropionové. Tyto bakteriální enzymy jsou na rozdíl od rostlinných téměř inhibovány zpětnou vazbou lysinem. Bylo tím dosaženo pětinasobného zvýšení obsahu lysinu v semenech.

V roce 1994 se podařilo dosáhnout transgenozí změn složení ligninů (Halpin et al., 1994). Do genomu tabáku byla vnesena antisense konstrukce, která inaktivuje geny pro cinnamyl alkoholdehydrogenasu, enzym katalyzující poslední krok biosyntézy prekurzoru ligninu. Lignin byl pak pozměněn ve složení i struktuře a byl přístupnější chemické extrakci. Xylemová pletiva měla červenohnědou barvu. Genová konstrukce vnesená do genomu osiky podmiňuje červenohnědou barvu dřeva jako nový, nábytkářsky dobře využitelný znak podmíněný transgenozí.

Rajčata se zvýšenou trvanlivostí plodu

Vzhledem k tomu, že manipulace polygalakturonasy ve zrajících plodech rajčat již došla praktického uplatnění, budeme tomuto experimentálnímu modelu věnovat zvláštní pozornost. Firmy Zaeneca a Calgene vyvinuly odrůdy rajčat se zvýšenou trvanlivostí plodů. Jsou to první odrůdy transgenních rostlin, které vzbudily značnou pozornost veřejnosti.

Polygalakturonasa je hlavní enzym, který degraduje polygalakturonidy jako komponenty pektinů v buněčné stěně. Tento enzym je u rajčete syntetizován *de novo* na počátku zrání plodů. Enzym je kódován jediným genem (Bird et al., 1988). Jiné polygalakturonasy, které se projevují v pylu nebo v zóně řapíku, jež je významná pro opadávání listů, jsou kódovány odlišnými geny (Gray et al., 1992). Vznikla myšlenka zavést do genomu gen pro antisense RNA k tomuto genu, jehož exprese by měla vést k potlačení aktivity původního genu. Konečným cílem bylo zabránit měknutí dozrávajících plodů. Výsledky pokusů ukázaly podstatnou redukci aktivity polygalakturonasy (Smith et al., 1988). Ačkoli měknutí plodů bylo sníženo jen nevýznamně (Kramer et al., 1993), rajčata získala nečekané nové dobré tržní vlastnosti: zvýšenou viskozitu šťávy plodů, zvýšenou odolnost proti mechanickému poškození a zvýšenou odolnost k posklizňovému napadení houbovými chorobami.

Uvolňování transgenních rajčat do prodeje je však vázáno řadou omezení, která jsou různá v různých zemích. Firma Zaeneca prodává tato rajčata zpracovaná ve formě rajské šťávy a rajského protlaku. Tím se zároveň chrání proti „kapesní selekci“, nekontrolovatelnému využití svého transgenu v dalších odrůdách. Firma Calgene naopak prodává čerstvá rajčata. Jejich uvolnění na trh ve státech EU zatím není

povoleno, prodej konzerv však ano. Konzervy nesou označení, že obsahují potravinu vyrobené z geneticky modifikovaných plodin, jak je to v některých zemích vyžadováno. V liberální Kanadě se prodávají plody a transgenní rajčata jsou dokonce o něco dražší než jiná rajčata, což odpovídá jejich vyšší tržní kvalitě.

Vnesení antisense genu pro polygalakturonasu není jedinným způsobem manipulace zrání rajčat. Jiným způsobem je využití antisense genu posledního enzymu při biosyntéze etylénu pro enzym, který zprostředkovává přeměnu 1-aminocyklopropan-1-karboxylové kyseliny (ACC) na etylen (Hamilton et al., 1990; Oeller et al., 1991). Pak se blokuje celý komplex genů, jež jsou spouštěny pod vlivem etylenu u zralých plodů rajčat. Synchronního dozrání je možné dosáhnout po dopravě na místo prodeje krátkodobým umístěním v uzavřené nádobě, do níž je zaveden etylen.

Pylová sterilita

Praktický význam pylové sterility v klasických šlechtitelských postupech spočívá především v nuceném cizosprášení pro produkci heterózního osiva. Při tvorbě transgenních odrůd je často požadavek, aby transgen nebyl přenášen pylem, tedy požadavek pylové sterility. Pylová sterilita využitelná ve šlechtění (jaderně cytoplasmatický typ s obnoviteli fertility) neexistuje u všech druhů kulturních rostlin a je tedy žádoucí, aby transgenóze přinesla široce využitelné systémy. Takovéto systémy jsou v současné době asi čtyři.

První systém využívá chimérického genu pro barnasu z *Bacillus amyloliquefaciens* (Chen, Nagarajan, 1993). Barnasa je extracelulární vysoce aktivní nukleasa této bakterie, která degraduje jak RNA, tak DNA. Je syntetizována jako neaktivní pre-proenzym, k jehož jedné úpravě dochází při opuštění bakteriální buňky a odstranění signálního peptidu, a potom teprve vně bakteriálních buněk ke druhé úpravě a vzniku aktivního enzymu. V bakteriálních buňkách současně existuje vnitrobuněčný inhibitor, protein barstar, který má 89 aminokyselin. Příslušný gen byl rovněž klonován. Upravený, zkrácený gen pro barnasu (zbavený sekvencí, jež jsou u vzniklého proteinu upravovány) byl zařazen za promotor specifický pro tapetovou vrstvu buněk tabáku (označen *TA29*) a vnesen transgenózi do genomu tabáku a řepky olejné. Tam působil selektivní destrukci tapetových buněk prašníků a následně degeneraci pylových zrn. Stejný vliv měl i chimérický gen pro ribonukleasu *T1* z *Aspergillus oryzae* s promotorem *TA29* (Mariani et al., 1991). Pokud se použije obdobným způsobem v jiné transgenní linii gen *barstar* se stejným promotorem, pak tato linie může působit obdobně jako obnovitel fertility při klasické nukleocytoplasmatické pylové sterilitě (Block, Debrouwer, 1993).

Jaderně podmíněná pylová sterilita byla získána u *Petunia hybrida* blokádou syntézy flavonoidů v prašnicích, která vedla k předčasnému zastavení vývoje pylu.

Bylo toho dosaženo transgenozí jednak antisense genem (Meer et al., 1992) a jednak kosupresí, tedy vnesením transgenu pro chalkonsyntasu, jehož přítomnost vedla k potlačení vlastního genomového genu pro chalkonsyntasu. Tento enzym katalyzuje první krok syntézy prekursorů flavonoidů (Taylor, Jorgensen, 1992). K obnovení fertility byly flavonoidy aplikovány na bliznu nebo jako příměs pylu (Ylsra et al., 1994)

Třetí systém byl použit zatím pouze u tabáku. Pylové sterility tam bylo dosaženo expresí genu *rolC* *Agrobacterium rhizogenes* řízeného promotorem 35S (Schmülling et al., 1988). Exprese genu však vedla i k morforegulačním změnám. Fertilita byla obnovena expresí genu pro antisense RNA u F₁ hybridů (Schmülling et al., 1993).

Čtvrtý systém (Kriete et al., 1996) byl rovněž využit u tabáku. Je to inducibilní systém destrukce specifických rostlinných pletiv. Je založen na aktivitě genového produktu genu *E. coli argE*, který mění netoxickou látku N-acetyl-fosfinothricin na herbicid fosfinothricin. U rostlin, které nesou tento gen, k jehož expresi dochází specificky v tapetálních buňkách prašníků, je tvorba pylu blokována po postřiku rostlin netoxickou koncentrací N-acetyl-fosfinothricinu.

Modifikace barvy květu

Vnášení genů pro nové cesty biosyntézy flavonoidů a antokyanů umožňuje navozovat změny barvy květů. Bylo dosaženo celé řady změn barvy květů, především u *Petunia*. Vnesením genu pro nový enzym biosyntézy antokyanů (dihydroflavonol-4-reduktasu) bylo dosaženo nové (cihlově červené) barvy květů petunie (Meyer et al., 1987). Jiný typ změny květních barviv je vnesení genů pro antisense RNA enzymu pro chalkonsyntasu, který zprostředkovává jeden z prvních kroků biosyntézy anthokyanů. Výsledné zbarvení nebo absence zbarvení květů závisí na expresi transgenu v různých částech květu. Pokud je transgen exprimován jen v některých částech květu, pak jsou tyto části bezbarvé a ostatní barevné. Tím může docházet ke vzniku zajímavých, dekorativních vzorů zbarvení květů (Krool et al., 1990). Bylo ale také zjištěno, že vnesení dalšího genu pro chalkonsyntasu jako transgenu do rostlin, které již gen pro chalkonsyntasu obsahují, může vést ke snížení až k úplné ztrátě exprese původního genu v genomu (Napoli et al., 1990). To je obecný jev u transgenů a existuje několik hypotéz pro jeho vysvětlení.

Modifikace jiných fyziologických vlastností rostlin

Je známo několik typů transgenů, které zvyšují odolnost rostlin k suchu a k nízkým teplotám. Jeden z nich je gen *SacB* z *Bacillus subtilis*. Tento gen kóduje en-

zym levansukrasu, který podmiňuje syntézu a akumulaci fruktanů. Transgen má promotor 35S a jeho kódující sekvence obsahuje navíc signální sekvenci pro přenos enzymů do mitochondrií. Fruktany jsou molekuly polyfruktosy, které jsou produkovány některými bakteriemi a některými rostlinami. Rostlinné fruktany se skládají z 10–200 molekul fruktosy, bakteriální mohou být ještě podstatně větší. Jsou rozpustné, mají schopnost depolymerace a opětne polymerace a tím ovlivňují stabilitu osmotické hodnoty při suchu a při nízkých teplotách. Gen *SacB*, vnesený do genomu tabáku, zvyšuje toleranci k suchu (Pilon-Smith et al., 1995). Zvýšenou odolnost k suchu podmiňuje také vnesení upraveného bakteriálního genu pro cholinehydrogenasu do rostlinného genomu (Lilius et al., 1996). Tento enzym podmiňuje syntézu glycin betainu, což je rovněž osmotikum, které zvyšuje odolnost k suchu. Transgenní tabák je pak schopen růst na médiu s vysokým obsahem chloridu sodného.

Zajímavou skupinu transgenů tvoří geny pro metalothioneiny. To jsou živočišné proteiny, které mají schopnost pevně vázat některé toxické těžké kovy, jako například kadmium, rtuť, olovo. Cílem praktického využití transgenních rostlin s těmito geny je získat rostliny, které by sloužily jako "odpadní koše a čistily půdu při rekvltivacích. Musela by být vyřešena otázka ukládání těžkých kovů v rostlinách, aby nebyly toxické pro samotné rostliny (například v nerozpustné formě ve vakuolách). Dále by musely být vyřešeny otázky jejich likvidace a otázka legislativy uvádění takovýchto transgenních rostlin do prostředí. Samozřejmě by to nemohly být druhy kulturních rostlin, ale možná rostlinné druhy, které u nás nepřežívají zimu. Transgenní rostliny s geny pro proteiny podmiňujícími zvýšenou akumulaci kovů zatím nehromadí těžké kovy dostatečně k tomu, aby bylo možné uvažovat o jejich praktickém využití.

Druhým možným cílem transgenozie je zabránit translokaci těžkých kovů do zelených částí rostlin. Většina rostlin hromadí kadmium v kořenech, ale u salátu, tabáku a některých dalších se kadmium dostává i do listů. Jakýkoli způsob konzumace rostlin pak může nepříznivě ovlivňovat lidské zdraví. Preferenční exprese transgenů pro metalothioneiny v kořenech zdržuje toxické kovy již v kořenech a nedovolí jim hromadit se v požívaných částech rostlin (Elmayen, Tepfer, 1994; Maiti et al., 1988, 1989, 1991).

Příkladem transgenozí navozené fyziologické změny, výhodné ve šlechtění bramboru, může být inhibice tmavnutí mechanicky poškozených částí hlíz při skladování (Bachem et al., 1994). Bylo toho dosaženo vnesením chimérického genu, který místo kódující sekvence obsahoval za promotorem 35S antisense sekvenci pro polyfenoloxidasu. V polních pokusech a následujícím skladování hlíz bramboru bylo zjištěno podstatné snížení tmavnutí hlíz. Transgen jistě najde významné uplatnění i u jiných kulturních rostlin (např. jabloně).

Transgenoze pro nové typy využití rostlin

Vnášení genů pro rostlinné hormony, regulační polypeptidy nebo pro polypeptidy a další látky, které se podílejí na přenosu signálu, navozuje významné diferenciační změny a změny časování vývoje rostlin, z nichž některé mohou být šlechtitelsky využitelné.

Transgenní rostliny mohou produkovat proteiny, které jsou vlastní lidským patogenům napadajícím epiteliální membrány. Jedná se o bakterie a viry způsobující nachlazení, ale také ty, které jsou přenášeny kontaminovanými potravinami nebo pohlavním stykem. Vakciny účinné proti těmto infekcím stimulují mukózní imunitní systém k produkci imunoglobulinů IgA (S-IgA). Tato imunitní odpověď vzniká v buňkách epitelu respiračního a trávicího traktu. K imunizaci dochází po jídání čerstvé zeleniny nebo jiných rostlinných produktů. Transgenní rostliny, u nichž v jedlých pletivech dochází k produkci antigenů, mohou být využívány jako levné "potravinové vakciny. Zatím byly v USA patentovány některé transgeny, využitelné v rostlinách jako vakciny. Prozatím se počítá s jejich využitím v rostlinách banánu (vhodný by jistě pro blízkou budoucnost byl jedlý salát, ředkvičky, mrkev, zelí, rajčata apod.). Jsou to zejména tyto transgeny (Mason, Arntzen, 1995):

1. Protein spaA ze *Streptococcus mutans*. Tato bakterie se vyskytuje v ústní dutině člověka a je hlavní příčinou zubních kazů. V listech transgenního tabáku tvoří uvedený protein asi 0,02 % proteinu listů.

2. Povrchový antigen hepatitis B (HBsAg). Hrubý extrakt listů tabáku obsahuje 0,01 % tohoto proteinu z celkového množství proteinů listů. Byl použit k parenterální imunizaci myši a vyvolával imunitní reakci.

3. Termolabilní enterotoxin B z *E. coli* a podjednotka B toxinu cholery. V zemích třetího světa se občas objevuje nakažlivé průjemové, někdy smrtelné onemocnění, působené některými kmeny *E. coli*. Enterotoxin (LT) z *E. coli* je multimerní protein, který je strukturně, funkčně i antigenními vlastnostmi podobný toxinu cholery (CT). U myši byla prokázána imunogennost transgenních rostlin tabáku a bramboru.

Technologie genových manipulací umožnila zásadní změny potenciálu využití monoklonálních protilátek. Geny pro protilátky mohou být nyní programově měněny. Genovými manipulacemi lze vytvářet fúzané proteiny mezi doménami, které váží antigeny a peptidy, které mají enzymatické nebo vazebné vlastnosti. Myši protilátky mohou být připodobněny lidským tím, že se příslušně změní konstantní domény. Specifitu protilátek lze měnit usměrněnou mutagenézí. V poslední době jsou geny pro protilátky izolovány přímo z jednotlivých lymfocytů pomocí PCR. V rekombinované DNA se využívají geny pro celé imunoglobuliny, Fab fragmenty, Fv protilátky s jedním řetězcem a VH řetězcem. Fab fragmenty obsahují jen první z kon-

stantních domén. scFv jsou řetězce z jednoho peptidu, kde variabilní domény lehkého a těžkého řetězce jsou kovalentně vázány krátkým ohebným úsekem peptidu.

Všechny tyto konstrukty lze využívat pro transgenozu rostlin. Do rostlinného genomu lze včleňovat geny pro úplné protilátky i Fab fragmenty proti fytohormonům, fytochromům, ale také proti virovým, bakteriálním a houbovým rostlinným patogenům (Conrad, Fiedler, 1994). Zvláště zde se předpokládá široké uplatnění ve šlechtění rostlin. Kromě toho se předpokládá biotechnologická výroba protilátek v rostlinách i pro potřeby medicíny. Co se týče perspektiv šlechtitelských aplikací, již existují rostliny tabáku, které produkují protilátky proti viru tabákové mozaiky a rostliny vykazují zvýšenou rezistenci proti tomuto viru. Existují také transgenní rostliny, které produkují protilátky proti některým dalším virům, a rostliny, jejichž kořeny produkují protilátky proti bakteriálním a houbovým patogenům, vyskytujícím se na kořenech (Engelken et al., 1994).

Prostřednictvím rostlin je možné produkovat některé farmakologicky, biochemicky, potravinářsky nebo jinak významné vzácné polypeptidy. Některé z nich nelze produkovat ve fermentorech prostřednictvím mikroorganismů s rekombinovanými plasmidy, protože nedochází ke správným posttranslačním úpravám. Jiné je možné biotechnologicky vyrábět, ale produkce prostřednictvím rostlin je perspektivně výhodnější a hospodárnější, protože představuje primární využití produktů fotosyntézy bez dalšího průmyslového zpracování, které spotřebovává energii.

U tabáku a bramboru bylo dosaženo syntézy lidského sérového albuminu (Sijmons et al., 1990) a alfa-amylasy *Bacillus licheniformis* (Pen et al., 1992). U *Arabidopsis thaliana* bylo dosaženo exprese genu pro lidský enkefalin (Vanderkerckhove et al., 1989).

V souvislosti s oleji semen řepky olejné existuje zajímavá skupina proteinů, která již byla úspěšně manipulována transgenozí a nabízí velké perspektivy dalšího využití. Oleje jsou v buňkách semen řepky uloženy ve zvláštních útvarech – olejových těliscích. Ta jsou ohraničena fosfolipidovou membránou, která obsahuje zvláštní proteiny – oleosiny. Tyto oleosiny mohou sloužit jako nosiče rekombinovaných dalších proteinů, opatřených specifickými signálními sekvencemi (Rooijen, Moloney, 1995). Jedním z proteinů, jehož gen byl přenesen do genomu řepky a který se akumuluje ve formě vázané na oleosiny, je hirudin (Parmenter et al., 1995). Hirudin je protein, který se vyskytuje ve slinách pijavky lékařské a podmiňuje snížení srážlivosti krve. Tento protein je velice užitečný při komplikovaných operacích, kde může zabránit vzniku embolií. Je však v dostatečném množství dostupný jen tehdy, jestliže je vyráběn prostřednictvím rekombinované DNA. Produkce vázaná na oleosiny semen řepky olejné je z tohoto hlediska velmi vhodná, protože protein v tomto stavu lze snadno izolovat.

I. Novošlechtění transgenní řepky ve světě se změněnými komponentami složení semen (Dale, Scheffner, 1996)

Změna olejů	Průmyslové využití	Stav
40 % kyseliny stearové (18 : 0)	margarin, kakaové máslo	1994 ***
40 % kyseliny laurové (12 : 0)	detergenty	1994 ***
60 % kyseliny laurové (12 : 0)	detergenty	1996 ***
80 % kyseliny olejové (18 : 1)	potraviny, mazadla, inkousty	1995 ***
Kyselina petroselinová (18 : 1)	polymery, detergenty	1998(?) **
„Jojobový“ vosk (C20, C22)	kosmetika, lubrikanty	1996 **
40 % myristátu (14 : 0)	detergenty, mýdla, osobní hygiena	1996 **
90 % kyseliny erukové (22 : 1)	polymery, kosmetika, inkousty, farmaceutické výrobky	1998 **
Kyselina ricinoolejová (18 : 1-OH)	lubrikanty, kosmetika, farmaceutické výrobky	1997(?) **
Polyhydroxybutyrát	biodegradovatelné plasty	1997(?) **
Průmyslové enzymy	fermentace, výroba papíru, úprava potravin	1998 *
Nové peptidy	léčiva	1995 ***

* klíčové geny byly klonovány; ** existují transgenní rostliny; *** transgenní rostliny jsou ve stadiu polních pokusů

Produkce polymerů transgenními rostlinami

Organismy mohou za specifických podmínek uchovávat uhlík a energii ve formě osmoticky inertních polymerů. U bakterií to mohou být polyestery jako poly(3-hydroxybutyrát) (PHB) a jiné poly(3-hydroxyalkanoáty) (PHA). Tyto látky jsou využitelné jako biodegradovatelné plasty. Jsou značně perspektivní vzhledem ke zvyšujícím se problémům hromadění plastového odpadu. Polyhydroxyalkanoáty jsou syntetizovány např. v bakteriích *Pseudomonas aeruginosa*, *P. oleovorans* nebo *Alcaligenes eutrophus*. Tvorba PHB je u bakterií zprostředkována třemi enzymy:

1. 3-ketothiolasou (gen *phbA*)
2. NADH-dependentní acetoacetyl-CoA reduktasou (gen *phbB*)
3. PHB syntasou, také nazývanou PHB polymerasou (gen *phbC*)

Produkce PHB je vázána na syntézu mastných kyselin, jejíž podstatná část probíhá v chloroplastech (Leij, Witholt, 1995).

Poirier et al. (1992, 1995) prokázali, že polyhydroxybutyrát se hromadí v transgenních rostlinách *Arabidopsis thaliana*, které jej syntetizují. Do genomu *Arabidopsis thaliana* byly přeneseny tři upravené bakteriální geny, které všechny mají promotor 35S. PHB se hromadí v listech, v buněčných inkluzích v cytoplasmě, vakuolách i buněčném jádře, ale tvoří jen asi 0,14 % sušiny. Akumulace PHB se silně zvyšuje, jestliže je dopravován do chloroplastů. Tvoří potom až 14 % sušiny (Nawrath et al., 1994). Produkce polyhydroxybutyrátu prostřednictvím *Arabidopsis thaliana* je jen modelový přístup. Pro vlastní průmyslovou produkci se předpokládá, že tento polymer bude produkován v plastidech hlíz bramboru. Pravděpodobně by pro tento účel byly vhodné již existující transgenní brambory, jejichž hlízy neobsahují škrob. Uvažuje se rovněž o akumulaci v semenech. Přitom je samozřejmou podmínkou, aby transgenní rostliny nebyly závadné pro ekosystémy a člověka. Rostlinné části akumulující PHB nebudou vhodné k požívání. Nemohou to tedy být takové rostlinné části, které obvykle slouží jako potrava nebo krmivo, aby nedošlo k záměně. Nemohou to být ani semena plodin, která jsou příležitostně konzumována ptáky. Produkce PHB bude vyžadovat podrobný rozbor z hlediska zajištění neškodnosti transgenních rostlin. Předpokládá se, že to budou semena takových rostlinných druhů, která nejsou pojídána člověkem ani požívána zvířaty (např. *Ricinus communis*) (Leij, Witholt, 1995).

Vývojové změny rostlin vyvolané transgenozí

U modelové rostliny *Arabidopsis thaliana* se v současné době inzerční mutagenézí indukují mutace všech genů a geny se klonují (přehled viz Kocábek, 1996). Byla tak již klonována celá řada genů, které mají zásadní význam ve vývoji, a některé z nich jsou využitelné pro zlepšení genomu kulturních rostlin transgenozí. Jedním z nich je gen, který v neaktivní formě podmiňuje recesivní mutaci *leafy* a který u *Arabidopsis* reguluje vývoj květenství (Schultz, Haughn, 1991). Tento gen, přenesený s konstitutivním promotorem do genomu osiky, tam vyvolává předčasné kvetení již prvním rokem růstu (Weigel, Nilson, 1995). To sice nemá praktický význam u osiky, ale může mít velký význam u ovocných stromů, okrasných dřevin a dvouletých či vytrvalých rostlin.

Přenesení genu pro sacharosafosfátsyntasu (SPS) z genomu kukuřice do genomu rajčete vyvolalo komplexní fenotypové změny, mezi nimi hlavně urychlení kvetení a zrání plodů a komplexní fenotypové změny (Micalleff et al., 1995).

Po celou dobu výzkumu transgenoze rostlin bakteriemi *A. tumefaciens* a *A. rhizogenes* se hromadily důkazy toho, že transgenoze původními geny T-DNA *A. tumefaciens* a *A. rhizogenes*, ale i některými dalšími geny vede často ke komplexním

II. Žádosti o tržní uvolnění transgenních kulturních plodin (Dale, 1995)

Stát	Plodina	Znak	Navrhovatel	Stav
Kanada	řepka olejná	tolerance ke glufosinátu	AgrEvo	p
	řepka olejná	tolerance ke glyfosátu	Monsanto	p
	řepka olejná	tolerance ke glufosinátu, pylová sterilita*	P.G.S.	p
	len	tolerance k sulfonylmočovině	Univerzita Saskatchewan	ž
	kukuřice	rezistence k hmyzu (Bt)	Ciba-Geigy	ž
EU	tabák	tolerance k oxynilu	SEITA	p
	řepka	tolerance ke glufosinátu, pylová sterilita	P.G.S.	ž
	kukuřice	odolnost ke hmyzu (Bt) a tolerance ke glufosinátu	Ciba-Geigy	ž
	čekanka	tolerance ke glufosinátu, pylová sterilita	Bejo Zadev BV	ž
	sója	tolerance ke glyfosátu	Monsanto	ž
USA	rajčata	zpomalené měknutí plodů	Calgene	p
	sója	tolerance ke glyfosátu	Monsanto	p
	bavlník	tolerance k bromoxynilu	Calgene	p
	řepka	změny olejů semen	Calgene	p
	meloun	rezistence k virům	Upjohn/Asgrow	p
	rajče	zpožděné dozrávání	DNAP	p
	brambor	odolnost ke hmyzu (Bt)	Monsanto	p
	bavlník	odolnost ke hmyzu (Bt)	Monsanto	ž
	kukuřice	odolnost ke hmyzu (Bt)	Ciba-Geigy	ž
	kukuřice	tolerance ke glufosinátu	AgrEvo	ž

p – povoleno, ž – žádáno

* pylová sterilita v tomto i ostatních případech je jaderně-cytoplasmatického typu a nevznikla transgenozí

morforegulačním změnám transgenních rostlin a ke změnám časování morfogeneze (přehled Ondřej, 1992). Bylo například zjištěno ranější kvetení transgenních rostlin tabáku, obsahujících ve svém genomu gen *rolC* bakterie *A. tumefaciens* (Oono et al., 1990), což je šlechtitelsky velmi zajímavý znak.

Jiným šlechtitelsky využitelným znakem je odolnost proti vytahování, podmíněná například nedostatkem světla při hustém sponu rostlin. U genomu tabáku toho bylo docíleno vnesením genu pro syntézu fytochromu A z *Arabidopsis thaliana* (Robson et al., 1996). Vytahování rostlin je podmíněno účinky fytochromu B. Celková reakce rostliny na fytochromy však závisí na poměru fytochromu A a fytochromu B. Expres transgenu pro fytochrom A mění poměr obou fytochromů ve prospěch fytochromu A a v důsledku toho se snižuje vytahování způsobené zastíněním.

Současný stav uplatnění transgenních rostlin

V současné době jsou dva principy uvolňování transgenních rostlin k tržní nekontrolované produkci:

1. Vertikální. Rostlina se uvolňuje podle znaku (např. rezistence k herbicidům) bez ohledu na to, jak tohoto znaku bylo dosaženo (mutací, transgenozí, hybridizací). Tohoto principu se využívá v USA a Kanadě.

2. Horizontální. Regulaci podléhá rekombinovaná DNA, přičemž je již podružné, jaké znaky jsou jí přenášeny. V praxi není velký rozdíl v konečných výsledcích vertikálního a horizontálního přístupu.

V USA, Kanadě, Japonsku i státech EU existují zákony o regulaci práce s geneticky modifikovanými organismy a zákon se připravuje i u nás (komisí, vedenou prof. Drobníkem). Současná problematika transgenních rostlin byla z tohoto hlediska zpracována jinde (Ondřej, Rakouský, 1997).

Závěr

Transgenoze již má své místo při tvorbě nových odrůd rostlin. Jsou předpoklady pro vyšlechtění většiny druhů kulturních rostlin rezistentních k herbicidům, k virovým chorobám a se zvýšenou tolerancí k bakteriálním a houbovým infekcím. Rostlinný genom je možné obohacovat o celou řadu dalších transgenů, které v jeho genomu nikdy v průběhu fylogeneze nebyly a které jim dodávají vlastnosti významné pro lidské zdraví nebo umožňují produkci významných surovin. Hlavními cíli využití transgenoze ve šlechtění rostlin je redukce použití agrochemikálií a zlepšení kvality sklizně především jako důsledek zvýšené tolerance rostlin k různým biotickým i abiotickým faktorům. Současně transgenoze umožňuje využití rostlinného genomu novými způsoby (rostlinné vakcíny, produkce protilátek a vzácných živočišných proteinů prostřednictvím rostlin).

Vliv každého nového rostlinného transgenu na člověka, prostředí člověka a přírodní prostředí musí být podrobně testován. Výsledky testování více než šesti tisíc

typů transgenních rostlin sice nepřinesly průkazy žádných negativních vlivů, ale tím není vyloučeno, že při použití dalších transgenů by tyto vlivy nemohly nastat.

Literatura

- ADANG, M. J., BRODY, M. S., CARDINEAU, G., EAGAN, N., ROUSH, R. T., SHEWMAKER, C. A., JONES, A., OAKES, J. W., McBRIDE, K. (1993): The reconstruction and expression of *Bacillus thuringiensis cryIIIA* gene in protoplasts and potato plants. *Plant Mol. Biol.*, 21: 1131-1145.
- ANZAI, H., YONEYAMA, K., YAMAGUCHI, I. (1989): Transgenic tobacco resistant to a bacterial disease by the detoxification of a pathogenic toxin. *Mol. Gen. Genet.*, 219: 492-494.
- AUDY, P., PALUKAITIS, P., SLACK, S. A., ZAITLIN, M. (1994): Replicase-mediated resistance to potato virus Y in transgenic tobacco plants. *Molec. Plant-Microbe Interact.*, 7: 15-22.
- BACHEM, C. W. B., SPECKMAN, G. J., LINDE, P. C. G., van der, VERHEGGEN, F. T. M., HUNT, M. D., STEFFENS, J. C., ZABEAU, M. (1994): Antisense expression of polyphenol oxidase genes inhibits enzymatic browning in potato tubers. *Biotechnology*, 12: 1101-1105.
- BATTEY, J. F., SCHMIDT, K. M., OHIROGGE, J. B. (1989): Genetic engineering for plant oils: potential and limitations. *Tibtech.*, 7: 122-125.
- BIRD, C. R., SMITH, C. J. S., RAY, J. A., MOUREAU, P., BEVAN, M. W., BIRD, A. S., HUGHES, S., MORRIS, P. C., GRIERSON, D., SCHUCH, W. (1988): The tomato polygalacturonase gene and ripening specific expression in transgenic plants. *Plant Mol. Biol.*, 11: 651-662.
- BLOCK, M. de, DEBROUWER, D. (1993): Engineered fertility control in transgenic *Brassica napus* L.: Histochemical analysis of anther development. *Planta*, 189: 218-225.
- CARMONA, J. M., MOLINA, A., FERNÁNDEZ, J. A., LÓPEZ-FANDO, J. J., GARCIA-OLMEDO, F. (1993): Expression of alfa-thionin gene from barley in tobacco confers resistance to bacterium pathogens. *Plant J.*, 3: 457-462.
- CONRAD, U., FIEDLER, U. (1994): Expression of engineered antibodies in plant cells. *Plant Molec. Biol.*, 26: 1023-1030.
- DALE, P. J. (1995): R and D regulation and field trialling of transgenic crops. *Tibtech.*, 13: 398-403.
- DALE, P. J., SCHEFFNER, J. A. (1996): Gene dispoersal from transgenic crops. In: SCHMIDT, E. R., HANKEN, T. (Eds.): *Transgenic Organisms and Biosafety*. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag: 85-93.
- DAY, A. G., BEJARANO, E. R., BUCK, K. W., BURRELL, M., LICHTENSTEIN, C. P. (1991): Expression of an antisense viral gene in transgenic tobacco confers

resistance to the DNA virus tomato golden mosaic virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 6721-6725.

DENIS, M., RENARD, M., KREBBERS, E. (1995): Isolation of homozygous transgenic *Brassica napus* lines carrying a seed-specific chimeric 2S albumin gene and determination of linkage relationship. Molec. Breeding, 1: 143-153.

DONEGAN, K. K., SCHALLER, D. L., STONE, J. K., GANIO, L. M., HAMM, P. B., SEIDLER, R. J. (1996): Microbial populations, fungal species diversity and plant pathogen levels in field plots of potato plants expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* endotoxin. Transgenic Res., 5: 25-35.

DÜRING, K., PORSCH, P., FLADUNG, M., LÖRTZ, H. (1993): Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. Plant J., 3: 587-598.

EBSKAMP, M. J. M., MEER, I. van der, SPRONG, B. A., WEISBEEK, P. J., SMEEKENS, S. C. M. (1994): Accumulation of fructose polymers in transgenic tobacco. Biotechnology, 12: 272-275.

ELMAYAN, T., TEPFER, M. (1994): Synthesis of a bifunctional metallothionein/beta-glucuronidase fusion protein in transgenic tobacco plants as means of reducing leaf cadmium levels. Plant J., 6: 433-440.

ENGELKEN, F. A. van, SCHOUTEN, A., MOLTHOFF, J. W., ROOSIEN, J., SALINAS, J., SIRKSE, W. G., BAKKER, J., GOMMERS, F. J., JONGSMA, M. A., BOSCH, D., STIEKEMA, W. J. (1994): Coordinate expression of antibody subunit genes yields high levels of functional antibodies in roots of transgenic tobacco. Plant Molec. Biol., 26: 1701-1710.

FALCO, S. C., GUIDA, T., LOCKE, M., MAUVAIS, J., WARD, R. T., WEBBER, P. (1995): Transgenic canola and soybean seeds with increased lysine. Biotechnology, 113: 577-582.

FUJIMOTO, H., ITOH, K., YAMAMOTO, M., KYOZUKA, J., SHIMAMOTO, K. (1993): Insect resistant rice generated by introduction of a modified delta-endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis*. Biotechnology, 11: 1151-1155.

GIBSON, S., FALCONE, D. L., BROWSE, J., SOMERVILLE, C. (1994): Use of transgenic plants to study the regulation and function of lipid composition. Plant Cell and Env., 17: 627-637.

GRAY, J., PICTON, S., SHABBEER, J., SCHUCH, W., GRIERSON, D. (1992): Molecular biology of fruit ripening and its manipulation with antisense genes. Plant Molec. Biol., 19: 69-87.

GRISON, R., GREZES-BESSET, B., SCHNEIDER, M., LUCANTE, N., OLSEN, L., LEGUAY, J. J., TOPPAN, A. (1996): Fields tolerance to fungal pathogens of *Brassica napus* constitutively expressing a chimeric chitinase gene. Nature Biotechnol., 14: 643-646.

HALPIN, C., KNIGHT, M. E., FOXON, G. A., CAMPBELL, M. M., BOUDET, A. M., JAAP, J. B., CHABBERT, B., TOLLIER, M.-T., SCHUCH, W. (1994): Manipulation of lignin quality by downregulation of cinnamyl alcohol dehydrogenase. *Plant J.*, 6: 339-460.

HAMILTON, A. J., LYCETT, G. W., GRIERSON, D. (1990): Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants. *Nature*, 346: 284-287.

HAMMOND, J., KAMO, K. K. (1995): Effective resistance to potyvirus infection conferred by expression of antisense RNA in transgenic plants. *Molec. Plant Microbe Interact.*, 8: 674-682.

CHEN, M., NAGARAJAN, V. (1993): The roles of signal peptide and mature protein in RNase (barnase) export from *Bacillus subtilis*. *Mol. Gen. Genet.*, 239: 409-415.

JAYNES, J. M., XANTHOPOULOS, K. G., DESTÉFANO-BELTRÁN, J., DODDS, J. H. (1987): Increasing bacterial disease resistance in plants utilizing antibacterial genes from insects. *BioEssays*, 6: 263-270.

JONGEDIJK, E., DE SCHUTTER, A. J. M., STOLTE, T., ELTZEN, P. J. M. van den, CORNELISSEN, B. J. C. (1992): Increased resistance to potato virus X and preservation of cultivar properties in transgenic potato under field conditions. *Biotechnology*, 10: 422-429.

KASHCHANDRA, D. L., RAGHOTHAMA, G., HASEGAWA, P. M., BRESSAN, R. A. (1994): Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 91: 1888-1892.

KOCÁBEK, T. (1996): Inzerční mutagenéze a její význam pro klonování rostlinných genů. *Biol. listy*, 61: 161-176.

KRAMER, M., SANDERS, R. A., BOLKAN, H., WATERS, C. M., SHEEHY, R. E., HIATT, W. R. (1993): Postharvest evaluation of transgenic tomatoes with reduced levels of polygalacturonase: processing, firmness, and disease resistance. In: HIATT, A. (Ed.): *Transgenic Plants*. New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker, Ind.: 283-300.

KRIETE, G., NIEHAUS, K., PERRLICK, A. M., PÜHLER J., BROER, I. (1996): Male sterility in transgenic tobacco plants induced by tapetum-specific deacetylation of the externally applied non-toxic compound N-acetyl-L-phosphinothricin. *Plant J.*, 9: 809-818.

KROOL, A. R. van der, MUR, L. A., LANGE, P. de, MOL, N. M. (1990): Inhibition of flower pigmentation by antisense CHS genes: promoter and minimal sequence requirements for the antisense effect. *Plant Mol. Biol.*, 14, s. 457-466.

- LEIJ, F. van der, WITHOLT, B. (1995): Strategies for the sustainable production of new biodegradable polyesters in plants: a review. *Canad. J. Microbiol.*, **41**: 222-238.
- LEPLÉ, J. C., BONADÉ-BOTTINO, M., AUGUSTIN, S., LEE TAN, V. D., DELPLANQUE, D., JOUANIN, L. (1995): Toxicity of *Chrysomela tremulae* (Coleoptera: Chrysomelidae) of transgenic poplar expressing a cysteine protease inhibitor. *Molec. Breeding*, **1**: 319-328.
- LILIUS, G., HOLMBERG, N., BULLOW, L. (1996): Enhanced NaCl stress tolerance in transgenic tobacco expressing bacterial choline dehydrogenase. *Biotechnology*, **14**: 177-180.
- LODGE, J. K., KANIEWSKI, W. K., TUMER, N. E. (1993): Broad-spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**: 7089-7093.
- LOGEMANN, J., JACH, G., TOMMERUP, H., MUNDY, J., SCHELL, J. (1992): Expression of barley ribosome-inactivating protein leads to increased fungal protection in transgenic tobacco plants. *Biotechnology*, **10**: 305-308.
- MAITI, I. B., HUNT, A. G., WAGNER, R. (1988): Seed transmissible expression of mammalian metallothionein in transgenic tobacco. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **150**: 640-647.
- MAITI, I. B., WAGNER, G. J., YEARGEN, R., HUNT, A. G. (1989): Inheritance and expression of the mouse metallothionein gene in tobacco. Impact of cadmium tolerance and tissue cadmium distribution in seedlings. *Plant Physiol.*, **91**: 99-107.
- MAITI, I. B., WAGNER, G. J., HUNT, A. G. (1991): Light inducible and tissue specific expression of chimeric mouse metallothionein cDNA gene in tobacco. *Plant Sci.*, **76**: 99-107.
- MARIANI, C., BEUCKELEER, M. de, TRUETTNER, J., LEEMANS, J., GOLDBERG, R. B. (1991): Induction of male sterility in plants by chimaeric ribonuclease gene. *Nature*, **347**: 737-741.
- MASON, H. S., ARNTZEN, C. J. (1995): Transgenic plants as vaccine production systems. *Tibtech.*, **13**: 388-392.
- McBRIDE, K. E., SVAB, Z., SCHAAF, D. J., HOGAN, P. S., STALKER, D. M., MALIGA, P. (1995): Amplification of a chimeric *Bacillus thuringiensis* gene in chloroplasts leads to an extraordinary high level of an insecticidal protein in tobacco. *Biotechnology*, **13**: 362-365.
- McGURL, B., OROZCO-CARDENAS, M., PEARCE, G., RYAN, C. A. (1994): Overexpression of the prosystemin gene in transgenic tomato plants generates a systemic signal that constitutively induces proteinase inhibitor synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 9799-9802.

- McMANUS, M. T., WHITE, D. W. R., MCGREGOR, P. G. (1994): Accumulation of a chymotrypsin inhibitor in transgenic tobacco can affect the growth of insect pests. *Transgenic Res.*, 3: 50-58.
- MEER, I. M. van der, STAM, M. E., TUNEN, A. J. van, MOL, J. N. M., STUITJE, A. R. (1992): Antisense inhibition of flavonoid biosynthesis in petunia anthers results in male sterility. *Plant Cell*, 4: 253-262.
- MELCHERS, L. S., SELA-BUURLAGE, M. B., VLOEMANS, S. A., WOLOS-HUK, C. P., ROEKEL, J. S. C. van, PEN, J., ELZEN, P. J. M. van den, CORNELISSEN, B. J. C. (1993): Extracellular targeting of the vacuolar tobacco proteins AP324, chitinase and beta-1,3-glucanase in transgenic plants. *Plant Molec. Biol.*, 21: 583-593.
- METZ, T. D., ROUSH, R. T., TANG, J. D., SHELTON, A. M., EARLE, E. D. (1995): Transgenic broccoli expressing a *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein: implications for pest resistance management strategies. *Molec. Breeding*, 1: 309-317.
- MEYER, P., HEIDMANN, I., FORKMANN, G., SAEDLER, H. (1987): A new *Petunia* flower colour generated by transformation of a mutant with a maize gene. *Nature*, 330: 677-678.
- MICALEFF, B. J., HASKINS, K. A., VANDERVEER, P. J., KWANK-SOO ROH, SHEWMAKER, C., SHARKLEY, T. D. (1995): Altered photosynthesis, flowering and fruiting in transgenic tomato plants that have an increased capacity for sucrose synthesis. *Planta*, 196: 327-334.
- MITRA, A., ZHANG, Z. (1994): Expression of a human lactoferrin cDNA in tobacco cells produces antibacterial protein. *Plant Physiol.*, 106: 977-981.
- MURPHY, D. J. (1996): Engineering oil production in rapeseed and other oil crops. *Tibtech.*, 14: 206-213.
- NAPOLI, C., LEMIEUX, C., JORGENSEN, R. (1990): Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into *Petunia* results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell*, 2: 279-289.
- NAWRATH, C., POITIER, Y., SOMERVILLE, C. (1994): Targeting of the polyhydroxybutyrate biosynthetic pathway to the *Arabidopsis thaliana* results in high levels of polymer accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 12760-12764.
- OELLER, P. W., MING-WONG, L., TAYLOR, L. P., PIKE, D. A., THEOLOGIS, A. (1991): Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. *Science*, 254: 437-439.
- ONDŘEJ, M. (1992): Transgenozé rostlin morforegulačními geny. *Biol. Listy*, 57: 122-138.
- ONDŘEJ, M. (1992): Genové inženýrství kulturních rostlin. *Academia, Praha*.

- ONDŘEJ, M., RAKOUSKÝ, S. (1997): Transgenní rostliny a prostředí. Biol. Listy, 62: 1-20.
- OONO, Y., KANAYA, K., UCHIMIYA, H. (1990): Early flowering in transgenic tobacco plants possessing the *rolC* gene of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid. Jpn. J. Genet., 65: 7-16.
- PARMENTER, D. L., BOOTHE, G. J. H., ROOIJEN, E. C. van, YEUNG, E. C., MOLONEY, M. M. (1995): Production of biologically active hirudin in plant seeds using oleosin partitioning. Plant Molec. Biol., 29: 1167-1180.
- PARROTT, W. A., ALL, J. N., ADANG, M. J., BAILEY, M. A., BOERMA, H. R., STEWART, C. R. (1994): Recovery and evaluation of soybean plants transgenic for a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* insecticidal gene. In vitro Cell. Dev. Biol., 309: 144-149.
- PEN, J., MOLENDIJK, L., QUAX, W. J., SIJMONS, P. C., OUYEN, A. J. J. van, ELZEN, P. J. M. van den, RIETVELD, K., HOEKEMA, A. (1992): Production of active *Bacillus licheniformis* alpha-amylase in tobacco and its application in starch liquifaction. Biotechnology, 10: 292-296.
- PERLAK, F. J. K., STONE, T. B., MUSKOPF, Y. M., PETRSEN, L., PARKER, G. B., McPHERSON, S. A., WYMAN, J., LOVE, S., REED, G., BIEVER, D., FISCHOFF, D. A. (1993): Genetically improved potatoes: protection from damage by Colorado potato beetles. Plant Mol. Biol., 22: 313-321.
- PILON-SMITH, E. A. H., EBSKAMPO, J. M., PAUL, M. J., JEUKEN, M. J. W., WEISBEEK, P. J., SMECKENS, S. C. M. (1995): Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under growth stress. Plant Physiol., 107: 125-130.
- POIRIER, Z., DENNIS, D. E., KLOMARENS, K., NAWRATH, C., SOMMERVILLE, C. (1992): Polyhydroxybutyrate, a biodegradable thermoplastic, produced in transgenic plants. Science, 256: 520-523.
- POIRIER, Y., NAWRATH, C., SOMMERVILLE, C. (1995): Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. Biotechnology, 13: 143-150.
- POWELL-ABEL, P., BEACHY, R. N. (1986): Delay of resistance development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. Science, 232: 738-743.
- REDDY, A. S., THOMAS, T. L. (1996): Expression of a cyanobacterial delta-6-desaturase gene results in gamma-linoleic acid production in transgenic plants. Nature Biotechnology, 14: 639-642.
- RHIM, S. L., CHO, H. J., KIM, B. D., SCHNETTER, W., GEIDER, K. (1995): Development of insect resistance in tomato plants expressing the delta-endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*. Molec. Breeding, 1: 229-236.

- ROBSON, R. H., McCORMAC, A. C., IRVINE, A. S., SMITH, H. G. (1996): Genetic engineering of harvest index in tobacco through *overexpression* of a phytochrome synthesis gene. *Nature Biotechnol.*, 14: 995-998.
- ROOIJEN, G. J. H. van, MOLONEY, M. (1996): Plant seed oil-bodies as carriers for foreign proteins. *Biotechnology*, 13: 72-77.
- SAALBACH, I., WADDELL, D., PICKARDT, T., SCHIEDER, O., MÜNTZ, K. (1995): Stable expression of the sulphur-rich 2S albumin gene in transgenic *Vicia narbonensis* increases the methionine content of seeds. *J. Plant Physiol.*, 145: 674-681.
- SANFORD, J. C., JOHNSON, S. A. (1985): The concept of parasite-derived resistance: Deriving resistance genes from parasites own genome. *J. Theor. Biol.*, 113: 395-405.
- SHADE, R. E., SCHROEDER, H. E., PUEYO, J. J., TABE, L. M., MURDOCK, L. L., HIGGINS, T. J. V., CHRISPEELS, M. J. (1994): Transgenic pea seeds expressing the alpha-amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Biotechnology*, 12: 793-796.
- SCHMÜLLING, T., RÖHRIG, H., PILZ, D., WALDEN, R., SCHELL, J. (1993): Restoration of fertility by antisense RNA in genetically engineered male sterile tobacco plants. *Mol. Gen. Genet.*, 237: 385-394.
- SCHMÜLLING, T., SCHELL, J., SPENA, A. (1988): Single genes from *Agrobacterium rhizogenes* influence plant development. *EMBO J.*, 7: 2621-2629.
- SCHULTZ, E. A., HAUGHN, G. W. (1991): Leafy, a homeobox gene that regulates inflorescence development in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 3: 771-781.
- SIJMONS, P. C., DEKKER, B. M. M., SCHRAMMEIJER, B., VERWOERD, T. C., ELZEN, P. J. M. van den, HOEKEMA, A. (1990): Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants. *Biotechnology*, 8: 217-221.
- SMITH, H. A., SWANEY, S. L., PARKS, T. D., WERNSMAN, E. A., DOUGHERLY, W. G. (1994): Transgenic plant virus resistance mediated by untranslatable sense RNAs: expression, regulation, and fate of nonessential RNAs. *Plant Cell*, 6: 1441-1453.
- SMITH, C. J. S., WATSON, C. F., RAY, J., BIRD, C. R., MORRIS, P. C., SCHUCH, W., GRIERSON, D. (1988): Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature*, 334: 724-726.
- TAYLOR, L. P., JORGENSEN, R. (1992): Conditional male fertility in chalcone synthase deficient petunia. *J. Hered.*, 83: 65-74.
- THOMAS, J. C., ADAMS, D. G., KEPPELNE, V. D., WASMANN, C. C., BROWN, J. K., KANOST, M. R., BOHNERT, H. J. (1995): *Manduca sexta* encoded protease inhibitors expressed in *Nicotiana tabacum* provide protection against insects. *Plant Physiol. Biochem.*, 33: 611-614.

- TRUVE, E., AASPOLLU, A., HONKANEN, J., PUSKA, R., MEHTO, M., TEERI, T. H., KELVE, M., SEPÄNEN, P., SAARMA, M. (1993): Transgenic potato plants expressing mammalian 2-5 oligoadenylate synthetase are protected from potato virus X infection under field conditions. *Biotechnology*, 11: 1048-1052.
- VANDEKERCKHOVE, J., DAMME, J. van, LIJSEBETTENS, M. van, BOTTERMAN, J., BLOCK, M. de, VANDEWIELE, M., CLERQ, A. de, LEEMANS, J., MONTAGU, M. van, KREBBERS, E. (1989): Enkephalins produced in transgenic plants using modified 2S seed storage proteins. *Biotechnology*, 7: 929-932.
- VOELKER, T. A., WORRELL, A. C., ANDERSON, L., BLEIBAUM, J., FAN, T. A., HAWKINS, D. J., RADKE, S. E., DAVIES, H. M. (1992): Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseed plants. *Science*, 257: 72-73.
- WEIGEL, D., NILSSON, O. (1995): A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature*, 377: 495-500.
- WHITHAM, S., DINESH-KUMAR, S.P., CHOL, D., HEHL, R., CORR, C., BAKER, B. (1994): The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell*, 78: 1101-1115.
- YLSTRA, B., BUSSCHER, J., FRANKEN, J., HOLLMAN, P. C. H., MOL, J. N. M., TUNEN, A. J. van (1994): Flavonols and fertilization in *Petunia hybrida* - localization and mode of action during pollen tube growth. *Plant J.*, 6: 201-212.
- ZHU, Q., MAHER, E. A., MASOUD, S., DIXON, R. A., LAMB, C. (1994): Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. *Biotechnology*, 12: 807-812.

Transgenes for plant breeding

Transgenesis of plant genome by *Agrobacterium tumefaciens* or by direct gene transfer is becoming very important new method of production of varieties of cultured plants. It offers the introduction into the plant genome of new genes coding resistance to virus, bacterial and fungal diseases as well as pest resistance and resistance to abiotic factors (herbicides, toxic methal ions, high osmotic value etc.). Transgenesis also provides varieties with better marked qualities (with seed storage proteins showing better equilibrium of different aminoacids, more suitable for consumption, seed oils with improved spectrum of fatty acids, changed composition of starch, tomato with fruits of better quality and prolonged market ripeness). Transgenesis allows the construction new types of varieties, carrying medically useful polypeptides, antigens and immunoglobins. Plant which produce biodegradable plastics will be available in near future. Last but not least, transgenesis allows to regulate plant development, flowering time, pollen sterility, flower colour, compo-

sition and quality of lignins and several other basic plant characteristics. Transgenic plants which already have been approved as new plant varieties are just the first generation of transgenic plants and much broad spectrum of them will appear in next future. All the new varieties of transgenic plants released in developed countries, have been thoroughly tested for their safety for humans, animals and the environment and have been unequivocally proven to be safe.

Adresa autora:

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc., Ústav molekulární biologie rostlin AVČR
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika
tel.: 00 420 38 437 47, fax: 00 420 38 414 75, e-mail: ondrej@umbr.cas.cz

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, fax and 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

Košner J., Pánková K.: Vliv fotoperiodické a jarovizační reakce odrůd pšenice na jejich ranost – The influence of photoperiodic and vernalisation reactions of wheat varieties on their earliness.	81
Škorpík M., Šíp V., Bobková L., Chrpová J.: Možnosti výběru rostlin s geny zakrslosti v raných hybridních generacích u pšenice ozimé na základě giberelinových testů – Possibility of early generation selection for GA insensitive dwarfing genes in winter wheat.	99
Kraus I., Chloupek O.: Rekombinace hordeinů po dialelním křížení sladovnických odrůd ječmene – Recombination of hordeins after diallel cross of malting barley varieties.	107
Míka V., Bumerl J., Smrž J.: Technika ovlivnění obsahu toxických alkaloidů v jílku vytrvalém (<i>Lolium perenne</i> L.) – A technique of toxic alkaloid content adjustment in perennial ryegrass (<i>Lolium perenne</i> L.)	119

KRÁTKÁ SDĚLENÍ – SHORT COMMUNICATION

Chloupek O., Ševčík R., Psota V., Ehrenbergerová J.: Analýza obilek dialelních kříženců generace F ₂ sladovnických odrůd ječmene jarního – Analysis of F ₂ diallel crosses between malting barley varieties	127
--	-----

INFORMACE – INFORMATION

Chloupek O.: Zákon o odrůdách, osivu a sadbě – The plant variety and seed act.	129
---	-----

PŘEHLEDY – REVIEWS

Ondřej M.: Transgeny pro šlechtění rostlin – Transgenes for plant breeding	135
--	-----

RECENZE

Cagaš B.: The biology of grasses – Biologie trav	98
--	----

Vědecký časopis GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ ♦ Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha ♦ Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/251 098, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: fofo@uzpi.cz ♦ Sazba RNDr. Marcela Braunová, Nad Palatou 54, 150 00 Praha 5 ♦ Tisk: ÚZPI Praha ♦ © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1997

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