

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH  
INFORMACÍ

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

**3**

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

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

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

**Editorial board – Redakční rada**

**Chairman – Předseda**

Ing. Václav Šíp, CSc.

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

Ing. Bohumír Cagaš, CSc., prof. Ing. Jiří Černý, DrSc., Ing. Antonín Fojtík, CSc.,  
Ing. Alena Hanišová, prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., Ing. Josef Konrád, CSc.,  
prof. Ing. Antonin Kováčik, DrSc., Ing. Josef Pešek, DrSc., prof. dr. Ing. Jan Rod, DrSc.,  
RNDr. Erich Schwarzbach, dr. agr. habil., 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),  
PD. Dr. A. Jahoor (Germany), Prof. Dr. A. Mesterházy (Hungary),  
O. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. P. Ruckenbauer (Austria),  
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.: 00 420 2 251 098; fax: 00 420 2 242 539 38; e-mail: fofo@uzpi.cz

## VERNALISATION REQUIREMENTS OF SOME WINTER WHEAT VARIETIES\*

Jindřich KOŠNER, Kateřina PÁNKOVÁ

*Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic*

**Abstract:** Vernalisation requirements and responses to vernalisation deficit were determined in a set of 13 winter wheat varieties. It was found that the varieties have different vernalisation requirements, which are probably caused by presence of different *vrn* alleles (multiple alleles). The delay in heading depended on the vernalisation deficit and the dependence was exponential, but the shape of regression differed among the varieties. On the basis of these differences the varieties could be assigned into the groups of regressions. Heading time was also affected by photoperiod sensitivity of the varieties; this effect was not significantly changed by vernalisation.

*Triticum aestivum*; wheat; *Vrn*-genotypes; vernalisation response; heading time

Wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties have a spring or winter growth habit that differ from each other by the course of developmental phases which determine many of the important agronomic traits. Spring wheats differ from winter ones in their vernalisation requirement, that is a requirement for a cool period. A low requirement for a cool period characterises spring wheats, whereas winter wheats sensitive to vernalisation require a long cool period.

These differences in growth habit of wheat are controlled mainly by the genes *Vrn1*, *Vrn2* and *Vrn3*, each with two or more alleles (Pugsley, 1971; Snape et al., 1976). The combination of these genes determines the vernalisation requirement, and thus spring or winter growth type. With a dominant *Vrn* allele present in the genotype, spring growth habit will result. A dominant allele of *Vrn1* is epistatic and completely inhibits the vernalisation requirement; *Vrn2* and *Vrn3* alleles partly inhibit the vernalisation require-

\* The research was supported by grant No. 521/96/0114 of the Grant Agency of the Czech Republic

ment. These very important genes are located on chromosomes 5A, 5B and 5D (Law et al., 1976; Maysrenko, 1980).

Winter varieties carry those three loci in recessive form (Pugsley, 1972). Their vernalisation requirements are high but not identical. The differences between the vernalisation requirements of winter varieties can be explained by the existence of different recessive alleles (Pugsley, 1971) or by gene modifiers in the background (Gotoh, 1980; 1983). Recent results (Kořner, Pánková, submitted) show a diversity of recessive *vrn* alleles, so this may be a case of multiple alleles.

The aim of our experiment was to study the vernalisation requirements within a set of winter varieties. Evaluated were: a) the requirement of full vernalisation, that is the shortest period after which plants go to heading without a delay, and b) the basic requirement of vernalisation, that is the shortest period after which plants, maybe with a long delay, go to heading.

## MATERIAL AND METHODS

Seeds of the varieties studied were germinated in 1 week intervals and vernalised under short photoperiod and at a temperature of +1 to +3 °C, so that variants of 8, 7, 6, 5, 4, and 3 weeks of vernalisation were prepared to the date of planting 20 April. In this time photoperiod exceeds 14 hours at the latitude of the experiment and we can assume that all plants were grown under long day from the date on, and that no further significant period of cool weather causing additional vernalisation occurs. Altogether 75 plants in five rows were planted per variant. Number of days from planting (20 April) to heading (emerging of half the ear on the first tiller) was evaluated. The requirement of full vernalisation was established as number of weeks sufficient for full vernalisation, i.e. that heading time was not significantly increased in comparison with a full 8 week vernalisation. The significance of the differences was detected by the *t*-test between values of 8 week vernalisation and respective variants of a shorter vernalisation period. The basic vernalisation requirement was determined as the shortest period of the cold after which plants, maybe with a long delay, go to heading. The response to the

vernalisation deficit was established by comparison of regressions that express the dependence of the heading time on the vernalisation deficit.

## RESULTS AND DISCUSSION

The average numbers of days from planting to heading of all variants of vernalisation are shown in Table I; there are considerable differences between the varieties in both earliness, expressed as heading time in the variant with 8 week vernalisation, and in the response to vernalisation deficit.

On Table II, earliness is expressed as number of days to heading under full vernalisation, the requirement of full vernalisation is presented as the number of weeks after which heading time did not significantly increase in comparison to a full 8 week vernalisation, and a basic vernalisation deficit is presented as the number of weeks of vernalisation when plants, maybe delayed, still go to heading.

Heading time can be delayed by a vernalisation deficit. This delay depended on the degree of the deficit and was exponential. This dependence is expressed in the equation:

$$y = + (y_0 - k_1) * EXP [k_2 * (x - x_0)]$$

where:  $k_1, k_2$  – estimates of regression coefficients

$y$  – heading time

$y_0$  – intercept of  $y$

$x$  – vernalisation requirement

$x_0$  – intercept of  $x$

A regression analysis of the averages of all varieties shows that the equation of exponential function fits and the regression is highly significant (Table III and Fig. 1).

The estimates of regression coefficients  $k_1$  and  $k_2$  have been established for each studied variety. The resulting models of regression of the varieties were tested by analysis of variance and a regression coefficient was established, adjusted to degrees of freedom (Table IV). This statistical model was highly significant for all the varieties. We can suppose that this regression of heading time on the vernalisation deficit holds generally.

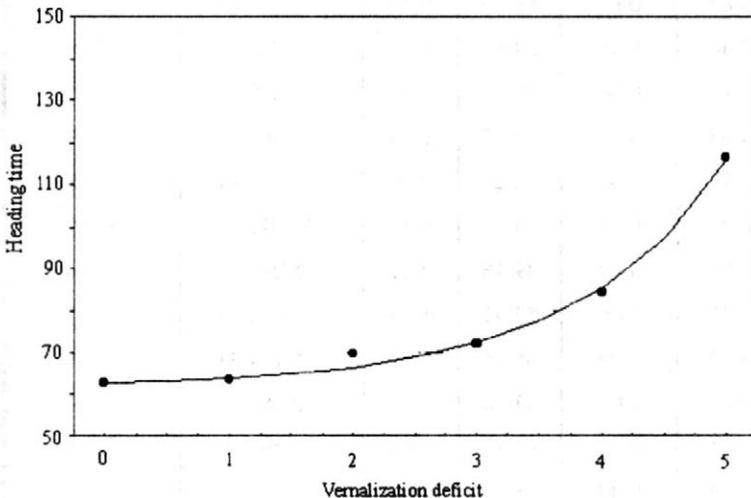
## I. Vernalisation requirement within the set of winter wheat varieties

Varieties	Weeks of vernalisation							
	8	7	6	5	4	% not headed	3	% not headed
Alka	61.46 ± 2.40	59.64 ± 1.25	67.57 ± 2.49	64.52 ± 1.27	69.18 ± 1.73	0	108.55 ± 8.87	23
Asta	66.61 ± 1.02	67.71 ± 0.74	73.43 ± 1.06	69.77 ± 0.71	85.31 ± 3.66	0	95.36 ± 3.56	0
Astella	57.40 ± 0.84	61.79 ± 1.36	67.00 ± 1.00	76.83 ± 6.57	97.25 ± 5.53	0	141.70 ± 9.80	70
Boka	58.42 ± 1.22	61.07 ± 1.22	74.20 ± 2.69	69.80 ± 2.09	92.56 ± 2.99	0	129.18 ± 8.11	36
Estika	68.03 ± 2.00	74.83 ± 3.85	71.23 ± 2.49	75.90 ± 2.70	77.00 ± 1.66	0	115.94 ± 11.08	24
Hana	56.72 ± 0.91	61.02 ± 1.25	61.57 ± 1.00	63.83 ± 1.71	76.08 ± 1.71	0	110.91 ± 8.41	19
Ina	58.83 ± 2.40	63.13 ± 1.30	68.72 ± 1.55	99.72 ± 11.78	95.88 ± 5.89	0	126.91 ± 8.43	32
Mona	57.88 ± 1.79	58.47 ± 0.93	62.34 ± 0.87	67.31 ± 2.02	67.10 ± 0.89	0	73.88 ± 1.89	0
Samanta	57.45 ± 0.65	58.14 ± 0.71	63.27 ± 0.81	67.17 ± 2.80	69.85 ± 2.30	0	130.43 ± 21.87	17
Samara	70.65 ± 1.52	69.06 ± 0.88	76.81 ± 2.43	83.18 ± 4.19	90.92 ± 7.74	0	104.42 ± 15.50	17
Sida	64.00 ± 1.81	63.28 ± 1.14	70.35 ± 1.65	75.47 ± 2.38	83.56 ± 2.66	0	121.82 ± 9.62	36
Siria	69.81 ± 1.23	67.65 ± 1.39	70.10 ± 0.84	72.63 ± 1.75	102.92 ± 6.62	4	125.80 ± 11.14	40
Vega	71.00 ± 2.39	68.34 ± 1.59	75.59 ± 3.16	80.64 ± 4.34	97.00 ± 5.46	0	114.20 ± 12.48	0

## II. Earliness, requirement of full and basic vernalisation in the varieties studied

Variety	Earliness heading time (8 weeks vernalisation)	Vernalisation requirement (weeks)	
		full vernalisation	basic vernalisation
Alka	61.46	7	4
Asta	66.61	7	3
Astella	57.40	8	4
Boka	58.42	8	4
Estika	68.03	7	4
Hana	56.72	8	4
Ina	58.83	8	4
Mona	57.88	7	3
Samanta	57.45	7	4
Samara	70.65	7	4
Sida	64.00	7	4
Siria	69.81	6	5
Vega	71.00	7	3

Although the function is exponential in all cases, the course of it differs between varieties. These differences may be caused by a different genetic constitution of the varieties in their vernalisation deficit, and the course of the function best characterises the response of the varieties to an insufficient vernalisation.



1. Dependence of heading time (average of all studied varieties) on vernalisation

## III. Regression analysis of the dependence of heading time on the vernalisation deficit in the varieties studied

Estimates of non-linear regression coefficients				Analysis of variance for the full regression			
	estimate	stnd error	ratio	source	d.f.	M.S.	ratio
Coefficient 1	<b>62.040</b>	0.256	242.416	Model	2	19 348.46	6 955.03
Coefficient 2	<b>0.833</b>	0.061	13.608	Error	4	2.78	

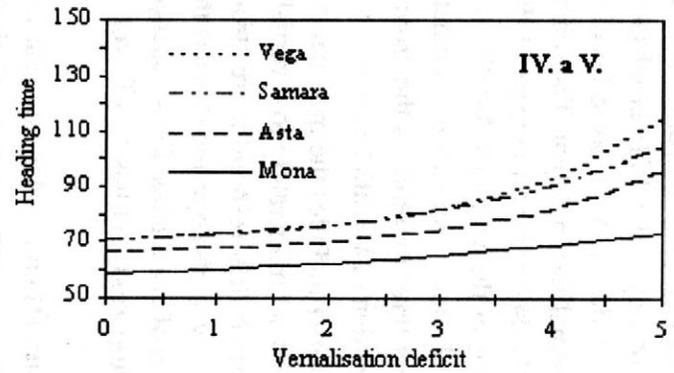
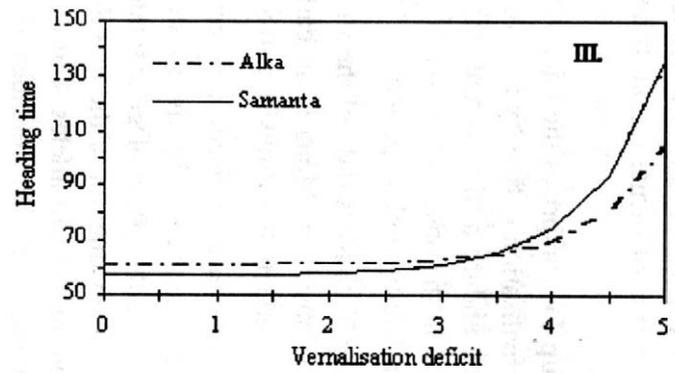
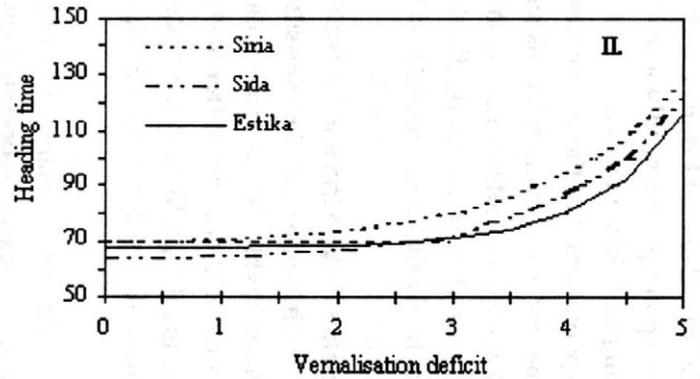
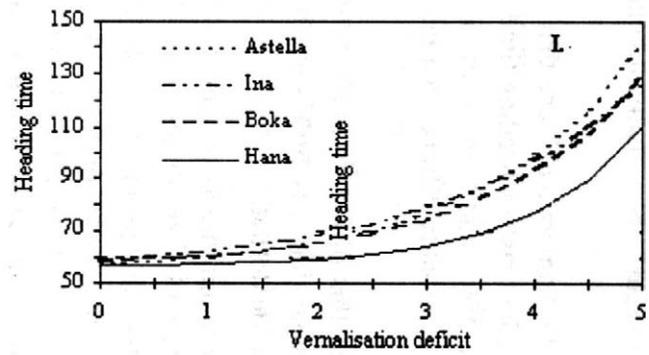
$$R = 0.995$$

$$R (\text{adj. for d.f.}) = 0.993$$

To compare the different responses of the varieties, cluster analysis was performed on the estimates of regression coefficients  $k_1$  and  $k_2$ , the heading time after full vernalisation, and the heading time after the largest vernalisation deficit. This resulted in five clusters, as shown in Fig. 2.

## IV. Regression analysis of the varieties studied (parameters of the equation, significance of analysis of variance for used model and regression coefficient adjusted for degree of freedom)

Variety	$y_0$	$x_0$	Estimate of		$F$ model	$R$ (adj. for d.f.)
			$k_1$	$k_2$		
Alka	61.46	0.00	61.45	1.61	1 612.15	0.970
Asta	66.61	0.00	64.86	0.58	1 670.83	0.920
Astella	57.40	0.00	54.52	0.68	16 867.624	0.999
Boka	58.42	0.00	55.92	0.67	849.28	0.965
Estika	68.03	0.00	67.97	1.33	966.90	0.933
Hana	56.72	0.00	56.28	0.96	3 435.91	0.988
Ina	58.83	0.00	53.41	0.52	38 372.01	0.999
Mona	57.88	0.00	49.18	0.21	5 203.95	0.936
Samanta	57.45	0.00	57.41	1.50	950.33	0.975
Samara	70.65	0.00	66.66	0.45	5 127.51	0.978
Sida	64.00	0.00	63.40	0.91	2 685.24	0.984
Siria	69.81	0.00	68.87	0.83	591.81	0.933
Vega	71.00	0.00	68.93	0.62	2 597.74	0.973



2. Responses of studied varieties to the vernalisation deficit; regressions

**Group I** clusters the early varieties Astella, Ina, Boka and Hana (heading within 60 days after full vernalisation) that respond pronouncedly to a vernalisation deficit by delayed heading. Heading is delayed even after only 1 week vernalisation deficit. The sensitivity to photoperiod of these varieties is probably the same and in view of their earliness it is low, which lets us suggest that in the varieties Astella, Ina and Boka the *vrn* alleles may also be identical. Hana responds to a higher vernalisation deficit less markedly than the other three varieties of the group, and it is likely that it carries a different combination of *vrn* alleles.

**Group II** includes the medium to late varieties Sida, Siria and Estika that start to react moderately to a vernalisation deficit, but to a higher vernalisation deficit they respond more strongly. Siria probably differs from Sida in sensitivity to photoperiod (Siria is more sensitive) but does not differ in combination of *vrn* alleles. Estika seems to be identical with Siria in the reaction to photoperiod, but has a different combination of *vrn* alleles than Siria and Sida.

**Group III** contains the two earlier varieties Alka and Samanta. Their reactions to a low vernalisation deficit are moderate, but they respond strongly to a large deficit of vernalisation. Both varieties seem to be sensitive to photoperiod.

**Group IV** comprises the later varieties Asta, Samara and Vega that react to a vernalisation deficit by a regular gradual increase of heading time, and they can endure a high vernalisation deficit. Vega and Samara are almost identical in the observed characters, but Asta probably differs from them in low sensitivity to photoperiod.

**Group V** consists only of the variety Mona that differs from all the other varieties observed. Mona is an early variety so that it is little sensitive to photoperiod and least sensitive to a vernalisation deficit.

The differences between the vernalisation requirements of winter wheats have been explained by the existence of multiple *vrn* alleles (Pugsley, 1971), or as the effect of gene modifiers in the background (Gotoh, 1980; 1983). The evaluation of the present experiment is based on the former supposition, that of *vrn* alleles. Our recent results (Košner, Pánková, submitted) have confirmed the idea of the presence of different *vrn* alleles in the studied set of wheats. It has also been shown that all the loci under study

(*Vrn1*, *Vrn2* and *Vrn3*) include more recessive alleles that affect the vernalisation requirement. The results of the present experiment also promote the idea of multiple alleles. The genotypes of the studied winter wheat varieties probably include different *vrn* alleles, especially *vrn1*, *vrn2* and *vrn3*, that primarily determine their vernalisation requirements. An incomplete vernalisation is manifested as a delay in heading time or even as an absence of heading.

The differences in earliness within the groups of varieties having the same course of regression of heading time on the vernalisation deficit are explained by a different photoperiod sensitivity. It is known that heading time in wheat is affected not only by the vernalisation response that is controlled by *vrn* genes, but also by photoperiod sensitivity that is determined by genes of the *Ppd* system (positioned on the homoeologous group 2 chromosomes).

In an earlier experiment that studied heading time (earliness), primarily the effect of sensitivity to photoperiod on fully vernalised variants had been demonstrated (Košner, Žůrková, 1996). Photoperiod sensitivity was one of the main factors influencing earliness (expressed as number of days from germination to heading); genotypes sensitive to photoperiod showed a delay in heading even under natural photoperiod (longer than 14 hours). In the present experiment, the most probable explanation of the differences between the heading times of different genotypes with the same vernalisation requirements again arises from their different photoperiod sensitivity, i.e. from the different expressions of *Ppd* genes. The course of the regressions of varieties that have the same response to vernalisation, but differ in their response to photoperiod, is parallel (Fig. 2).

The effect of the *vrn* genes is obviously manifested during developmental phases of the plant, and they consequently influence agronomic characteristics. This occurs probably in the same way as in the case of the dominant *Vrn1*, *Vrn2* and *Vrn3* genes and their influence on agronomic characters in varieties of spring wheat (Stelmakh, 1993).

The problem of earliness *per se* has often been discussed (Worland, 1996; Scarth, Law, 1983). We can probably explain most of the genetic determination of heading time without considering an influence by genes that control earliness *per se*. Košner and Pánková (1997) have established that *Vrn* and *Ppd* genes determine 85.3% of the characteristics of

spring and winter growth habit in a set of 14 wheat varieties that were grown in nine environments of vernalisation (0–8 weeks) and under short photoperiod conditions.

### Conclusion

The genotypes of the winter wheat varieties studied here probably include different alleles that determine the vernalisation requirement; the different vernalisation requirements of winter wheat varieties result from multiple alleles at *Vrn* loci. Genotypes with high vernalisation requirements or genotypes with low vernalisation requirements can arise from different combinations of those alleles. An incomplete vernalisation is expressed as a delay in heading or even no heading. The length of the delay in heading depends on the degree of the vernalisation deficit, and the dependence is exponential. Heading time is also influenced by the photoperiod sensitivity of the genotypes; its effect is not changed by vernalisation

### References

- GOTOH, T. (1980): Gene analysis of the degree of vernalization requirement in winter wheat. *Japan J. Bred.*, 30: 1–10.
- GOTOH, T. (1983): Varietal variation and inheritance mode of vernalization requirement in common wheat. In: *Proc. 6th Inter. Wheat Genet. Symp.*, Kyoto, Japan: 475–478.
- KOŠNER, J., ŽŮRKOVÁ, D. (1996): Photoperiodic response and its relation to earliness in wheat. *Euphytica*, 89: 59–64.
- KOŠNER, J., PÁNKOVÁ, K. (1997): Vliv fotoperiodické a jarovizační reakce odrůd pšenice na jejich ranost. *Genet. a Šlecht.*, 33: 81–97.
- KOŠNER, J., PÁNKOVÁ, K. Genetic determination of vernalisation requirement in winter wheat. (Submitted)
- LAW, C. N., WORLAND, A. J., GIORGI, B. (1976): The genetic control of ear emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat. *Heredity*, 36: 49–58.
- MAYSTRENKO, O. (1980): Cytogenetic study of the growth habit and ear emergence time in wheat. In: *Well Being of Mankind and Genetics. Proc. 14th Int. Cong. Genet. Vol. I Book 2*, Moscow, MIR Publisher: 267–282.
- PUGSLEY, A. T. (1971): A genetic analysis of the spring-wheat habit of growth in wheat. *Aust. J. Agric. Res.*, 22: 23–31.

PUGSLEY, A. T. (1972): Additional genes inhibiting winter habit in wheat. *Euphytica*, 21: 547-552.

SCARTH, R., LAW, C. N. (1983): The location of the photoperiod gene *Ppd 2* and an additional genetic factor for ear emergence time on chromosome 2B of wheat. *Heredity*, 51: 607-619.

SNAPE, J. W., LAW, C. N., WORLAND, A. J. (1976): Chromosome variation for loci controlling ear emergence time on chromosome 5A of wheat. *Heredity*, 37: 335-340.

STELMAKH, A. F. (1993): Genetic effect of *Vrn* genes on heading date and agronomic traits in bread wheat. *Euphytica*, 65: 53-60.

WORLAND, A. J. (1996): The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica*, 89: 49-57.

Received June 25, 1997

### Jarovizační nároky některých odrůd pšenice ozimé

U souboru třinácti odrůd pšenice ozimé byla určována potřeba jarovizace a sledována reakce na deficit jarovizace. Bylo zjištěno, že sledované odrůdy mají na jarovizaci rozdílné nároky. Rozdílná potřeba jarovizace je pravděpodobně způsobována rozdílnými alelami *vrn* (mnohotným alelomorfismem). Prodloužení doby do metání bylo závislé na deficitu jarovizace a závislost měla exponenciální charakter, průběh regresních křivek byl však u jednotlivých odrůd či skupin odrůd rozdílný. Porovnáním regresních křivek byly charakterizovány skupiny odrůd a jednotlivé odrůdy. Na dobu do metání měla vliv rovněž fotoperiodická citlivost genotypů; její vliv se jarovizací významně neměnil.

*Triticum aestivum*; pšenice, *Vrn*-genotypy; jarovizační reakce; doba metání

---

#### Contact address:

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

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION

Slezská 7, 12056 Praha 2, Czech Republic

Fax: + 42 2 24 25 79 39

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

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

Journal	Number of issues per year	Yearly subscription in USD	
		Europe	overseas
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	170,-	177,-
Živočišná výroba (Animal Production)	12	170,-	177,-
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	170,-	177,-
Lesnictví – Forestry	12	170,-	177,-
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12	132,-	138,-
Potravinářské vědy (Food Sciences)	6	76,-	80,-
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4	51,-	53,-
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	51,-	53,-
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	51,-	53,-
Zahradnictví (Horticultural Science)	4	51,-	53,-

## STABILITY OF YIELD AND SEED PARAMETERS IN RICE

Ajmer SINGH, P. S. SABHARWAL, D. V. S. PANWAR,  
I. S. MEHLA

HAU, Regional Research Station, Karnal, India

**Abstract:** The present investigations on 30 diverse genotypes of rice were undertaken to determine the effect of genotype  $\times$  environment interaction ( $g \times e$ ). The variance due to  $g \times e$  was highly significant for all the characters except fresh ungerminated seeds, root length, shoot length, and seedling dry weight. Partitioning of  $g \times e$  interaction showed that variance could be attributed to both  $g \times e$  (linear) and pooled deviation (nonlinear). For grain yield, only the three varieties IR 8, PR 106 and IR 64 were found stable with moderately high mean and average response. The three varieties IR 8, Jaya and Pusa 33 exhibited stability in their performance for high standard germination and better seed vigour.

stability; seed parameters; rice

Rice is the mainstay for food of more than two thirds of the world's population. Most of the work on genotype  $\times$  environment interaction ( $g \times e$ ) in rice pertains to attributes that affect grain yield *per se*. Work on seed quality parameters, however, is scarce, perhaps because of the confounding effects of seed dormancy or the different length of seed dormancy in different genotypes. Yet insight into such parameters is desirable because it would help identify the most suitable environments for seed production of specific rice cultivars. The present investigation, therefore, was conducted to study the seed quality parameters in various genotypes grown under different environments. The results were expected to throw some light on the relevance of seed production environments vis-à-vis seed characters.

### MATERIAL AND METHODS

The experimental material was comprised of 30 genotypes of rice (22 non-scented and 8 scented). It was planted during kharif 1995–1996 in four different environments (two locations and two dates of planting). Bulk seed of

each entry from different environments was used for taking observations on seed characters in the laboratory. The seed parameters viz. grain yield (g), seed weight (g), standard germination (%), fresh ungerminated seed (%), root length (cm), shoot length (cm), dry weight of seedlings (mg) and vigour index [(root length + shoot length) standard germination %] were studied according to the rules of ISTA (1985). The values of traits like standard germination (%) and fresh ungerminated seed (%) were subjected to angular transformation before statistical estimates.

Analysis of variance for the randomized block design was carried out separately for each of the environments and for each character to test the significance of genotypic differences. The data obtained from the various environments were pooled after testing the homogeneity of error variances from the Bartlett's technique. The stability parameters of individual genotypes were computed using the analytical approach of Eberhart and Russel (1966).

## RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of variance mostly showed highly significant genotypic mean squares for all the seed parameters which indicated sufficient differences among genotypes.

Pooled analysis of variance (Table I) indicated that genotype mean squares were highly significant for all the parameters except root length. Likewise, the variance due to environments was highly significant for all the characters except 1000 grain weight, fresh ungerminated seeds and dry weight per seedling, which indicated that the environments differed considerably from one another. Highly significant  $g \times e$  interaction for grain yield per plant, 1000 grain weight, standard germination and vigour index indicated that the genotypes interacted considerably with the environments for these characters. Gupta and Saini (1990) recorded  $g \times e$  interaction for standard germination and 100 seed weight in soybean under monoculture as well as in association with maize. On the other hand, the non-significant  $g \times e$  interaction component for fresh ungerminated seed, root length, shoot length and dry weight per seedling showed that the genotypes under reference did not react differently to the changing environments. Both genotype  $\times$  environment (li-

I. Pooled analysis of variance for seed quality characters

Source	Mean squares						
	d.f.	standard germination [%]	resh ungerminated seed [%]	root length [cm]	shoot length [cm]	dry weight per seedling [mg]	wigour index
Genotypes	29	29.34**	4.75**	65.68	1 002.79**	16.60**	95 422.29**
Environments	3	95.30**	0.23	350.12**	546.26**	0.55	127 607.02**
Genotypes x Environments	87	13.84**	0.89	51.12	92.11	0.64	27 156.08**
Environments + (Genotypes x Environments)	90	16.56	0.87	61.09*	107.25*	0.63	30 504.45*
Environments (Linear)	1	285.91**	0.69	1 050.36**	1 638.78	1.65	382 821.05**
Genotypes. x Environments (Linear)	29	18.32	0.43	76.25**	142.00**	142.00**	41 486.23**
Pooled deviation	60	11.22**	1.09**	37.28**	64.93**	0.60**	19 234.64**
Pooled error	232	5.42	1.31	61.33	79.03	0.63	15 042.25

\* significant at 5% level of significance

\*\* significant at 1% level of significance

## II. Estimates of stability parameters for standard germination and vigour index

Sr. No.	Genotypes	Standard germination			Vigour index		
		$\mu_1$	$b_1$	$s_{di}^{-2}$	$\mu_1$	$b_1$	$s_{di}^{-2}$
1.	HKR 126	92.17	1.42	15.01**	2399.33	2.50	-2467.33
2.	HKR 120	88.83	0.40	51.37**	2332.83	2.42	14211.73*
3.	IR 8	92.83	0.88	0.90	2462.17	2.71	9969.78
4.	Jaya	92.17	3.01	3.52	2432.83	4.03	2286.70
5.	PR 106	92.83	2.37	4.44*	2333.50	3.61	-2839.86
6.	IR 1545	91.50	1.65	-0.89	2237.00	2.76	24391.99**
7.	IET 6155	94.17	0.19	3.53	2308.17	-0.24	25768.76**
8.	IET 6288	90.67	2.24	4.13*	2191.83	1.94	10687.78*
9.	MO 1	88.17	-2.27	20.54**	2438.67	-4.05	206 766.88**
10.	IR 20	95.67	0.87	2.34	2343.33	0.71	-4 586.02
11.	Java 14	92.17	-0.19	24.42**	2440.50	0.77	646.70
12.	Pusa 2-21	95.83	-1.25	1.20	2507.33	-0.55	15 178.68*
13.	Pusa 33	93.17	-2.49	-0.07	2548.50	-2.63	1 281.03
14.	IR 36	94.67	0.16	3.85**	2398.50	-1.46	2 923.27
15.	HKR 1	95.33	0.33	10.13**	2580.67	0.64	14 192.94*
16.	Palman 579	95.00	2.43	0.60	2320.50	2.08	9 036.41
17.	Parasad	95.00	1.20	0.43	2255.17	0.62	9 340.73
18.	IR 64	89.83	2.61	0.15	2370.17	0.93	4 958.01
19.	Manhar	89.50	2.10	5.77*	2092.33	2.50	21 939.81**
20.	Pusa 169	91.33	2.54	2.49	2452.50	3.27	3 374.79
21.	HKR 119	91.17	1.74	15.49**	2165.00	1.79	-3 075.65
22.	Jhona 349	93.67	1.29	10.09**	2822.83*	-0.80	-3 405.71
23.	RP 967-4-7-4	88.50	3.03	2.21	2192.50	2.70	-2 128.82
24.	Basmati 370	89.33	0.14	-0.57	2489.00	0.23	1839.94

Table II to be continued

Sr. No.	Genotypes	Standard germination			Vigour index		
		$\mu_1$	$b_1$	$s_{di}^{-2}$	$\mu_1$	$b_1$	$s_{di}^{-2}$
25.	Pak Basmati	83.33	0.56	9.60**	2462.17	-0.24	4 336.61
26.	RPSC 44	91.00	2.09	1.66	2403.67	1.55	13 881.84*
27.	HKR 212	90.50	0.35	2.24	2 188.17	0.55	10 618.14*
28.	HKR 210	90.17	0.30	29.48**	2 099.83	-0.37	14 432.57*
29.	HKR 206	91.33	1.37	20.37**	2 357.67	0.76	18 987.52**
30.	HKR 207	91.67	0.93	37.83**	2 272.83	0.57	6 767.47
General Mean		91.72	1.00		2 363.32	1.00	
S.E.		1.93	1.08		80.86	1.23	

\* significant at 5% level of significance

\*\* significant at 1% level of significance

near) and pooled deviation (non-linear component) were highly significant for grain yield per plant, 1000 grain weight, root length and vigour index, whereas only pooled deviation was highly significant for standard germination, fresh ungerminated seed and dry weight per seedling. Similar results were reported by Silveira and Venkovsky (1983) and Amrithadevarathinam (1987). The higher magnitude of the non-linear portion of the  $g \times e$  interaction showed that there was either no relationship or a complex relationship existed between genotypes and environmental effects, and the prediction for these characters will thus be difficult.

Many works have emphasized that the prediction is more reliable when the linear component is significant. The three varieties IR 8, PR 106 and IR 64 were found stable, with moderately high yield, unit regression and least deviation from regression. Four varieties, HKR 126, Java 14, IR 36 and Pusa 33, were best in yield and exhibited unit regression, but they were unstable as they had highly significant deviation from regression. The report of Panwar and Arora (1976) confirms our results. Parameters like standard germination and seed vigour offered some promise to identify the stable varieties. Accordingly, the varieties IR 8, Jaya and Pusa 33 exhibited consider-

ably high standard germination and vigour index (Table II). Thus, in the present case the changing production environments did not prove to be of much consequence in these genotypes. This is in contrast to the earlier reports of Thiagrajan (1990) and Majumder & Borthakur (1996) in rice. The reason for the discrepancy could be larger differences in genotypes and locations used by earlier works.

### References

- AMRITHADEVARATHINAM, A. (1987): Stability analysis of some released varieties, local cultivars and promising cultures of dry and semi-dry paddy. *Madras Agric. J.*, 74: 434-439.
- EBERHART, S. A., RUSSELL, W. A. (1966): Stability parameters for comparing varieties. *Crop Sci.*, 6: 36-40.
- GUPTA, V. P., SAINI, G. C. (1990): Genotype-environment interaction for seed germinability traits in soybean under monoculture and in association with maize. *Intern. Conf. Seed Sci. and Technol. N. Delhi*, Feb. 21-25: 142.
- MAJUMDER, N. D., BORTHAKUR, D. N. (1996): Genotype-environment interaction in rice. *Oryza*, 33: 11-17.
- PANWAR, D. V. S., ARORA, N. D. (1976): Phenotypic stability of grain yield in rice. *H.A.U. J. Res.*, 6: 117-121.
- SILVEIRA, E. P., VENKOVSKY, R. (1983): Grain yield stability of upland rice in Sao Paulo State. *Cienciae Cultura*, 35: 971-977.
- THIAGRAJAN, C. P. (1990). Sources of variation in rice seed quality. *Intern. Rice Res. Newsletter*, 15: 9-10.
- ISTA (1985). International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.*, 13: 299-513.

Received June 6, 1997

### Stabilita parametrů výnosu a osiva rýže

Na 30 různých genotypech rýže jsme stanovovali efekt interakce mezi genotypem a prostředím ( $g \times e$ ). Variabilita v důsledku  $g \times e$  byla vysoce významná pro všechny znaky s výjimkou znaků čerstvě nenaklíčená semena, délka kořenů, délka stébla a sušina semenáčků. Rozdělení interakce  $g \times e$  a naznačilo, že variabilitu lze připsat jak

g x e (lineární), tak úhrnné odchylce (nelineární). Ve výnosu zrna se jako stabilní ukázaly pouze tři odrůdy IR 8, PR 106 a IR 64, které vykazovaly mírně vyšší střední průměrný výnos a střední reakci na prostředí. Odrůdy IR 8, Jaya a Pusa 33 vykazovaly u znaků vysokou a stabilní standardní klíčivost a zlepšenou vitalitu semen.

stabilita; parametry osiva; rýže

---

*Contact address:*

Dr. P. S. Sabharwal, Assistant Scientist (Plant Breeding)  
H.A.U. Regional Research Station, Karnal-132 001 (Haryana), India  
tel.: 0091 0184 218 57

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

***CURRENT CONTENTS***  
**na disketách**

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

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

**Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:**

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

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

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

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

V případě zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

**Ústřední zemědělská a lesnická knihovna**

Dr. Soňa Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/242 579 39, l. 520, fax: 02/242 539 38

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

## RESULTS OF A PHYSIOLOGICAL SELECTION APPROACH TO IMPROVE DROUGHT RESISTANCE IN SUNFLOWER

Mario BALDINI, GianPaolo VANNOZZI, Maurizio TURI<sup>1</sup>,  
Daniel GOMEZ-SANCHEZ

*Crop Production Department of Udine University, Udine;*

<sup>1</sup>*Agronomy Department of Pisa University, Pisa, Italy*

**Abstract:** The use of physiological traits as criteria to select high-yielding sunflower genotypes that can resist drought is proposed. The aim was to evaluate (i) the variability of physiological characters in the progeny; (ii) the heritability and effectiveness of selection for these characters, and (iii) what correlated responses in other growth traits are caused by the selection for high physiological activity under drought conditions. Carbon exchange rate, transpiration rate and relative water content of leaves were used as selection criteria to improve the drought resistance in a population coming from a cross between the wild species *Helianthus argophyllus* and inbred line C of cultivated sunflower. In the F<sub>3</sub> and under drought conditions, other traits related to growth and yield were evaluated: time to flowering and maturity, plant height, leaf area per plant, yield of dry matter per plant, and root/shoot index. The observed variability showed that selection for physiological traits was possible. The heritabilities calculated as parent-offspring and standard unit were very similar and intermediate for the three selection criteria, while the realized heritability, obtained by choosing the extreme values of the F<sub>2</sub> population (divergent selection), was significantly greater than the others, showing the suitability of the three physiological traits as selection criteria. Following divergent selection in the F<sub>2</sub> population, elevated physiological activity under drought resulted in genotypes with a high vegetative growth and with an elevated water consumption. This was paralleled by an increase of root/shoot index and was very useful under local conditions of water availability. Stress was avoided by continued water uptake from deeper soil layers. While genotypes, obtained with a selection us low physiological activity under drought, show a more conservative mechanism to limit their growth and save water. This tolerance mechanism could be very useful in the environment with a superficial soil and fixed amount of water availability present at sowing time.

drought resistance improvement; physiological index; heritability; sunflower

Among the approaches to select for drought resistance in a cultivated crop, the selective incorporation of specific morphological or physiological cha-

characters related to drought resistance into varieties with high yield potential under optimum conditions has become a subject of major interest in the last years (see review by Blum, 1979). Much of this interest comes from attempts to reduce the time required by selection for other criteria that involve yield and its stability, with tests over many years and locations (Hurd, 1969, 1974; Fischer, Maurer, 1978), and to the progress on information about physiological processes and genetic systems related to seed yield under drought in sunflower (Feres et al., 1986; Gimenez, Feres, 1986; Passioura, 1986; Turner, 1986; Baldini et al., 1991). The identification of a simple physiological trait which confers an advantage in yield under a specific stress condition is a dilemma in many breeding programmes. Gas exchange and leaf hydration are indicated by many authors (Boyer, 1976; Planchon, 1987) as being possible physiological mechanisms that are related to yield under drought conditions and that permit reliable, effective and rapid measurements to screen the progeny.

The wild genetic resource, *H. argophyllus*, has been used as a source of drought tolerance in large programmes of many countries (Seiler, 1988; Skorić, 1992). Many of these studies involved exclusively the variability in the density of trichomes in the progeny in relation to physiological activity under wet and drought conditions (Harada, Miller, 1982; Iuoras, Voinescu, 1984; Blanchet, Gelfi, 1980; Morizet et al., 1984). On the other hand, Baldini et al. (1993) and Martin et al. (1992) suggest that instead of morphological leaf characteristics of wild species, the root system could be responsible for a high physiological activity and high water use efficiency (WUE) under drought. Today, in fact, there is no doubt that many shoot responses, such as leaf conductance, may arise from root signals as available soil water decreases and/or the resistance of soil to root expansion increases (Tardieu, Davies, 1993; Passioura, 1988; Kramer, 1988; Passioura, Gardner, 1990; Tardieu, 1994).

The aims of this work were to (i) evaluate the variability of the physiological parameters such as gas exchange and relative water content of leaves in a population from a cross between *H. argophyllus* and cultivated sunflower differing in the above mentioned characters under drought; (ii) estimate the heritabilities from parent-offspring regression of advanced filial generation, and (iii) determine the effectiveness of selection for the above physiological

characters and measure the possible effects of this selection on other traits related to plant growth and yield.

### MATERIAL AND METHODS

A single-cross population was used in this study. The male parent of the population was the wild species *H. argophyllus*, coming from USDA-ARS, North Dakota, and characterized by good physiological behaviour under drought as previously reported by Baldini et al. (1993); the female parent was line C, a modern inbred line of cultivated sunflower, selected at the Agronomy Department of Pisa University and chosen for its susceptibility to drought (Baldini et al., 1993). The cross was made during summer 1991, and the F<sub>2</sub> generation was produced by controlled selfing of six F<sub>1</sub> plants under warm and lighted conditions in the greenhouse during the winter 1992. The F<sub>3</sub> generation was similarly obtained by selfing and separate harvesting of F<sub>2</sub> plants.

#### Single-plant evaluation in the field

The two parental genotypes and plants of the F<sub>2</sub> were evaluated in the field under drought during summer 1992 at the Experimental Farm of Pisa University, located at San Piero a Grado 10 km from Pisa, on a homogeneous deep soil with a sandy-loam texture where the groundwater level during the study was about 2.5 to 3 m below the soil surface. The two parental lines and the 156 F<sub>2</sub> seeds were sown on 05/06/1992 in six adjacent rows 7 m long, with 0.7 m of row distance at a rate of about 4 seeds per meter. Border rows of the female C line were established. 70 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha and 80 kg N/ha were applied, with phosphate at sowing time, and nitrogen in two equal doses at sowing and 21 days after emergence. Establishment of the plants was enhanced by two irrigations, the first immediately after sowing and the second 4 days later. The F<sub>2</sub> progeny, as 144 plants, emerged 10 days after sowing. There was no further irrigation after emergence, and the plants were grown under drought conditions up to maturity. No significant rainfall occurred during the crop cycle. 65 days after sowing (incipient flowering time) on the F<sub>2</sub> the following three characteristics were recorded:

- gaseous exchange of the plants as carbon exchange rate in  $\mu\text{moli} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (CER) and transpiration rate in  $\text{mmoli} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  (TR);
- relative leaf water content in % (RWC).

Leaf gas exchange was measured between 1 h prior to and 1 h after solar noon, using a commercial ADC (Analytical Development Co., England) open-portable system (Long, Hallgren, 1985). All measurements were made in the midsection of the three top and fully expanded leaves of each plant. On the same leaves, the relative water content (RWC) was sampled during the same afternoon (at about 17.00 local STD time), following the methodology suggested by Sobrado and Turner (1983).

All 144 F<sub>3</sub> progenies, derived from selfed F<sub>2</sub> plants, were evaluated under protective rainproof shelters during the summer of 1993 at the Experimental Farm of Pisa University. The plants were hand sown on 2nd June and the water content of the soil was maintained at an approximate field capacity until 40 days after sowing. Then drought conditions were imposed by suspension of irrigation, resulting in a progressive water stress until physiological maturity. Each progeny was sown in two 2 meter rows, with 0.5-m row spacing, and with a final number of 8–10 plants per plot, following a randomized block design, with two replicates. 72 days after sowing the same physiological characters as for the F<sub>2</sub> were recorded in all plots, and in addition these characters were measured:

- leaf area per plant in dm<sup>2</sup> (LA), calculated using the relationship according to Rowson et al. (1980);
- flowering-physiological maturity period in days (F–M);
- plant height in cm (H);
- above-ground dry matter per plant (g);
- root dry matter per plant (g);
- root index.

Four mature plants per plot were harvested by hand and subdivided into above-ground part and root and dried at 80 °C before weighing. The root system of plants designated for recovering was carefully dug up from the soil to a depth of 60 cm and an area of 30 x 30 cm around the crown of a plant. Root index was calculated as a proportion of root dry matter in total dry biomass.

### Heritability estimation

Narrow-sense heritability for the physiological characters was estimated using simple linear parent-offspring regression. F<sub>3</sub> progeny means obtained

in 1993 under rainproof-shelters were regressed separately on individual  $F_2$  parent plant values, coming from the field during 1992. Parent-offspring regressions were adjusted for parental inbreeding according to Smith and Kinman (1965), and the regression coefficients and their standard errors were multiplied by 2/3. Since the parents and the progeny were evaluated in different environments and years, heritability could not be influenced by genotype x environment interaction (Casler, 1982). Nevertheless, different environmental conditions which tend to interact with the phenotypic expression of the plants, could change in scale of parents to progenies with a drastic effect on the magnitude of heritability estimate (Frey, Horner, 1957). To reduce the potential scale effect of the two environments, the correlation coefficient was also used as an estimate of heritability, that is equivalent [as reported by Frey and Horner (1957)] to regression coefficient on data coded in terms of standard deviation units (standard-unit heritability).

### Selection

At the same time, seeds from 12–13  $F_2$  plants exhibiting the highest and lowest values (positive and negative selection) of each physiological character (CER, TR and RWC) were chosen and grown randomized within the same experiment as described for  $F_3$  progenies. The average  $F_2$  selection intensity resulted in 17.3% for RWC and CER and 18.7% for TR. Realized heritability (Hr) was also estimated using the results of  $F_3$  progeny values as a consequence of selection among the  $F_2$  plants with the formula suggested by Farnham et al. (1990):

$$Hr = \frac{(\text{mean of selected } F_3 \text{ progenies}) - (F_3 \text{ mean population})}{(\text{mean of selected } F_2 \text{ plants}) - (F_2 \text{ mean population})}$$

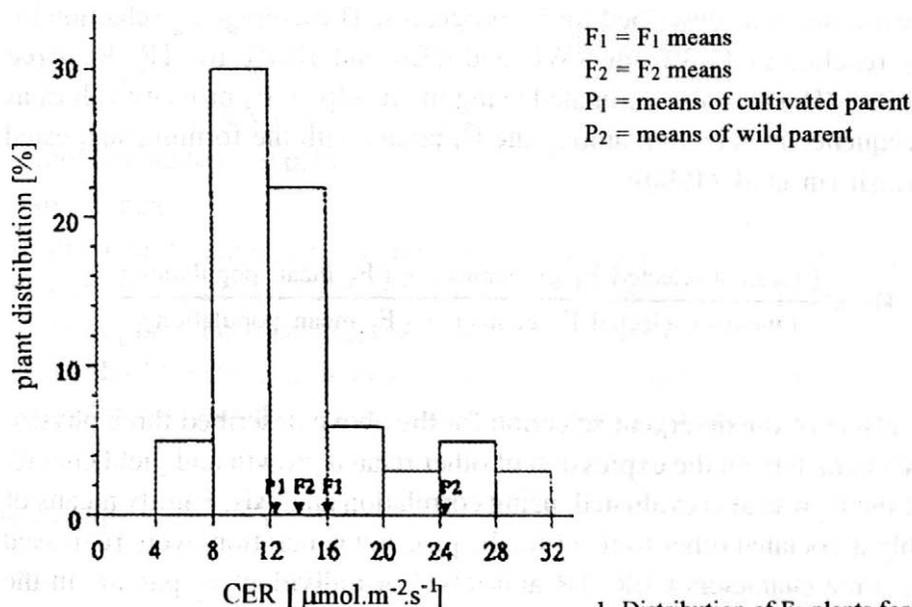
The effect of the divergent selection for the above described three physiological characters on the expression of other related growth and yield characters of the  $F_3$  was also evaluated, using correlation analysis. Family means of possibly associated other traits of the  $F_3$  progeny generation, were regressed on the three characters CER, TR and RWC of individual  $F_2$  parents in the previous generation in order to determine if other characters were altered by

the selection for extreme positive and negative levels of physiological activity under drought.

## RESULTS AND DISCUSSION

The distribution for the three physiological characters (CER, TR and RWC) in the  $F_2$  population was unimodal and continuous for all characters as presented in Figs. 1–3. For all characters some plants of the  $F_2$  exceeded the mean value of the wild parent, and the number of individuals that showed lower values than the cultivated parent (C line) was greater than the number that showed values higher than the wild parent, especially for CER and TR, exhibiting a transgressive segregation. The distribution was slightly skewed towards higher values for CER. In any case the  $F_1$  means did not show values higher or lower than the midparent values, confirming the possibility to obtain some results from a selection programme using physiological traits.

Analysis of variance of all  $F_3$  progenies (Table I) showed significant differences between progenies for all the examined characters, underlying the presence of high variability in the  $F_3$  population, although cultivated under drought condition. The levels of stress on the plants expressed as water



1. Distribution of  $F_2$  plants for CER

I. Analysis of variance for all analyzed characters of F<sub>3</sub> progeny grown under limited water availability, 1993

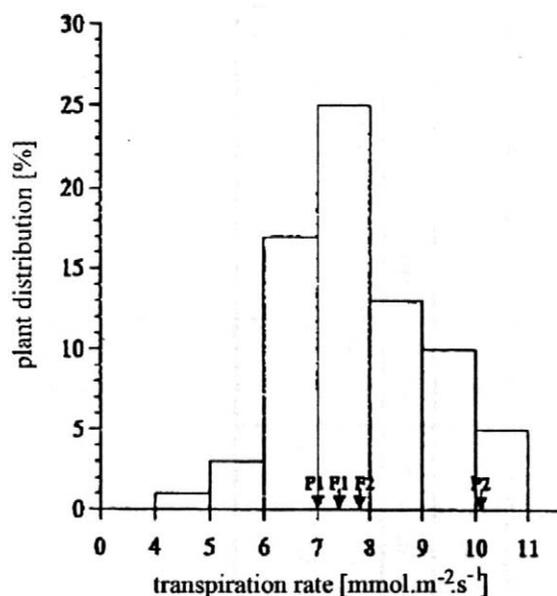
Sources of variation	d.f.	CER	TR	RWC	Flow-mat period	Plant leaf area	Plant height	Plant dry matter	Root dry matter	Root/shoot ratio
	Mean squares									
Blocks	1	13.7	0.9	0.00006	34.1	71.1	27.3	1214.4	30.4	0.00084
F <sub>3</sub> families	172	100.5**	4.3**	0.015**	83.9**	7547.1**	13864.2**	49689.2**	1036.3**	0.0033**
Error	172	12.6	0.8	0.001	11.6	170.9	317.6	1409.9	31.3	0.0007

\*, \*\* significant at  $P \geq 0.05$  and  $\geq 0.01$ , respectively

II. Correlation coefficient between mean values of growth-yield traits of F<sub>3</sub> progeny and physiological characters of individual F<sub>2</sub> parents grown the previous year and obtained by divergent selection

Characters	Flow.-matur. period	Plant leaf area	Plant height	Plant dry matter	Root dry matter	Root/shoot ratio
CER	0.75**	0.78**	0.75**	0.73**	0.65**	0.50**
TR	0.72**	0.69**	0.67**	0.63**	0.53**	0.40*
RWC	0.60**	0.55**	0.71**	0.53**	0.52**	0.44*

\*, \*\* significant at  $P \geq 0.05$  and  $\geq 0.01$ , respectively

2. Distribution of F<sub>2</sub> plants for TR

F<sub>1</sub> = F<sub>1</sub> means  
 F<sub>2</sub> = F<sub>2</sub> means  
 P<sub>1</sub> = means of cultivated parent  
 P<sub>2</sub> = means of wild parent

potential at pre-dawn were between  $-0.75$  and  $-2.1$  Mpa in the F<sub>2</sub> trial, and between  $-0.8$  and  $-2.5$  Mpa in the F<sub>3</sub> trial.

The heritability estimate computed by means of the F<sub>3</sub>-F<sub>2</sub> linear regression (Table III) was low for TR ( $h^2 = 0.28$ ) and moderately intermediate for CER and RWC ( $h^2 = 0.37$  and  $0.36$  respectively). Since the parents and offspring were cultivated in different environments, heritability estimates with the regression coefficient as above reported, would not be biased by genotype  $\times$  environment interaction (Casler, 1982), but possible interferences in heritability estimate could be due to the scale differences by different environmental effects on some characteristics in plants (Fernan-

III. Estimation of heritabilities ( $\pm$  SE) as regression coefficient ( $h^2a$ ) and as standard unit ( $h^2b$ ) from linear regression of physiological parameter means of F<sub>3</sub> progeny on physiological values of individual F<sub>2</sub> parents

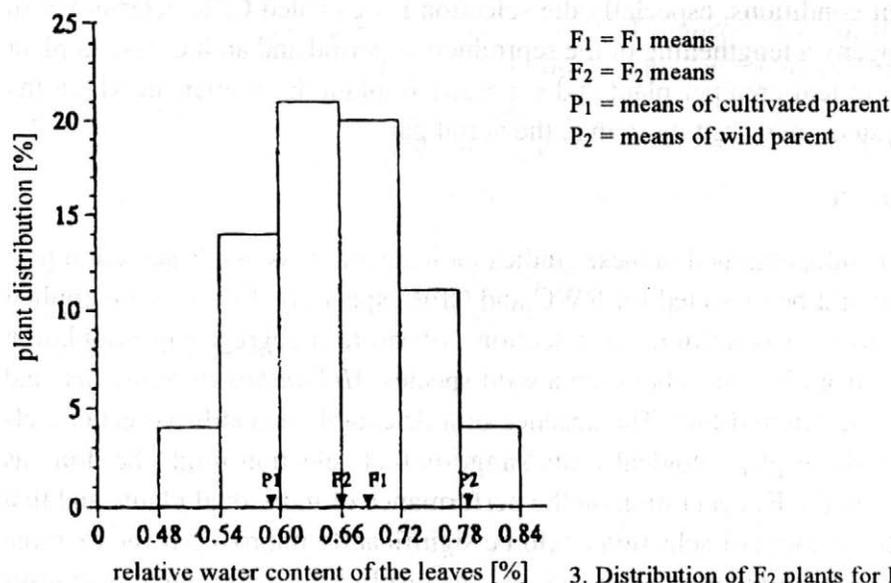
Characters	$h^2a$	$h^2b$
CER	$0.37 \pm 0.06$	$0.42 \pm 0.06$
TR	$0.28 \pm 0.07$	$0.32 \pm 0.08$
RWC	$0.36 \pm 0.06$	$0.39 \pm 0.08$

IV. Estimate of realized heritability (Hr) for physiological parameters computed from family mean of F<sub>3</sub> progeny of divergent selections among F<sub>2</sub> plants

Characters	Hr	
	positive	negative
CER	0.64	0.79
TR	0.49	0.48
RWC	0.73	0.72

dez, Miller, 1985; Casler, 1982). For that reason, a computation of heritability in standard-units was performed and reported in Table III. The similarities of the two heritability estimates suggests the absence of significant scale differences between the offspring and parents. This fact may be explained by the possibility that both progenies showed the same reaction mechanism although they were grown under different drought conditions.

The estimation of realized heritability (Hr) from a divergent selection with an intensity of about 17–18% of the F<sub>2</sub> population was similar in both positive and negative selection for TR (0.49 and 0.48, respectively) and for RWC (0.73 and 0.72, respectively), while the realized heritability in negative selection for CER showed a significantly higher value than the positive selection

3. Distribution of F<sub>2</sub> plants for RWC

(0.82 and 0.64, respectively) (Table IV). This result was probably due to the presence of a few  $F_2$  plants with stable and conditional chlorophyll mutants with altered leaf pigmentation during the inbreeding (Mihaljcević, 1992a, b), which also inhibited the photosynthetic activity in their progenies. However, these estimations were significantly higher in magnitude than the regression obtained from an unselected population, which suggested that the effectiveness of the selection under drought for the above reported characters could be significantly improved by choosing extreme values.

The correlations between the physiological characters used as selection criteria and the other analyzed characteristics of the  $F_3$ -derived progeny resulting from a divergent selection on the basis of  $F_2$  plant population performance were calculated. As reported in Table II, all correlations were statistically significant, with many high  $r$  values and there were no negative correlations between physiological traits of the  $F_2$  and the analyzed yield/growth characters of the derived  $F_3$  progenies. The results indicate that correlation coefficients were higher for CER than to TR and RWC in correspondence with plant height ( $r = 0.75$ ), flowering-maturity period ( $r = 0.75$ ), plant leaf area ( $r = 0.78$ ) and plant dry matter ( $r = 0.73$ ). A low, but highly significant correlation occurred, however, between physiological characters in the  $F_2$  and root dry matter and root/shoot ratio of the  $F_3$ . Thus, under drought conditions, especially the selection for elevated CER determined in the progeny a lengthening of the reproductive period and an increase in plant height, in leaf area per plant and generally in plant dry matter, in which the root system increased more than the aerial part.

## Conclusion

The results obtained in these studies indicate that reasonable selection progress would be expected for RWC and CER especially if these were applied under drought conditions as selection criteria to a segregating population coming from the cross between a wild species, *Helianthus argophyllus*, and a cultivated inbred line. The absence of a detectable nonadditive genetic effect for these physiological traits suggests that selection might be done as early as in the  $F_2$  generation on the performance of individual plants and that the effectiveness of selection could be significantly improved if the extreme values of the population were chosen. The results on the correlated responses

of the other traits permit to consider the use of physiological traits for the selection of drought resistant genotypes. Selecting for extreme values of gas exchange and RWC under limited water availability identified genotypes which activated an opposite mechanism to drought. In fact, genotypes selected for elevated physiological activity showed high vegetative growth, large leaf area per plant, elevated transpiration rates per unit leaf area and consequently an elevated water consumption per plant (Table II). The mechanism involved, probably coming from the wild species (Baldini et al., 1993), avoids drought stress by an increase of root index (Tables I and II) with a larger soil volume penetrated by deep roots, permitting a continuous water uptake. The appropriateness of this selection strategy, that might be confirmed by positive yield results in the future, could be emphasized in an environment corresponding to that in this trial, i.e. a very deep non-compacted soil with a favourable structure and deep wet layers below 2–3 meters. Under different environmental conditions, characterized by very superficial soil, a very compacted soil or one rich in structural obstacles such as stones, with unique limited water availability at sowing time, the genotype selected above probably wasted all water during the vegetative phases, with a very negative influence on the final yield. A genotype better adapted to such an environment probably could come from the negative extreme values of the population under selection, with a more conservative mechanism, with limited gas exchanges, water consumptions and reduced growth, in which the hormonal messages from roots in drying soil become predominant in reducing both physiological activity and growth of the plants (Tardieu, 1994). For these reasons the physiological traits utilized as an index during a selection programme to improve drought resistance could be very interesting because heritable and screened without sophisticated technology. However, the local pattern of water availability, related to environmental conditions, seems to be of fundamental importance for the determination of traits contributing to drought tolerance.

### References

BALDINI, M., CECCONI, F., VANNOZZI, GP., BENVENUTI, A. (1991): Effects of drought on yield reduction in different sunflower hybrids. *Helia*, 14, no. 15: 55–62.

- BALDINI, M., CECCONI, F., VANNOZZI, G. P. (1993): Influence of water deficit on gas exchange and dry matter accumulation in sunflower cultivars and a wild species (*Helianthus argophyllus* T&G). *Helia*, Novi Sad YU, 16, no. 19: 1-10.
- BLANCHET, R., GELFI, N. (1980): Caracters xerophytiques de quelques espèces d'*Helianthus* susceptible d'être utilisées pour améliorer l'adaptation aux conditions sèches du Tournesol cultivé (*H. annuus* L.). *C.R. Acad. Sc. Paris*, 290: 279-282.
- BLUM, A. (1979). Genetic improvement of drought resistance in crop plants: a case for sorghum. In: MUSSELL, H., STAPLES, R. C. (Eds.): *Stress Physiology in Crop Plants*. New York, Wiley Intersc: 429-445.
- BOYER, J. S (1976): Water deficits and photosynthesis. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.): *Water deficits and plant growth*. Vol. 4. New York, Acad. Press: 153-190.
- CASLER, M. D. (1982): Genotype x Environment interaction bias to parent-offspring regression heritability estimates. *Crop Sci.*, 22: 540-542.
- FARNHAM, M. W., STUTHMAN, D. D., POMMERANKE, G. J. (1990): Inheritance of and selection for panicle exertion in semidwarf oat. *Crop Sci.*, 30: 328-334.
- FERNANDEZ, G. C. J., MILLER, J. C. (1985): Estimation of heritability by offspring-parent regression. *Theor. Appl. Genet.*, 70: 650-654.
- FERERES, E., GIMENEZ, G., FERNANDEZ, J. M. (1986): Genetic variability in sunflower cultivars under drought. I. yield relationships. *Aust. J. Agric. Res.*, 37: 573-582.
- FISCHER, R. A., MAURER, R. (1978): Drought resistance in spring wheat cultivars. I. grain yield responses. *Aust. J. Agric. Res.*, 29: 897-912.
- FREY, K. J., HORNER, T. (1957): Heritability in standard units. *Agron. J.*, 49: 59-62.
- GIMENEZ, C., FERERES, E. (1986): Genetic variability in sunflower cultivars under drought. II. growth and water relations. *Aust. J. Agric. Res.*, 37: 583-597.
- HARADA, W. S., MILLER, J. F. (1982): Inheritance of trichome characteristics in sunflower, *Helianthus* spp. In: Proc. 10th Int. Sunfl. Conf., Surfers Paradise, Australia, 14-18 March. Int. Sunfl. Assoc., Toowoomba, Qld., Australia: 233-235.
- HURD, E. A. (1969): A method of breeding for yield of wheat in semi-arid climates. *Euphytica*, 18: 217-226.
- HURD, E. A. (1974): Phenotype and drought tolerance in wheat. *Agric. Meteorol.*, 14: 39-55.
- IUORAS, M., VOINESCU, A. (1984): The use of the species *Helianthus argophyllus* Torrey and Gray for breeding xerophytic forms of sunflower. *Probleme Teoretica si Aplicata*, 16, 123-130.

- KRAMER, P. J. (1988): Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell, Environ.*, 11: 565-567.
- LONG, S. P., HALLGREN, J. E. (1985): Measurement of CO<sub>2</sub> assimilation by plants in the field and the laboratory. In: COOMBS, J., HALL, D. O., LONG, S. P., SCURLOCK, J. M. O. (Eds.): *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Oxford, Pergamon Press: 62-94.
- MARTIN, M., MOLFETTA, P., VANNOZZI G. P., ZERBI, G. (1992): Mechanism of drought resistance of *Helianthus annuus* and *Helianthus argophyllus*. *Proc. 13th Int. Sunfl. Conf., Pisa*, 7-11 Sept. 1992, 571-586.
- MIHALJCEVIĆ, M. (1992a): Chlorophyll-deficient mutants in sunflower. I. Mendelian inheritance. *Proc. 13th Int. Sunfl. Conf., Pisa*, 7-11 Sept. 1992, 1152-1157.
- MIHALJCEVIĆ, M. (1992b): Chlorophyll-deficient mutants in sunflower. II. Non-mendelian inheritance. *Proc. 13th Int. Sunfl. Conf., Pisa*, 7-11 Sept. 1992, 1158-1161.
- MORIZET, J., CRUIZAT, P., CHATENOU, J., PICOT, P., LECLERQ, P. 1984. Essai d'amélioration de la résistance à la sécheresse du tournesol (*Helianthus annuus*) par croisement interspécifique avec une espèce sauvage (*Helianthus argophyllus*). *Reflexions sur les méthodes utilisées et les premiers résultats obtenus*. *Agronomie*, 4, 577-585.
- PASSIOURA, J. B. (1986): Resistance to drought and salinity: avenues for improvement. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13: 191-201.
- PASSIOURA, J. B. (1988): Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in dry soil. *Aust. J. Plant Physiol.*, 15, 687-693.
- PASSIOURA, J. B., GARDNER, P. A. (1990): Control of leaf expansion in wheat seedlings growing in drying soils. *Aust. J. Plant Physiol.*, 149-157.
- PLANCHON, C. (1987): Drought avoidance and drought tolerance in crop plants inter- and intraspecific variability. In: MONTIE, L., PORCEDDU, E. (Eds.): *Drought Resistance in Plants*. Luxembourg, EEC: 79-84.
- RAWSON, H. M., CONSTABLE, G. A., HOWE, G. N. (1980). Carbon production of sunflower cultivars in field and controlled environments. II leaf growth. *Aust. J. Plant Physiol.*, 7: 575-586.
- SEILER, G. J. (1988): The genus *Helianthus* as a source of genetic variability for cultivated sunflower. In: XII Int. Sun. Conf., Novi Sad, 1, 17-58.
- SKORIČ, D. (1992): Achievements and future directions of sunflower breeding. *Field Crops Res.*, 30: 231-270.

SMITH, J. D., KINMAN, M. L. (1965): The use of parent-offspring regression as an estimator of heritability. *Crop Sci.*, 5: 595-596.

SOBRADO, M. A., TURNER, N. C. (1983): Influence of water deficits on the water relations characteristics and productivity of wild and cultivated sunflower. *Aust. J. Plant Physiol.*, 10: 195-203.

TURNER, N. C. (1986): Adaptation to water deficits: a changing perspective. *Aust. J. Plant Physiol.*, 13: 175-190.

TARDIEU, F., DAVIES, W. J. (1993): Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant, Cell, Environm.*, 16: 341-349.

TARDIEU, F. (1994): Growth and functioning of roots or root systems subjected to soil compaction. Towards a system with multiple signalling? *Soil Tillage Res.*, 30: 217-243.

Received June 26, 1996

### Fyziologická selekce pro zvýšení odolnosti k suchu u slunečnice

Je navrhováno použití fyziologických znaků jako kritérií pro selekci vysokoproduktivních genotypů slunečnice, které mohou být odolné proti nedostatku vláhy. Cílem bylo vyhodnocení (i) variability fyziologických znaků v potomstvu; (ii) dědivosti a efektivity selekce na tyto znaky, a (iii) jaké korelované reakce u ostatních znaků růstu způsobuje selekce na vysokou fyziologickou aktivitu v podmínkách sucha. Pro zvýšení odolnosti vůči nedostatku vláhy v populaci pocházející z křížence mezi divoce rostoucím druhem *Helianthus argophyllus* a inbrední linií C kulturní slunečnice jsme použili jako selekční kritéria rychlost výměny uhlíku, rychlost transpirace a relativní obsah vody v listech. V generaci  $F_3$  a v podmínkách sucha jsme vyhodnotili ostatní znaky týkající se růstu a výnosu: dobu do kvetení a zralosti, výšku rostlin, listovou plochu na jednu rostlinu, výnos sušiny z jedné rostliny a poměr podzemní a nadzemní části rostliny. Zjištěná variabilita naznačila, že selekci na fyziologické znaky lze provádět. Dědivosti vypočítané ze vztahu rodič-potomstvo a standardní jednotka byly velmi podobné a pro tři kritéria selekce byly na střední úrovni, zatímco realizovaná dědivost získaná výběrem extrémních hodnot v populaci  $F_2$  (divergentní selekce) byla významně vyšší než zbývající, což ukazuje vhodnost použití tří fyziologických znaků jako selekčních kritérií. Divergentní selekci v populaci  $F_2$  s vyšší fyziologickou aktivitou v období sucha vedla k výběru genotypů s rychlým vegetačním růstem a s vyšší spotřebou vody. Současně došlo ke zvýšení poměru podzemní

a nadzemní části rostliny, což bylo velmi účelné v místních podmínkách dostupnosti vláhy. Nepřetržitým příjmem vody z hlubších vrstev půdy se podařilo zabránit stresu. Tyto genotypy vykazují lepší záchovný mechanismus pro šetření vodou, a tím, že omezují rychlost svého růstu. To je v souladu se selekcí na nízkou fyziologickou aktivitu. Tento mechanismus tolerance by mohl být velmi užitečný v prostředí s mělkou půdou a evidovaným množstvím dostupnosti vláhy v době výsevu.

zvýšení odolnosti proti suchu; fyziologický index; dědivost; slunečnice

---

**Contact address:**

Dr. Mario Baldini, Crop Production Department of Udine University  
via delle Scienze 208, 33100 Udine, Italy  
tel.: + 0432 558 601-02, fax: + 0432 558 603

## Ústav zemědělských a potravinářských informací

vydává

# ZAHRADNICKÝ NAUČNÝ SLOVNÍK

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

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

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

Předpokládaný rozsah slovníku je 5 dílů formátu A4 (každý rok vyjde jeden díl). První díl má 440 stran textu včetně pérovek a černobílých fotografií a 32 barevných tabulí, druhý díl 544 stran a 40 barevných tabulí, třetí díl 560 stran a 40 barevných tabulí.

Cena prvního dílu je 295 Kč (bez poštovného), druhého 345 Kč a třetího 385 Kč. Čtvrtý díl se připravuje pro tisk.

### **Závazné objednávky zasílejte na adresu:**

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

## INHERITANCE OF BRANCHING TYPES IN SUNFLOWER

Ion SANDU, Alex V. VRÂNCEANU, Dan-Sorin CRAICIU, Ilie BĂLANA,  
Maria PĂCUREANU

Research Institute for Cereals and Industrial Crops, Fundulea, Călărași, Rumania

**Abstract:** The branching character in sunflower has a high morphological variability. Branching can be short or long, profuse or scarce, basal or top, or all stem type. The branching character in wild species of sunflower is inherited by dominant genes, while in cultivated sunflower it is mainly determined by recessive ones. Our study included different types of branching and non branching (mono-headed) type. The purpose was to determine the inheritance of the branching character from crosses between the different types. Different types of branching in cultivated sunflower are controlled by different recessive genes, and an influence of the environment was also demonstrated. The types with recessive genes are widely used as restorer lines in sunflower hybrid production. Crosses between two inbred branching types resulted in intermediate types. The  $F_2$  generation segregated in 1 : 2 : 1 ratio for this character.

sunflower; inheritance; branching; dominance; recessiveness

Branching is very common in wild species of sunflower, and shows a wide range of morphological variability. Using test crosses within wild species (Putt, 1940; Heiser, 1954) it was demonstrated that the branching character is dominantly inherited. Putt (1940) identified a single dominant gene named *Br1* which controls all stalk branching.

Later (Hockett, Knowles, 1970) reported two other dominant genes, *Br2* and *Br3*, the first one controls the top branching. Together, the two mentioned genes control the branching over the whole length of the stalk. Kováčik and Škaloud (1990) reported two dominant complementary genes which together control the branching all along the main stalk. The branches were shorter if one of the two dominant genes were present. Putt (1964) established that the intensive branching of the inbred line 953-88-3 was inherited by a recessive gene named *b*. It is supposed that the origin of the *b* gene is a wild species from Renner, Texas. This type of branching is recessive, it is not expressed in crosses with a dominant "non branching" char-

acter. The  $F_1$  generation will exhibit only non branched plants. Hockett and Knowles (1970), reported a further two recessive genes, named  $b_2$  and  $b_3$ , which induced branching all along the stalk when they were homozygous.

The top branching was induced if only one of the two mentioned genes was present. Kováčik and Škaloud (1990) reported two genes  $b_1$  and  $b_2$  which segregated in the ratio 9:7 (non branched : branched) in the  $F_2$  generation.

If one or the other of the two aforementioned genes were present as homogenous recessive then the plants were branched. The study of the "branching" character of the stalk constituted the aim of many research projects in sunflower. Nenov and Tsvetkova (1994) studied the inheritance of branching types. Vrânceanu (1985) studied the use of recessive branching types in sunflower seed production. Work on this topic still needs to be continued to gain a better knowledge of the phenomenon.

## MATERIAL AND METHODS

The research was carried out during 1993–1995 at the Research Institute for Cereals and Industrial Crops at Fundulea. Nine sunflower inbred lines were included in diallel crosses, both directly and reciprocally. The inbreds had dominant genes for pollen fertility restoration (Rf) and genes which control the branching character. The  $F_1$  generation and the segregation ratio in the  $F_2$  were analysed. The following inbreds were used:

1. Rf 1064 – non branching type;
2. Rf 1066 – 6–8 branches at the top of the stalk, each 10-25 cm long;
3. Rf 102 – branches all along the stalk, the length of branches being 20–50 cm;
4. Rf 1721 – 2/3 of the stalk length branched and the branches having a length of 10-15 cm;
5. Rf 750007 – 7–9 branches at the top of the stalk, with a length of 12–40 cm;
6. Rf 420 – 8–9 branches in the upper half, with a length of 11–39 cm;
7. Rf 8791 – top branching (6–7 branches) with a length of 10–30 cm;
8. Rf 1566 – top branching (5–7 branches together), with a length of branches 10–38 cm;
9. Rf 8740 – two symmetric basic branches with a length of 40–60 cm.

Because of a strong interaction with the environment, the study of morphological characters of parental lines and  $F_1$  and  $F_2$  generations was made in 1995.

## RESULTS AND DISCUSSION

When the non branched type Rf 1064 was crossed with all other types of branching, only non branched plants were obtained in the  $F_1$  generation. After selfing of the  $F_1$ , the segregation ratio in  $F_2$  was 3:1 (non branched to branched). This demonstrates that branching was controlled by recessive genes, with the "non branched type" character being dominant. The reciprocal crosses did not show significant differences, whether the parental lines were used as male or female.

The crosses between different branching types produced an  $F_1$  that was intermediate for the number and length of branches and the position and angle of branch insertion. The data presented in Table I demonstrated that heterozygosity induced an intermediate expression of branching characters. The  $F_2$  generation presented a large variability. By crossing the non branched Rf 1064 with different types of branching in the  $F_2$  generation, the se-

I. Average number of branches in  $F_1$  generation

Female	Male								
	RF 1064	RF 1066	RF 102	RF 1721	RF 75007	RF 420	RF 8791	RF 1566	RF 8740
RF 1064	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RF 1066	7	11	12	10	10	8	12	0	
RF 102	13.5	13	14	12	12	11	0		
RF 1721	10	21	17	13	17	0			
RF 75007	7.5	11	11	11.5	0				
RF 420	8	11	13	0					
RF 8791	6.5	8	0						
RF 1566	6	0							
RF 8740									2

gregation ratio was 3 : 1 (non branched to branched). The branched plants were sub-divided into several phenotypic groups:

Rf 1064 x Rf 1066 : 70 non branched : 27 branched (9 : 2 : 8 : 6 : 2 plants in phenotypically different groups);

Rf 1064 x Rf 102 : 78 : 22 (10 : 4 : 6 : 1 : 1);

Rf 1064 x Rf 1721 : 64 : 18 (12 : 3 : 3).

The overall segregation ratio was 62 : 30 (3 : 4 : 8 : 10 : 1 : 1 : 3). This segregation of the F<sub>2</sub> generation demonstrated that the branching genes were located at different loci of the same chromosome.

The study of the branching character demonstrated that the phenomenon is very complex. There are several genes with individual effects, small and additive for branching character.

Rf 1064 x Rf 75007 : 61 : 35 (18 : 7 : 6);

Rf 1064 x Rf 420 : 66 : 21 (8 : 6 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1);

Rf 1064 x Rf 8791 : 68 : 30 (12 : 9 : 4 : 3 : 1 : 1);

Rf 1064 x Rf 1566 : 68 : 21 (7 : 7 : 7);

Rf 1064 x Rf 8740 : 73 : 20 (8 : 4 : 4 : 4).

The number of phenotypic groups for the segregating plants was between three and seven. This demonstrated that polygenic control of inheritance is involved. The number of phenotypic groups (three, four or seven) depends on the active number of alleles. The crosses between branching types that are recessively inherited produced in the F<sub>1</sub> generation new types intermediate for number, length, angle and position of branches.

The fact that in the F<sub>2</sub> generation all plants were branched, showed that the alleles are situated on the same chromosome. An inspection of the F<sub>2</sub> generation revealed useful types of plants amongst the phenotypic groups with an intermediate type of branching. The continuous phenotypic variation between the parental lines demonstrated the presence of three phenotypic groups, and the action of two pairs of genes which contribute to the expression of the same character, having a cumulative effect. The alleles of those genes could be dominant or recessive.

There was a particular response in the F<sub>2</sub> of the combination with line Rf 8740. It showed two basal branches with all combinations of branching type, and in this case the segregation ratio was 1 : 2 : 1. The branched plants were assigned to the above mentioned three phenotypic groups.

The cross Rf 1066 x Rf 8740 produced:

- plants totally branched, branches with variable length, increasing from the base to the top;
- plants branched all along the stalk, more numerous in the upper half;
- plants with 11–12 ramifications in the upper half;
- plants with 6–9 branches at the top of the stalk;
- two-headed plants;
- five-headed plants
- plants having 2–3 branches at the base.

### References

- HEISER, C. B. (1954): Variation and subspeciation in the common sunflower, *Helianthus annuus*. Amer. Midland Nat., 51: 287–305.
- HOCKETT, E. A., KNOWLES, P. F. (1970): Inheritance of branching in sunflower (*H. annuus* L.). Crop Sci., 10: 432–436.
- KOVAČIK, A., ŠKALOUD, L. (1990): Results of inheritance evaluation of agronomically important traits in sunflower. Helia, 13: 41–46.
- NENOV, N., TSVETKOVA, F. (1994): Study of inheritance of two different types of branching in sunflower (*H. annuus* L.). Helia, 17: 19–22.
- PUTT, E. D. (1940): Observation on morphological characters and flowering processes in the sunflower (*Helianthus annuus* L.). Sci. Agr., 21: 167–179.
- PUTT, E. D. (1964): Recessive branching in sunflowers. Crop Sci., 4: 444–445.
- VRÂNCEANU, A. V. (1985): Utilizarea liniilor cu ramificația recesivă în producerea semințelor hibride de floarea-soarelui. Producția vegetală – Cereale și plante tehnice nr. 1.

Received June 26, 1996

### Dědičnost typu rozvětvení u slunečnice

U slunečnice vykazuje znak rozvětvení vysokou morfologickou variabilitu. Podle typu rozvětvení může být krátké nebo dlouhé, bohaté nebo skromné, bazální nebo vrcholové nebo podél celého stonku. Znak rozvětvení u divoce rostoucích druhů slunečnice má dominantní dědičnost, zatímco u kulturní slunečnice je určen hlavně re-

cesivními geny. Do pokusů ve Výzkumném ústavu obilnin a technických plodin ve Fundulea byly zahrnuty rostliny s různými typy rozvětvení a nerozvětující se rostliny (s jedním úbořem). Účelem těchto pokusů bylo stanovit dědičnost znaku rozvětvení, která je výsledkem křížení jednotlivých typů. Různé typy rozvětvení u kulturní slunečnice jsou kontrolovány různými recesivními geny a také byl prokázán vliv prostředí. Pro produkci hybridů slunečnice se ve velkém měřítku jako obnovitelské linie používají typy s recesivními geny. Výsledkem křížení dvou inbredních rozvětvených typů byl intermediární typ. Štěpení v generaci  $F_2$  pro tento znak bylo v poměru 1 : 2 : 1.

slunečnice; dědičnost; rozvětvení; dominance; recesivita

---

*Contact address:*

Dr. Ion Sandu, Research Institute for Cereal and Industrial Crops Fundulea  
8264 Călărași, Rumania  
tel. + fax: +401 311 07 22, e-mail: Fundulea@cons.incerc.ro

**DENSITOMETRICKÁ INTERPRETACE VÝSLEDKŮ  
ELEKTROFORETICKÉ FRAKCIONACE GLIADINŮ PŠENICE OZIMÉ  
V A-PAGE**

**Densitometric Interpretation of Results from Electrophoretic  
Fractionation of Winter Wheat Gliadins on A-PAGE**

*Martin MANEV, Zdeněk STEHNO*

*Research Institute for Crop Production, Prague, Czech Republic*

**Abstract:** The aim of the contribution has been to apply densitometry and special software Scan Pack II to evaluate gliadin electrophoreograms. Electrophoreograms have been prepared for two old Czech winter wheat cultivars Mandelíkova Ratbořská Mara and Červená perla. Relative electrophoretic mobility (REM) and colour intensity of zones have been the main characters. According to their comparison, two gliadin lines (A and B) have been identified in Mandelíkova Ratbořská Mara (Table I). Their proportion has been 39% of line A and 61% of line B. The highest spectra homology with other traces has been identified for trace 4 in line A and for trace 7 in line B (Table II). In cultivar Červená perla only one line (A) has been identified (Table III). Common comparison of all gliadin traces of both cultivars showed high coincidence of traces within each of gliadin lines and differences among lines (Table IV). The Scan Pack II software can be used for checking of wheat seed originality.

wheat; gliadins; electrophoresis; detection of spectra; digitalisation of electrophoreograms; REM; lines electrophoretically identified

**Abstrakt:** Elektroforetická separace gliadinů dvou českých krajových odrůd pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) byla ověřena modifikovanou metodou ISTA, A-PAGE (ČSN 46 0610). Elektroforeogramy byly hodnoceny denzitometricky a získané výsledky analyzovány počítačovým programem Scan Pack II. Testovaný analytický postup je vhodný pro detekci mezi- a vnitroodrůdových rozdílů ve spektrech zásobních bílkovin.

pšenice; gliadiny; elektroforéza; detekce spektra; digitalizace elektroforeogramů; REM; linie elektroforeticky identifikované

Gliadiny tvoří součást lepkového komplexu a jako takové působí výrazně na jakost mouky. Pomocí monosomických analýz bylo zjištěno, že poměrně vysoký počet genů řídících biosyntézu gliadinů je lokalizován na chromozomech *1A*, *1B*, *1D*, *6A*, *6B*, *6D*. Odrůdy-linie pšenice obecné se zřetelně liší skladbou gliadinového spektra, což umožňuje jejich identifikaci na základě elektroforetické separace extrahovaných bílkovin na polyakrylamidovém nosiči. Molekuly bílkovin nesoucí elektrický náboj – amorfní bílkoviny s určitou specifickou molekulovou hmotností a izoelektrickým bodem – jsou frakcionovány působením elektrického pole na PAGE nosiči do jednotlivých zón.

Metody vyhodnocování získaných elektroforeogramů (identifikace a interpretace jednotlivých zón) mohou být různé. Tradičním způsobem je vizuální zhodnocení a jeho grafická interpretace. Metodou nezávislou na hodnotiteli je denzitometrické vyhodnocení elektroforeogramů. Využívání tohoto způsobu hodnocení elektroforeogramů lze používat např. ke stanovení hordeinů (ječmen), sekalinů (žito), gliadinů a gluteninů (pšenice). Výsledky denzitometrického hodnocení mohou být počítačově zpracovány např. ke stanovení podobnosti genotypů (Alíka et al., 1995; Sáková et al., 1996).

Cílem této práce je uplatnění denzitometrické metody stanovení celkového počtu zón, jejich relativní elektroforetické mobility, intenzity zbarvení, a stupně polymorfismu pro identifikaci genetických zdrojů pšenice.

## MATERIÁL A METODY

Mezinárodní metodika ISTA ve znění normy platí pro laboratorní zkoušení čistoty a pravosti odrůdy pšenice obecné (*Triticum aestivum* L.) a ječmene obecného (*Hordeum vulgare*), pro semenářskou kontrolu a odrůdové zkušebnictví i pro právní ochranu odrůd pšenice.

Elektroforetická frakcionace gliadinů byla provedena u dvou původních českých krajových odrůd Mandelíkova Ratbořská Mara a Červená perla, pěstovaných ve třicátých letech 20. století. K frakcionaci byla použita referenční metoda ISTA v kyselém prostředí A-PAGE, modifikovaná na ČSN 46 0610. Extrakční roztok: pyronin G v 2-chloretanolu (25 %).

Elektrodový pufrový roztok: ledová kyselina octová (4 ml), glycin (0,4 g) v 1000 ml destilované vody, pH 3,2.

Gelový pufrový roztok: ledová kyselina octová (20 ml), glycin (1 g) v 1 000 ml destilované vody, pH 3,2.

Příprava extraktu gliadinů: jednotlivá zrna se ručně rozdrtí a translokují do 1,5 ml mikrokyvet. Přidá se 0,2 ml extrakčního roztoku, obsah se důkladně promíchá a nechá extrahovat přes noc při pokojové teplotě. Před nanesením 10–20  $\mu$ l extraktu do gelu se obsah mikrokyvet centrifuguje.

Příprava 100 ml gelu:

- 60 ml gelového pufrového roztoku
- 10 g akrylamid
- 0,4 g N,N'-metylenbisakrylamid
- 0,1 g kyselina askorbová
- 0,005 g síran železnatý
- 6 g močovina
- doplnit gelovým pufrem do 100 ml roztoku
- 0,14 ml 10% roztok persíranu amonného
- 0,31 ml TEMED

Elektroforéza probíhá při konstantním napětí 500 V po dobu dvojnásobku běhu markeru (Pyronin G) při teplotě 10–15 °C.

K elektroforetické frakcionaci jsme použili zařízení Hoefer 600 SE (18 x 16 cm). Barvení gelů bylo provedeno v 10% roztoku TCA s 1% barvivem Coomassie Brilliant Blue R 250 rozpuštěným ve 100 ml etanolu. Počet nanesených vzorků na polyakrylamidový nosič byl u odrůdy Červená perla ( $n = 10$ ), Mandelíkova Ratbořská Mara ( $n = 30$ ), ve dvou opakováních. Jako metody vyhodnocování elektroforeogramů bylo použito softwaru Scan Pack II firmy Biometra.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Standardní referenční metodou (A-PAGE, ISTA), byly charakterizovány krajové odrůdy pšenice ozimé (*T. aestivum* L.) Mandelíkova Ratbořská Mara a Červená perla. Maximální počet zón elektroforetického spektra gliadinů byl u odrůdy Mandelíkova Ratbořská Mara 17 a u odrůdy Červená perla 18. Relativní elektroforetická mobilita (REM) a stupeň zbarvení gliadinových markerů (%) byly u odrůdy Mandelíkova Ratbořská Mara: 22,3 – (12,2); 25,6 – (2,2); 36,3 – (2,7); 63,1 – (3,7); 68,0 – (27,7); 80,1 – (6,6); 90,1 – (7,1);

## I. Bitová mapa odrůdy Mandelíkova Ratbořská Mara – Bit map of cv. Mandelíkova Ratbořská Mara

Linie <sup>1</sup>	Rozpětí <sup>2</sup> : 0,20–0,50	$\alpha = 0,05$	Linie	Rozpětí: 0,20–0,50	$\alpha = 0,05$
A 39 %			B 61%		
Dráhy <sup>3</sup>			Dráhy		
3–4–6–8–10–15–18			1–2–5–7–9–11–12–13–14–16–17		

<sup>1</sup>line; <sup>2</sup>range; <sup>3</sup>traces

REM – (%), u odrůdy Červená perla: 25,8 – (2,7); 48,4 – (2,0); 51,5 – (2,1); 65,3 – (5,9); 72,6 – (5,3); 79,1 – (6,5); REM – (%).

Gliadinový polymorfismus odrůdy Mandelíkova Ratbořská Mara byl sledován bitovou mapou. Celkový počet analyzovaných drah polyakrylamidového nosiče byl ( $n = 20$ ). Krajní dráhy nebyly v důsledku (smiling effects) v blízkosti spacerů sledovány. Dráhy jsou identifikovány předponou (softwarová deskripce), v našem případě manram – kódová zkratka odrůdy *Mandelíkova Ratbořská Mara* a pořadovým číslem – determinace drah. Odrůda se skládá ze dvou determinovaných linií, (A, B). Linií A reprezentovaly dráhy

## II. Informační soubor – klastrová analýza odrůdy Mandelíkova Ratbořská Mara – Cluster analysis of cv. Mandelíkova Ratbořská Mara

Linie <sup>1</sup> A	Rozpětí <sup>2</sup> : 0,20–0,50 $\alpha = 0,05$	Linie B	Rozpětí: 0,20–0,50 $\alpha = 0,05$
Dráhy <sup>3</sup>		Dráhy	
manram 4–8	1,000	manram 5–11	1,000
manram 4–18	1,000	manram 7–9	1,000
manram 10–15	1,000	manram 7–12	
manram 3–6	0,9091	manram 7–14	1,000
		manram 7–16	
		manram 7–17	1,000
		manram 1–2	0,9309
		manram 11–13	0,9268

<sup>1</sup>line; <sup>2</sup>range; <sup>3</sup>traces

## III. Informační soubor – klastrová analýza odrůdy Červená perla – Cluster analysis of cv. Červená perla

Linie <sup>1</sup> A (100 %) Rozpětí <sup>2</sup> : 0,00–1,00		
Pořadové číslo <sup>3</sup>	Dráhy <sup>4</sup> <i>n</i>	Hladina významnosti <sup>5</sup> ( $\alpha = 0,05$ )
1	čerper01–02	1,000
2	čerper01–03	1,000
3	čerper01–06	1,000
4	čerper01–07	1,000
5	čerper01–08	1,000
6	čerper01–10	1,000
7	čerper05–09	1,000
8	čerper01–05	0,9896
9	čerper01–04	0,9599

<sup>1</sup>line; <sup>2</sup>range; <sup>3</sup>number; <sup>4</sup>traces; <sup>5</sup>level of significance

nosiče s téměř identickým spektrem gliadinů: 3–4–6–8–10–15–18; linii B: 1–2–5–7–9–11–12–13–14–16–17 (tab. I). Dráhy linie A tvoří 39% a linie B 61% podíl z celkového počtu drah polyakrylamidového nosiče.

Informační soubor klastrové analýzy (tab. II) detailně doplňuje předcházející analýzu. Vypočtené koeficienty hladiny významnosti ( $\alpha = 0,05$ ) stanoví přesnost hodnocení homogenity drah gliadinových spekter polyakrylamidového nosiče. Linii A reprezentují dráhy: 4–8; 4–18; 10–15 (100% homogenita). Dráhy č. 3–6 jsou homogenní z 90,9 %. Linii B prezentují dráhy: 5–11; 7–9; 7–12; 7–14; 7–16; 7–17 (100% homogenita). Dráhy č. 1–2 jsou homogenní z 93,1 %, dráhy č. 11–13 z 92,7 %. Krajová odrůda Mandelíkova Ratbořská Mara manifestuje přítomnost dvou linií A a B. Z hodnocení homogenity drah vyplývá, že nejvhodnějším reprezentantem pro linii A je dráha č. 4 a pro linii B dráha č. 7.

Informační soubor klastrové analýzy odrůdy Červená perla dokumentuje, že osm drah nosiče z celkového počtu ( $n = 10$ ) při hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  bylo propočteno na výsledné koeficienty  $k = 1,000$ . Byla zjištěna 99,4% homogenita osiva, odrůda Červená perla má jednodliniovou kompozici, tj. linii A (tab. III). Odrůda Červená perla tvoří homogenní elektroforetická gliadinová spektra, skládá se z linie A bez projevu vnitroodrůdového polymorfismu.

## IV. Klastrová analýza směsi vzorků odrůd Mandelíkova Ratbořská Mara a Červená perla – Cluter analysis of sample mixture of varieties Mandelíkova Ratbořská Mara and Červená perla

Kombinace vzorků <sup>1</sup>	Shoda <sup>2</sup>
čperla02 – čperla04	1,000
čperla02 – čperla06	1,000
čperla02 – čperla07	1,000
čperla02 – čperla09	1,000
čperla02 – čperla10	1,000
manram07 – manram14	1,000
manram15 – manram11	1,000
manram10 – manram07	0,952
manram10 – manram15	0,906
čperla02 – manram03	0,845
čperla02 – manram10	0,755

<sup>1</sup>combination of samples; <sup>2</sup>coincidence

Programový software Scan Pack II dokáže i determinovat elektroforetická spektra odlišných vzorků více odrůd na polyakrylamidovém nosiči (tab. IV). V našem případě je gel reprezentován 12 libovolně vybranými dráhami odrůd Mandelíkova Ratbořská Mara a Červená perla. Po provedení shlukové analýzy lze konstatovat, že gliadinové spektrum drah odrůdy Červená perla je homogenní. Odrůda Mandelíkova Ratbořská Mara potvrzuje své dvojliniové složení. Odlišnost prolaminových spekter odrůd Červená perla a Mandelíkova Ratbořská Mara je znázorněna dráhami čperla02 –manram03, 10.

Jednorozměrným elektroforetickým dělením na polyakrylamidovém nosiči je možné zjistit 30 i více gliadinových složek (Černý, Šašek, 1996). Uvedený software byl použit k determinaci relativní elektroforetické mobility (REM), stanovení intenzity zbarvení (%) a jejich porovnáním k verifikaci originality uloženého osiva genetických zdrojů – starých a krajových odrůd, povolených odrůd, novošlechtění atd. Program je plně etablován ve SRN i ostatních státech Evropy. Modulární koncepcí patří do skupiny profesionálních softwarových produktů.

Na základě rozboru gliadinových spekter bude kontrolována originalita uloženého osiva genetických zdrojů v oddělení genové banky.

## Literatura

ALIKA, J. E., AKEN'OVA M. E., FATOKUN, C. A. (1995): Variation among maize (*Zea mays* L.) accessions of Bendel State, Nigeria. Numerical analysis of zein protein band patterns. *Genetic Resour. Crop Evol.*, 42: 393-399.

ČERNÝ, J., ŠAŠEK, A. (1996): Bílkovinné signální geny pšenice obecné. Praha, ÚZPI.

KRAIC, J., HORVÁTH, E., GREGOVÁ, E., ŽÁK, I. (1985): Štandardné metódy elektroforetickej separácie glutenínov a gliadínov pšenice v DS-PAGE a A-PAGE. *Rostl. Výr.*, 41: 219-223.

METAKOVSKY, E. V., NOVOSELSKAYA, A. YU., KOPUS, M. M., SOBKO, T. A., SOZINOV, A. A. (1984): Blocks of gliadin components in winter wheat detected by one - dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Theor. appl. Genet.*, 67: 559-568.

SÁKOVÁ, L., ČURN, V., GRAMAN, J. (1996): Využití enzymových systémů esteras a shikimát dehydrogenasy pro charakterizování vzdálených hybridů trav. *Genet. a Šlecht.*, 32: 47-55.

ŠAŠEK, A., ČERNÝ, J. (1981): Gliadinové bloky - markery pšenice. *Genet. a Šlecht.*, 17: I-XV.

ŠAŠEK, A., ČERNÝ, J., BRADOVÁ, J., MALÝ, J. (1986): Gliadinová charakteristika odrůd pšenice seté, povolených v roce 1985 k pěstování v ČSSR. *Genet. a Šlecht.*, 22: 123-132.

ŠAŠEK, A., KUBÁNEK, J., ČERNÝ, J. (1990): Elektroforetická spektra prolaminových a gluteninových bílkovin odrůd hexaploidních tritikále, povolených k pěstování v ČSSR v roce 1988. *Genet. a Šlecht.*, 26: 31-40.

ANONYM: *Electrophoresis, Applications Guide*. San Francisco, Hoefer Scientific Instruments 1994.

Došlo 10. 7. 1997

---

### *Kontaktní adresa:*

Ing. Martin Maňav, Výzkumný ústav rostlinné výroby  
161 06 Praha 6- Ruzyně, Česká republika  
tel.: 00 420 2 360 851, fax: 00 420 2 365 228

## Ústřední zemědělská a lesnická knihovna Praha 2, Slezská 7

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna v Praze (dále jen ÚZLK), která je jednou z největších zemědělských knihoven na světě, byla založena v roce 1926. Již od počátku šlo o knihovnu veřejnou. V současné době je ve fondu knihovny více než jeden milion svazků knih, cestovních zpráv, dizertací, literatury FAO, svázaných ročníků časopisů z oblasti zemědělství, lesnictví, veterinární medicíny, ekologie a dalších oborů. Knihovna odebírá 750 titulů domácích a zahraničních časopisů. Informační prameny získané do fondu jsou v ÚZLK zpracovávány do systému katalogů jmenný a předmětový katalog, dále různé speciální katalogy a kartotéky. Počátkem roku 1994 přistoupila ÚZLK k automatizovanému zpracování knihovního fondu v systému CDS/ISIS.

Pro informaci uživatelů o nových informačních pramenech ve fondu ÚZLK zpracovává a vydává knihovna následující publikace: Přehled novinek ve fondu ÚZLK, Seznam časopisů objednaných ÚZLK, Přehled rešerší a tematických bibliografií z oboru zemědělství, lesnictví a potravinářství, AGROFIRM – zpravodaj o přírůstcích firemní literatury (distribuován na disketách) a AGROVIDEO – katalog videokazet ÚZLK.

V oblasti mezinárodní výměny publikací knihovna spolupracuje s 800 partnery ze 45 zemí světa. Knihovna je členem IAALD – mezinárodní asociace zemědělských knihovníků. Od září 1991 je členem mezinárodní sítě zemědělských knihoven AGLINET a od 1. 1. 1994 je depozitní knihovnou materiálů FAO pro Českou republiku.

Knihovna poskytuje svým uživatelům následující služby:

**Výpůjční služby** – jsou poskytovány všem uživatelům po zaplacení ročního registračního poplatku.

**Reprografické služby** – pro uživatele zabezpečuje zhotovení kopií obsahů časopisů a následné kopie vybraných článků. Pro pražské i mimopražské uživatele jsou zabezpečovány tzv. individuální reproslužby.

**Služby z automatizovaného systému firemní literatury** – jsou poskytovány z databáze firemní literatury, která obsahuje téměř 13 000 záznamů 1 700 firem.

**Referenční služby** – vlastními databázemi knižních novinek, odebíraných časopisů, rešerší a tematických bibliografií, vědeckotechnických akcí, firemní literatury, videotéky, dále z databází převzatých – Celostátní evidence zahraničních časopisů, bibliografických databází CAB a Current Contents.

**Půjčování videokazet** – videokazety s tematikou zemědělství, ochrany životního prostředí a příbuzných oborů jsou půjčovány buď v ÚZLK nebo mimopražským zájemcům poštou.

Uživatelům knihovny slouží dvě studovny – všeobecná studovna a studovna časopisů. Obě jsou vybaveny příručkovou literaturou. Čtenáři zde mají volný přístup k novinám přírůstků knihovního fondu ÚZLK.

## NEWS

---

### USE OF MOLECULAR MARKERS IN CEREAL BREEDING

Ahmed JAHOR, M. SCHÖNFELD, G. BACKES,  
V. MOHLER, G. WENZEL

*Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenbau und -züchtung,  
Freising-Weihenstephan, Germany*

Powdery mildew of cereals caused by the fungus *Erysiphe graminis* is one of the most important diseases in temperate climates. Many genes or alleles for resistance to mildew have been identified and transferred from wild relatives of cultivated crops or from land races into newly developed cultivars of cereals. Based on the gene-for-gene hypothesis of Flor (1955), which was confirmed for powdery mildew of barley by Moseman (1959), many race-specific powdery mildew resistance genes from different origins have been recognized in barley (Moseman, 1955). As far as they have been localized, they were mapped on chromosomes 4 (4H), 5 (1H), and 6 (6H) (Jahoor, 1987).

With an increase in the number of resistance genes which can be combined in a cultivar, the use of the gene-for-gene model to identify these genes became unwieldy. To improve the diagnosis of resistance genes, restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers have been developed to determine genetic differentiation at the DNA level. Closely linked RFLP-markers have been identified by various strategies for several resistance genes in various crop plants. For example, Schüller et al. (1992) isolated a RFLP marker which was able to differentiate alleles at the *Mla* locus in barley, and Hilbers et al. (1992) identified a molecular marker for the detection of the *Laevigatum* resistance gene in barley. Hartl et al. (1993, 1995) were able to differentiate the presence or absence of mildew resistance genes in a large set of wheat varieties by the application of molecular markers. Accessions of *H. vulgare* ssp. *spontaneum* lines from Israel have repeatedly been described as a very rich gene pool for powdery mildew resistance (Moseman, 1955; Fischbeck et al., 1976). Many sources of resistance were identified but only for some of them allelism or close linkage with already known loci for mildew resistance has been determined (Jahoor, Fischbeck, 1987a, b).

In three barley lines, 'R542-6\*O.', 'R5137-28\*E. and 'HSY-78\*A.', derived from crosses with wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*), a few new major, race specific resistance genes to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp.

*hordei*) have been identified (Schönfeld et al., 1996). The resistance gene originating from wild barley in line 'R542-6\*O.' shows a recessive mode of inheritance, the other two wild barley genes a dominant one. RFLP mapping of these three genes was performed in segregating F<sub>2</sub> populations. The recessive gene of line 'R542-6\*O.' was localised on barley chromosome 1S (7HS), while the dominant genes of the lines 'R5137-28\*E.' and 'HSY-78\*A.' were localised on the chromosomes 1L (7HL) and 7L (5HL), respectively. Closely linked RFLP clones were mapped at distances between 2.6 cM and 5.3 cM. Hitherto, no specific loci for powdery mildew resistance in barley were known on these chromosomes.

Furthermore, tests for linkage to the unlocalised resistance gene *Mlp* revealed free segregation. Therefore, new designations for these genes are suggested: *mlt* ('R542-6\*O.'), *Mlf* ('R5137-28\*E.'), and *Mlj* ('HSY-78\*A.'). Comparisons with mapped QTLs for mildew resistance are made and discussed in the context of homoeology in the genomes of barley (*H. vulgare*), wheat (*Triticum aestivum*), and rye (*Secale cereale*). Duplications of RFLP bands detected in the neighbourhood of *Mlf* and *mlt* seem to indicate evolutionary interrelationship to the *Mla* locus for mildew resistance.

Marker technology is moving from hybridisation-based markers to PCR diagnostic markers, as the latter are more economically handled for high sample throughput and for the simultaneous analysis of multiple loci. Sequence-tagged sites (STSs, Olsen et al., 1989) and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs, Williams et al., 1991) are the most common PCR markers for gene diagnosis in plants. Primers for the polymerase reaction (PCR) were tailored to selectively amplify RFLP marker alleles associated with resistance and susceptibility to powdery mildew at the *MILa*-locus in barley and at the *Pm2* locus in wheat. The differentiation between marker alleles for susceptible and resistant genotypes is based on the discrimination of single base pairs by using allele-specific PCR primers (Mohler, Jahoor, in press).

The almost unlimited availability of molecular markers provides an opportunity to understand the inheritance of quantitative traits, to localise the corresponding loci and consequently to make breeding for these traits much more efficient (Backes et al., 1995). Doubled haploid lines were used to determine and localise quantitative traits loci for resistance to *Rhynchosporium secalis* and *Erysiphe graminis*, for lodging, stalk breaking and ear breaking tendency, for the physical state before harvesting, plant height, heading date, several kernel parameters and grain yield. QTLs for these agronomically important characters detected in these experiments explain 50–52% of the genetic variance. In addition, resistance to powdery mildew was also determined on detached leaves with a specific isolate on the same set of double haploid lines. The major QTL found in the field as well as in laboratory conditions were mapped to the same chromosomal region.

## References

- BACKES, G., GRANER, A., FOROUGH-WEHR, B., FISCHBECK, G., WENZEL, G., JAHOOOR, A. (1995): Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare*). Theor. Appl. Genet., 90: 294–306.
- FISCHBECK, G., SCHWARZBACH, E., SOBEL, Z., WAHL, I. (1976): Types of protection against barley powdery mildew in Germany and Israel selected from *Hordeum spontaneum* In: Gaul, H. (Ed.): Barley Genetics III. Proc. 3rd Int. Barley Genetics Symp., Garching: 412–417.
- FLOR, H. H. (1955): Host-parasite interaction in flax rust – its genetics and other implications. Phytopathology, 45: 680–685.
- HARTL, L., WEISS, H., ZELLER, F. J., JAHOOOR, A. (1993): Use of RFLP markers for the identification of alleles of the *Pm3* locus conferring powdery mildew resistance in wheat (*Triticum aestivum*) Theor. Appl. Genet., 86: 959–963.
- HARTL, L., WEISS, H., STEPHAN, U., ZELLER, F. J., JAHOOOR, A. (1995): Molecular identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) Theor. Appl. Genet., 90: 601–606
- HILBERS, S., FISCHBECK, G., JAHOOOR, A. (1992): Localization of the *Laevigatum* resistance gene *MLA* against powdery mildew in the barley genome by the use of RFLP markers. Plant Breed., 109: 334–338.
- JAHOOOR, A. (1987): Mehltreue-resistenz israelischer Wildgersten – Resistenzspektrum, Vererbung, Lokalisierung. [Dissertation.] Technical University Munich Weihenstephan.
- JAHOOOR, A., FISCHBECK, G. (1987a): Genetical studies of resistance of powdery mildew in barley lines derived from *Hordeum spontaneum* collected from Israel. Plant Breed., 99: 265–273.
- JAHOOOR, A., FISCHBECK, G. (1987b): Sources of resistance to powdery mildew in barley lines derived from *Hordeum spontaneum* collected in Israel. Plant Breed., 99: 274–281.
- MOHLER, V., JAHOOOR, A. (1996): Allele-specific amplification of polymorphic sites for detection of powdery mildew resistance loci in cereals. Theor. Appl. Genet., 93: 1078–1082.
- MOSEMAN, J. G. (1955): Sources of resistance to powdery mildew of barley. Plant Dis. Rep., 39: 967–972.
- MOSEMAN, J. G. (1959): Host-pathogen interaction of the genes for resistance in *Hordeum vulgare* and for pathogenicity in *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Phytopathology, 49: 469–472.
- OLSEN, M., HOOD, L., CANTOR, C. H., BOTSTEIN, D. (1989): A common language for the physical mapping of the human genome. Science, 24: 1434–1435.

Genet. a Šlecht., 33, 1997 (3): 211-214

SCHÜLLER, C., BACKES, G., FISCHBECK, G., JAHOR, A. (1992): RFLP markers to identify the alleles on the *Mla* locus conferring powdery mildew resistance in barley. *Theor. Appl. Genet.*, 84: 330-338.

SCHÖNFELD, M., RAGNI, A., FISCHBECK, G., JAHOR, A. (1996): RFLP mapping of three new loci for resistance genes to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in barley. 93: 48-56.

WILLIAMS, G. K., KUBELIK, A. R., KENNETH, J. L., RAFALSKI, A., SCOTT, V. T. (1991): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.*, 18: 6531-6535.

Received January 16, 1997

### Využití molekulárních markerů ve šlechtění obilnin

Současné možnosti využití molekulárních markerů ve šlechtění obilnin jsou dokumentovány pro geny rezistence k padlí travnímu (*Erysiphe graminis*) u ječmene a pšenice. Technologie značkování genomu se pomalu odklánějí od využívání markerů založených na hybridizaci (RFLP) a spíše se začínají uplatňovat techniky, které jsou vhodnější pro zpracování většího počtu vzorků a umožňují současnou analýzu více lokusů. Téměř neomezená dostupnost molekulárních markerů poskytuje příležitost k pochopení dědičnosti kvantitativních znaků, k lokalizaci odpovídajících lokusů a v důsledku toho k zefektivnění šlechtění na tyto znaky.

---

#### Contact address:

PD. Dr. habil. Ahmed J a h o o r, Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, D-85350 Freising-Weihenstephan, Germany  
tel.: 00 49 8161 71 3189, fax: 00 49 8161 71 5173  
e-mail: jahoor@mm.pbz.agrar.tu-muenchen.de

## PŘEHLEDY

### METODY EMBRYOKULTUR A FÚZE PROTOPLASTŮ A JEJICH VYUŽITÍ PŘI MEZIDRUHOVÉ HYBRIDIZACI U RODŮ *MEDICAGO*, *TRIFOLIUM* A *LOTUS* \*

Jana ŘEPKOVÁ, Pavla BINAROVÁ<sup>1</sup>

Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o., Troubsko;

<sup>1</sup>Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky, Praha, Česká republika

Zájem výzkumných a šlechtitelských pracovišť pícninářských je v současné době soustředěn především na otázky zvýšení kvality sklizené hmoty při minimálním obsahu antinutričních látek a na zvýšení vytrvalosti a odolnosti k nepříznivým biotickým a abiotickým faktorům prostředí, s čímž často souvisí vitalita plodin (odrůd). Jednou z cest jak získat výchozí šlechtitelský materiál je introdukce genů kódujících požadované vlastnosti. To umožňují metody hybridizace, především vzdálené hybridizace s využitím genofondu planých druhů. U rodů *Trifolium* a *Medicago* je mezidruhovú hybridizace zaměřena na introdukci genů podmiňujících rezistenci k chorobám, kvalitu a u rodu *Trifolium* i vytrvalost. U rodu *Lotus* je cílem hybridizace introdukce nepukavosti plodů do štírovníku růžkatého.

Získání mezidruhovú hybridů pohlavním křížením často naráží na různé zábrany, jako jsou např. mezidruhovú inkompatibilita během progamní fáze oplození a cytologické poruchy ve vývoji embrya a endospermu. U rodu *Trifolium* ukázalo 144 kombinací křížení v rámci 38 druhů, že vznik mezidruhovú hybridů klasickou hybridizací je spíše výjimkou (Kazimierski et al., 1972). Perspektivními cestami k překonání nekřížitelnosti druhů jsou kultury exstirpovaných embryí a fúze protoplastů.

#### Cytologická charakteristika druhů *Trifolium*, *Medicago* a *Lotus*

U 80 % druhů rodu *Trifolium* je základní chromozomové číslo  $x = 8$ , u 15 % druhů  $x = 7$ , u jednoletých mediteránních druhů vzácně také  $x = 6$  a  $x = 5$ . Většina druhů je diploidních, jen některé jsou spontánně tetraploidní (např. *T. repens* L.), málo druhů je polyploidních (např. *T. medium* L., *T. pannonicum* Jacq.), a to zvláště mezi vytrvalými druhy. U některých druhů se přirozeně vyskytují rasy di- i tetraploidní,

\* Problematika byla řešena v rámci projektu č. IE 0950975067 NAZV MZe ČR.

převážně patřící kulturním druhům. Většina druhů je považována za cizospašné a některé jednoleté za samosprašné.

Základní chromozomové číslo u rodu *Medicago* je  $x = 8$ , s výjimkou jednoletých druhů *M. constricta* Dur., *M. praecox* DC., *M. polymorpha* L., *M. rigidula* (L.) All.-Bas. a *M. murex* Willd., které mají  $x = 7$ . U *Medicago* spp. se vyskytují tři úrovně ploidie, diploidní  $2n = 2x = 14$  a  $2n = 2x = 16$ , tetraploidní  $2n = 4x = 42$  a hexaploidní  $2n = 6x = 48$ . Existují výjimky, např. *M. scutellata* (L.) Mill. a *M. rugosa* Desr., které mají  $2n = 30$ . Jednoleté druhy *Medicago* jsou autogamní, většina vytrvalých druhů je allogamních s různým stupněm autoinkompatibility.

Základním chromozomovým číslem rodu *Lotus* je  $x = 5, 6, 7$ . Ekonomicky významné druhy jako je *L. corniculatus* L. má  $2n = 24$ , *L. tenuis* Waldst. Kit. a *L. uliginosus* Schkuhr  $2n = 12$ .

### Perspektivní druhy pro hybridizaci

Pro mezidruhovou hybridizaci v rámci rodu *Trifolium* jsou perspektivní druhy 1. sekce *Lotoidea*. *T. repens* L. je vytrvalý druh intenzivně zemědělsky využívaný (především pastevní směsi, technické zatrávňení), tvoří nadzemní plazivé výhony, kterými se v porostu rozšiřuje. Odolnost vůči chorobám (zvláště virózám) a vymrzání je značně nízká. Perspektivní je jeho křížení s *T. ambiguum* M. Bieb., vytrvalým druhem vegetativně se udržujícím krátkými podzemními výběžky. Má vysokou odolnost vůči biotickým a abiotickým faktorům. Jde o druh velmi perspektivní vzhledem ke své rezistenci k viru žluté mozaiky fazolu, viru žluté žilkovitosti jetele a viru vrcholové nekrózy hrachu (Smrž et al., 1985). Druh má diploidní i tetraploidní odrůdy.

Do 6. sekce *Trifolium* patří *T. pratense* L., vytrvalý druh intenzivně zemědělsky využívaný. Jeho odolnost vůči chorobám a vymrzání je značně nízká. Další šlechtění na tyto vlastnosti je nezbytné. Vhodným donorem genů podmiňujících rezistenci k virovým chorobám je *T. alpestre* L. (Smrž et al., 1985), *T. medium* L. a *T. sarosiense* Hazsl.

Druhy blíže příbuzné s *Medicago sativa* patřící do těžé podsekce *Falcatae* jsou *M. glomerata* Balb. a *M. prostrata* Jacq. Jde o druhy vzájemně křížitelné. Perspektivní druhy pro hybridizaci ze sekce *Falcago* jsou *M. glomerata* Balb., *M. prostrata* Jacq. a *M. rupestris* M.Bieb.

Štírovník růžkatý *Lotus corniculatus* L. je důležitá pícnina s vysokým obsahem bílkovin. Nejčastěji se uplatňuje v lučních směskách, méně se pěstuje jako polní monokultura. Využívá se jeho adaptabilita, tolerance k půdnímu pH, vytrvalost, jako protierozní prvek a při zúrodnování půdy fixací vzdušného dusíku. Nevýhodou štírovníku růžkatého je pukavost lusků a následné vypadávání semen, což snižuje jeho výnos. Vhodnými zdroji nepukavosti jsou *L. conimbricensis* Brot. ze sekce

*Erythrolotus*, *L. ornithopodioides* L. ze sekce *Xantholotus* a druhy patřící do téže skupiny *Lotus corniculatus*, sekce *Xantholotus* – *L. alpinus* (DC.)Schleich., *L. japonicus* (Regel) Larsen a *L. burtii* Sz.-Borsos.

### Úspěšné kombinace křížení

Kombinace křížení	metoda	citace
<b>rod <i>Trifolium</i></b>		
<i>T. ambiguum</i> × <i>T. hybridum</i>	EK	Keim (1953)
<i>T. repens</i> × <i>T. uniflorum</i>	EK	Pandey (1957)
<i>T. repens</i> × <i>T. nigrescens</i>	EK	Evans (1962)
<i>T. uniflorum</i> × <i>T. ambiguum</i>	EK	Evans (1962)
<i>T. hybridum</i> × <i>T. ambiguum</i>	EK	Evans (1962)
<i>T. repens</i> × <i>T. ambiguum</i>	EK	Rupert, Evans (1980)
<i>T. repens</i> × <i>T. nigrescens</i>	EK	Rupert, Evans (1980)
<i>T. repens</i> × <i>T. uniflorum</i>	EK	Rupert, Evans (1980)
<i>T. repens</i> × <i>T. isthmocarpum</i>	EK	Rupert, Evans (1980)
<i>T. ambiguum</i> × <i>T. hybridum</i>	EK	Rupert, Evans (1980)
<i>T. pratense</i> × <i>T. sarosiense</i>	EK	Phillips et al. (1982)
<i>T. pratense</i> × <i>T. medium</i>	EK	Collins et al. (1981)
<i>T. pratense</i> × <i>T. medium</i>	EK	Vogt, Schweiger (1983)
<i>T. pratense</i> × <i>T. medium</i>	EK	Sawai et al. (1990)
<i>T. pratense</i> × <i>T. alpestre</i>	EK	Collins et al. (1981)
<i>T. pratense</i> × <i>T. alpestre</i>	EK	Merker (1988)
<i>T. medium</i> × <i>T. pratense</i>	EK	Merker (1984)
<i>T. pratense</i> × <i>T. hybridum</i>	EK	Hyrkäs et al. (1986)
<b>rod <i>Medicago</i></b>		
<i>M. sativa</i> × <i>M. scutellata</i>	EK	Sangduena et al. (1982)
<i>M. sativa</i> × <i>M. rupestris</i>	EK	McCoy (1985)
<i>M. sativa</i> × <i>M. arborea</i>	FP	Nenz et al. (1996)
<i>M. sativa</i> × <i>M. rhodopea</i>	FP	Denton, McCoy (1987)
<b>rod <i>Lotus</i></b>		
<i>L. alpinus</i> × <i>L. conimbricensis</i>	EK	O'Donoghue, Grrant (1988)
<i>L. burtii</i> × <i>L. ornithopodioides</i>	EK	O'Donoghue, Grrant (1988)
<i>L. corniculatus</i> × <i>L. tenuis</i>	FP	Aziz et al. (1990)
<i>L. corniculatus</i> × <i>L. conimbricensis</i>	FP	Wright et al. (1987)

EK – embryokultury, FP – fúze protoplastů

Vývoj embryí *in vitro*

Metoda embryokultur, tedy kultivace zralých i nezralých zygotických embryí odděleně od pletiv semene ve sterilním prostředí a iniciace jejich růstu až po celistvou rostlinu, byla jednou z prvních metod *in vitro* u rostlin. Pro úspěšnou kultivaci embryí *in vitro* je nejdůležitější optimalizace kultivačního média, které musí poskytovat ve vhodné formě zdroj uhlíku, dusíku a jiných makroelementů a další stimulační látky. Pro nezralá embrya rodu *Trifolium* bylo modifikováno médium L2 (Phillips et al., 1982). Hlavním zdrojem energie embryí kultivovaných *in vitro* jsou glycidy. Nejvhodnějším a nejpoužívanějším je sacharóza. Vhodná koncentrace sacharózy je závislá na rostlinném druhu a především na vývojovém stupni exstirpovaného embrya. Pro kultivaci zralých embryí je dostačující 2–2,5% roztok sacharózy v mediu, u nezralých embryí se koncentrace zvyšuje až na 8–12,5 %. Sacharóza není jen zdrojem energie, ovlivňuje i osmotickou hodnotu kultivačních médií. Také v podmínkách *in situ* jsou embrya obklopena roztokem o vysoké osmotické hodnotě.

Vitaminy se používají jako složka médií především při kultivaci velmi mladých embryí. Jejich přítomnost však není vždy nezbytná. Pokud je přítomnost vitaminů žádoucí, používá se nejčastěji thiamin, pyridoxin, kyselina nikotinová, pantotenová, askorbová a biotin. Aminokyseliny se do kultivačních médií přidávají ve směsích, avšak často bývá účinná i jedna aminokyselina. Např. nejčastěji používaný glutamin stimuluje růst embryí zástupců devíti čeledí. Také Monnier (1973) začleňuje glutamin do kultivačního média optimalizovaného pro kultivaci nezralých embryí řady dvouděložných rostlin. Byl využit při dopěstování nezralých embryí rodu *Medicago* (Bauchan, 1987). Vliv růstových látek na vývoj embryí *in vitro* je závislý nejen na jejich druhu a použité koncentraci, ale především na jejich vzájemném poměru v mediu, na rostlinném druhu a stupni diferenciaci embrya. Při vystižení optimální koncentrace působí příznivě na vývoj embryí *in vitro*. Pozitivní výsledky byly získány při aplikaci BAP v kombinaci s IAA do kultivačních médií pro embryokultury rodu *Medicago* (Bauchan, 1987).

Úspěšné přežívání nezralých embryí v podmínkách *in vitro* se zvětšuje s velikostí explantátu. Embrya 200  $\mu\text{m}$  a větší přežívají téměř 100%. Je to ovlivněno zlepšením metodiky jejich kultivace včetně složení kultivačních médií. Dopěstování menších embryí je spojeno s určitými obtížemi. Specifičnost požadavků na prekursorů, které mu poskytuje endosperm, klesá s postupnou diferenciací embrya. Buduje se jeho kompletní enzymatický aparát, embryo se stává soběstačné nejen v syntéze nukleových kyselin a bílkovin, ale i vitaminů a růstových látek. Příjem látek bazální částí nezralých embryí dává odpověď na otázku, proč se nedaří kultivovat embrya exstirpovaná v lineární nebo rané globulární fázi. Při exstirpaci se obvykle poruší báze suspenzoru, která souvisí se stěnou zárodečného vaku. Absorpční aktivní báze embrya se poškodí a embryo hyne. V pozdní globulární nebo srdčité fázi dochází

k významnému mezníku ve vývoji embrya. Mění se pravděpodobně způsob příjmu živin jeho buňkami. Embryo přechází z převážně suspenzorové výživy na výživu povrchovou, při níž je hlavním zdrojem výživných a regulačních látek endosperm. Jeho výživná funkce může být nahrazena kultivačním médiem.

### Kultivace embryí v transplantovaném endospermu

L a u t o r et al. (1978) vypracovali metodu kultivace nezralých embryí v transplantovaném endospermu u štirovníku (*Lotus*), jetele (*Trifolium*) a ptačí nohy (*Ornithopus*). Dárce endospermu byl jeden z rodičovských druhů nebo jakýkoliv příbuzný druh. Na úspěšnou kultivaci mělo vliv především vývojové stadium endospermu. Tuto metodu využila W i l l i a m s (1978, 1980) pro dopěstování hybridních rostlin po křížení *Trifolium repens* × *T. ambiguum* a *T. ambiguum* × *T. hybridum*. L a u t o r et al. (1978) získali rostliny z křížení *Lotus pedunculatus* × *L. tenuis* a *L. tenuis* × *L. corniculatus*.

### In ovulo embryokultury

Za zvláštní typ embryokultur lze považovat vývoj embrya v preparovaném vajíčku (*in ovulo*), které je kultivováno v umělém prostředí. Tato metoda pomáhá překonat těžkosti s kultivací embrya v globulární a ranější fázi. Metoda *in ovulo* embryokultur byla úspěšně aplikována při vzdálené hybridizaci v rámci rodu *Medicago*. M c C o y (1985) úspěšně křížil *M. sativa* × *M. rupestris*. Y a m a d a a F u k u o k a (1986) aplikovali metodu oplozených vajíček při hybridizaci *Trifolium ambiguum* × *T. repens*. Y a m a d a et al. (1989) získali stejnou cestou dva mezidruhovité hybridy mezi tetraploidními *T. ambiguum* a *T. repens*. F e r g u s o n et al. (1990) získali hybridy jetelů nových kombinací, *T. ambiguum* × *T. occidentale*, *T. isthmocarpum* × *T. nigrescens* a trojnásobného hybrida *T. repens* × *T. uniflorum* × *T. occidentale*.

### Fúze protoplastů

Somatická hybridizace cestou fúze protoplastů v chemickém prostředí PEG nebo elektrofúzí umožňuje získat hybridy mezi dvěma inkompatibilními druhy. Protoplasty se z rostlinného pletiva či buněčné suspenze uvolňují působením enzymatických preparátů s pektinázovou a celulázovou aktivitou. Užívá se jednostupňová a dvoustupňová metoda izolace protoplastů. Dvoustupňová metoda spočívá na principu odděleného působení obou složek enzymatického preparátu. Nejprve na rostlinné pletivo působí složka s pektinázovou aktivitou, dochází k maceraci čili uvolnění střední lamely buněčné stěny a rozpad pletiva na samostatné buňky. V tomto stadiu se buňky uvolňují do hypertonického média, aby došlo k odtržení protoplastu od buněčné stěny a k jeho stabilizaci. V druhém stupni působí celulázová komponenta přípravku, která rozloží zbytky celulózních složek. Častěji se však užívá jednostup-

ňová izolace protoplastů, při níž se obě funkční složky enzymatického preparátu, pektinázová i celulózová, aplikují současně. Vyčištění protoplastů od zbytků buněčných stěn, poškozených protoplastů a enzymatického preparátu se provádí filtrací, opakovanou centrifugací a vymýváním vhodným médiem.

Wright et al. (1987) úspěšně izolovali protoplasty z hypokotylů *Lotus conimbricensis* a *L. corniculatus*. Regeneraci rostlin z protoplastů *L. corniculatus* popisují také Vessabutr a Grant (1995).

### Embryokultury rodu *Trifolium*

#### Příprava pokusného materiálu

Rostliny jsou vypěstovány ze semen ve skleníkových podmínkách. Kvetení je dosaženo při fotoperiodě 16 hodin. U všech mezidruhových křížení je nutné ruční opylování s kastrací – odstraněním celých tyčinek nebo prašníků před prasknutím prašných váčků. Čerstvý pyl je nanášen na bliznu pomocí preparační jehly ihned po kastraci a opylení je opakováno druhý den. Květenství je nutné izolovat před nežádoucím pylem monofilovými sítěmi. Rostliny s nakříženými květy umístíme v klimatizované komoře s kontrolovanými podmínkami, s fotoperiodou 16 hodin, teplotou 25 °C ve dne a 16 °C v noci, intenzitou osvětlení 20 000 Lux a vlhkostí 55 % (den) a 70 % (noc).

#### Sledování prezygotických a postzygotických bariér křížitelnosti po mezidruhově hybridizaci

##### *Sledování klíčení pylu a prorůstání pylových láček*

Různé druhy rodu *Trifolium* (*Medicago*, *Lotus*) jsou ručně opylovány v mezidruhových kombinacích, včetně reciprokých. Květy jsou odebírány 24 až 30 hodin po opylení pro vyhodnocení klíčení pylu na blizně a prorůstání pylových láček.

Celé odebrané květy jsou fixovány v 1N hydroxidu sodném v vodní lázni při teplotě 60 °C po dobu 20 minut. Po 24 hodinách propírání jsou objekty barveny ve vodném 1% roztoku anilínové modři ( $K_3PO_4$ ) a ve stejném roztoku uchovávány při teplotě 10 °C. Při vyhodnocování jsou preparovány pestíky, umístěny na podložní sklo do glycerinu a zhotoveny roztlačové preparáty. Od každé kombinace křížení se pozoruje 5 až 10 objektů. Ve fluorescenčním mikroskopu s filtrem G 249 a při zvětšení 16/0,40 a 160/0,17 je pozorována přítomnost pylových láček v jednotlivých částech čnělky a v semeníku (Řepková, 1992).

##### *Sledování embryogeneze in situ po mezidruhově hybridizaci*

Celé semeníky nebo oplozená vajíčka 5 až 14 dní po opylení jsou 24 hodin fixovány v Navašinově fixáži (Němec et al., 1962) a po 24 hodinách propírání jsou objekty odvodňovány ve dvou odvodňovacích médiích – etanol + metylbenzolát a etanol +

+ terciální butanol. Odvodněné objekty jsou zalévány do parafinu a upravené parafinové bločky řezány na sáňkovém mikrotomu. Řezy silné 10 až 15  $\mu\text{m}$  jsou lepeny na podložní skla glycerolbílkem. Po usušení řezů a odparafinování jsou preparáty mořeny 3,5 h v 2,5% kamenci ( $\text{NH}_4\text{FE}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ) a barveny 12 h Haidenhainovým hematoxylinem ve zředění 1 : 20. Po diferenciaci a odvodnění preparátů včetně projašňování karboxylolem 7 min jsou objekty uzavírány do fluoromountu (Řepková, 1992).

### Odběr explantátů a příprava pro kultivaci *in vitro*

Květy s vyvíjejícími se semeníky jsou odebírány v časovém intervalu 4 až 15 dní po opylení a povrchově sterilizovány 3 min v 70% etanolu a 15 min v 5% chloraminu B s následným promýváním ve sterilní destilované vodě. Ve sterilních podmínkách ve flowboxu jsou preparována životaschopná embrya v různých stadiích vývoje (Řepková et al., 1991). Preparace je prováděna pomocí stereomikroskopu MST 131 při zvětšení 40krát.

### Kultivace zygotických embryí *in vitro*

Pro přímou kultivaci zygotických embryí se používá základní médium L2 (Phillips, Collins, 1979). Pro kultivaci embryí jetelů v torpédovité fázi je v tomto médiu zvýšena koncentrace sacharózy na 7,5 až 10,0 %. Embrya v srdčité fázi vyžadují 12,5% sacharózu. Největší podíl dopěstovaných zralých embryí je zaznamenán na médiu s 2,5% sacharózou (Řepková et al., 1991; Řepková, 1992).

Pro kultivaci embryí v srdčité fázi se nejlépe osvědčuje dodání 0,1  $\mu\text{M}$   $\text{GA}_3$  do média s 12,5% sacharózou (Řepková, 1992). Pro embrya v této vývojové fázi je také vhodné dodání 15 M adeninu v kombinaci s 0,03  $\mu\text{M}$  picloramu (Phillips et al., 1982; Řepková et al., 1991). Růstové látky mají pozitivní vliv na přežívání i rychlost růstu embryí, což se projevuje prodlužováním radikulární části. Za 10 dní kultivace na těchto médiích jsou embrya pasážována na médium pro embrya v torpédovité fázi (Řepková, 1992).

Pro embrya v torpédovité fázi je vhodné dodání 15  $\mu\text{M}$  adeninu do média se 7,5% sacharózou. Podíl přežívajících embryí je na tomto médiu vyšší (Řepková, 1992).

### Množení hybridních a rodičovských rostlin

Pro klonové množení hybridních a rodičovských rostlin je aplikována metoda regenerace rostlin z vrcholových a úžlabních pupenů. Pupeny jsou kultivovány na základním médiu L2 doplněném o následující růstové látky (Řepková, 1989):

2  $\mu\text{M}$  ADE + 0,1  $\mu\text{M}$  BAP + 0,05  $\mu\text{M}$  NAA

2  $\mu\text{M}$  ADE + 0,1  $\mu\text{M}$  BAP + 1,00  $\mu\text{M}$   $\text{GA}_3$

10  $\mu\text{M}$  ADE + 2,0  $\mu\text{M}$  BAP + 0,01  $\mu\text{M}$  NAA

Kořenění je dosaženo na tekutém médiu L2.

## Fúze protoplastů rodu *Medicago* a *Lotus*

### Izolace protoplastů

Potřebné roztoky (Nedbálková et al., 1994):

Promývací médium U1: glukóza (66,659 g/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (0,2 g/l)

Sterilizujeme autoklávováním.

Enzym S/ON: MES (200 ml/l), mannitol (0,34 M),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (1 g/l), celulóza „Onozuka“ (10 g/l), driseláza (2,5 g/l), macerozym (5 g/l), pektináza (5 g/l)

Sterilizujeme membránovým mikrobiálním filtrem o velikosti ok 0,23  $\mu\text{m}$ .

Enzym M/ON: MES (100 ml/l), mannitol (0,34 M),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (1 g/l), celulóza „Onozuka“ (10 g/l), driseláza (2 g/l), macerozym (2 g/l), pektináza (10 g/l)

Sterilizujeme jako předchozí enzym.

### Mezofylové protoplasty

Zdrojem explantátu jsou klíčnicí rostliny asi dva měsíce staré. Pro izolaci protoplastů jsou využívány nejmladší pravé listy a dělohy. Jejich segmenty asi 0,3 mm jsou umístěny v promývacím roztoku U1. Po nařezání listů vysajeme promývací roztok a nahradíme jej enzymatickým preparátem M/ON. Enzym necháme působit přes noc 12 až 14 hodin při teplotě 27 °C.

Protoplasty čistíme filtrací přes sítku o velikosti ok 50  $\mu\text{m}$  do sterilní kádinky. Obsah přemístíme do umělohmotných zkumavek o obsahu 10 ml. Ve zkumavkách centrifugujeme roztok 5 min při rychlosti 600 otáček za min. Pak odsajeme přebytečný roztok nad sedlými protoplasty a nahradíme jej promývacím roztokem U1 a znovu centrifugujeme. Tímto způsobem provedeme centrifugaci čtyřikrát. Veškeré práce provádíme ve sterilním prostředí pomocí sterilních pipet.

### Protoplasty ze suspenzních kultur

10 ml enzymu S/ON umístíme spolu s 10 ml suspenzní kultury do Petriho misky a necháme působit 12 až 16 hodin při 27 °C ve tmě. Čistíme přes sítku o velikosti ok 56  $\mu\text{m}$ , další postup je stejný jako u mezofylových protoplastů.

### Kultivace protoplastů

Protoplasty kultivujeme v kultivačních médiích KM8P (Kao, Michayluk, 1975) při 27 °C ve tmě. Regenerace buněčné stěny a první dělení jsou pozorována dva až tři dny po izolaci, tvorba mikrokolonií za pět až šest dní.

### Životnost kultur

Životnost kultur protoplastů stanovujeme podle reakce s FDA. K 1 ml protoplastové suspenze přidáme 2  $\mu\text{l}$  roztoku FDA (0,5 % roztok v acetonu) a po 5 min pozorujeme ve fluorescenčním mikroskopu.

**Fúze protoplastů**

Potřebné roztoky (Nedbálková et al., 1994):

PEG:  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (23,6 g/l), mannitol (0,4 M), PEG (6000) (250,0 g/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (2,5 g/l) pH = 9

Roztok W/B: glukóza (144 g/l),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (14,7 g/l), dimethylsulfoxid (100 ml/l) pH = 10,5

Roztok W/C: glycin (7,5 g/l), pH = 10,5

Všechny uvedené roztoky sterilizujeme membránovým mikrobiálním filtrem.

Protoplasty, které jsme čerstvě izolovali z listových explantátů a ze suspenzní kultury, připravíme pro fúzi tak, že po poslední centrifugaci je ponecháme v koncentrované formě ( $2-4 \times 10^6$  protoplastů v 1 ml) v promývacím médiu U1. Fúzujeme bílé suspenzní a zelené mezofylové protoplasty. Smícháme oba typy protoplastů ve zkumavce a pipetou tvoříme na polyetylenových Petriho miskách kapky o průměru asi 5 mm. V kapkách necháme protoplasty sednout asi 15 až 20 min, potom opatrně přidáváme 1 až 2 kapky roztoku PEG ke každé kapce protoplastů. Fúze necháme probíhat 20 min. Četnost fúzí sledujeme mikroskopicky.

Po skončení fúze odsajeme pipetou přebytečný roztok z kapek a doplníme malou kapkou roztoku z promývacích médií W/B a W/C smíchaných v poměru 1 : 1. Po 5 min roztok odsajeme a nahradíme novým. Po dalších 5 min nahradíme roztokem U1.

Po čištění protoplastů umístíme produkty fúze do kultivačního média KM8P (Kao, Michayluk, 1975) a kultivujeme v termostatu při teplotě 27 °C. Po týdnu kultivace kontrolujeme první dělení. Mikrokalsy rodu *Medicago* vzniklé dalším buněčným dělením pasážujeme na média pro iniciaci regenerace rostlin (Novák, Konečná, 1982):

Iniciace somatické embryogeneze:

BI (Blaydes, 1966) + 50  $\mu\text{M}$  2,4-D + 5  $\mu\text{M}$  KIN

Regenerace rostlin:

BI + 1  $\mu\text{M}$  NAA + 10  $\mu\text{M}$  KIN

Rod *Lotus*:

5,4  $\mu\text{M}$  NAA + 4,4  $\mu\text{M}$  BHP (Damiani et al., 1993)

Analýzou izoenzymů nebo DNA ověříme jejich hybridní charakter.

Použité zkratky

ADE – adenin	2,4-D – kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová
BAP – benzylaminopurin	IAA – kyselina indolyloctová
FDA – fluoresceindiacetát	GA <sub>3</sub> – kyselina gibberelová
KIN – kinetin	MES – 2-(morpholino)ethansulfonová kyselina
NAA – kyselina naftyloctová	PEG – polyethylenglycol

L i t e r a t u r a

- AZIZ, M. A., CHAND, P. K., POWER, J. B., DAVEY, M. R. (1990): Somatic hybrids between the forage legumes *Lotus corniculatus* L. and *L. tenuis* Waldst et KIT. J. Exp. Bot., 41: 471–479.
- BAUCHAN, G. R. (1987): Embryo rescue of *Medicago scutellata* and *M. sativa*. Plant Cell Tis. Organ Cult., 10: 21–30.
- BLAYDES, D. F. (1966): Interaction of kinetin and various inhibitors in the growth of soybean tissue. Physiol.Plant., 19: 748–753.
- COLLINS, G. B., TAYLOR, N. L., PHILLIPS, G. C. (1981): Successful hybridization of red clover with perennial *Trifolium* species via embryo rescue. In: Proc. XIV Int. Grassl. Congr., Lexington, Kentucky: 168–170.
- DAMIANI, F., NENZ, E., PAOLOCCI, F., ARCIONI, S. (1993): Introduction of hygromycin resistance in *Lotus* spp. through *Agrobacterium rhizogenes* transformation. Transgen. Res., 2: 330–335.
- DENTON, C. R., McCOY, T. R. (1987): Cytogenetic analysis of interspecific hybrids between alfalfa (*Medicago sativa* L.) and *M. rhodopea* Velen. Genome, 29: 853.
- EVANS, A. M. (1962): Species hybridization in *Trifolium*. I. Methods of overcoming species incompatibility. Euphytica, 11: 164–176.
- FERGUSON, N. H., RUPERT, E. A., EVANS, P. T. (1990): Interspecific *Trifolium* hybrids produced by embryo and ovule culture. Crop Sci., 30: 1145–1149.
- HYRKÄS, K. L., KIVINEN, M., TIGERSTEDT, P. M. A. (1986): Interspecific hybridization of red clover (*Trifolium pratense* L.) with alsike clover (*Trifolium hybridum* L.) using *in vitro* embryo rescue. In: HORN et al. (1985): Genetic Manipulation in Plant Breeding. Proc. Int. Symp. Eucarpia. Berlin: 469–472.
- KAO, K. N., MICHAYLUK, M. R. (1975): Nutritional requirements for growth of *Vicia hajastana* cells and protoplasts at a very low population density in liquid media. Planta, 126: 105–110.

- KAZIMIERSKI, T., KAZIMIERSKA, E. M., STRZYZEWSKA, C. (1972): Species crossing in the genus *Trifolium* L. Genet. Pol., 13: 11–32.
- KEIM, W. E. (1953): Interspecific hybridization in *Trifolium* using embryo culture techniques. Agron. J., 45: 509–510, 601–606.
- LAUTOR, G. de, JONES, W. T., ROSS, M. D. (1978): Production of interspecific hybrids in *Lotus* aided by endosperm transplants. N.Z. J. Bot., 16: 61–68.
- MCCOY, T. J. (1985): Interspecific hybridization of *Medicago sativa* L. and *M. rupestris* M.B. using ovule embryo culture. Canad. J. Genet. Cytol., 27: 238–245.
- MERKER, A. (1984): Hybrids between *Trifolium medium* and *Trifolium pratense*. Hereditas, Sweden, 101: 267–268.
- MERKER, A. (1988): Amphidiploids between *Trifolium alpestre* and *Trifolium pratense*. Hereditas, Sweden, 108: 267.
- MONNIER, M. (1973): Croissance et développement des embryons globulaires de *Capsella bursa-pastoris* cultivés *in vitro* dans un milieu a base d'une nouvelle solution minérale. Soc. Bot. Fr. Mémoires, Colloq. Morphologie, 179–194.
- NEDBÁLKOVÁ, B., BINAROVÁ, P., JIŘIČNÁ, Š, NEDĚLNÍK, J. (1994): Proto-plast cultures and somatic hybridization in genus *Medicago*. In: Proc. Eucarpia, Lusignan, France.
- NĚMEC, B. et al. (1962): Botanická mikrotechnika. Praha, Nakl. ČSAV: 39–157.
- NENZ, E., PUPILLI, F., DAMIANI, F., ARCIONI, S. (1996): Somatic hybrid plants between the forage legumes *Medicago sativa* L. and *Medicago arborea* L. Theor. Appl. Genet., 93: 183–189.
- NOVÁK, F. J., KONEČNÁ, D. (1982): Somatic embryogenesis in callus and cell suspension cultures of alfalfa (*Medicago sativa* L.). Z. Pflanz.-Physiol. Bd., 105: 279–284.
- O'DONOUGHUE, L. S., GRANT, W. F. (1988): New sources of indehiscence for birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*, Fabaceae) produced by interspecific hybridization. Genome, 30: 459–468.
- PANDEY, K. K. (1957): A self-compatible hybrid from a cross between two self-incompatible species in *Trifolium*. J. Hered., 48: 278–281.
- PHILLIPS, G. C., COLLINS, G. B., TAYLOR, N. T. (1982): Interspecific hybridization od red clover (*Trifolium pratense* L.) with *T. sarosiense* Hazsl. using *in vitro* embryo rescue. Theor. Appl. Genet., 62: 17–24.
- RUPERT, E. A., EVANS, P. T. (1980): Embryo development after interspecific cross-pollinations among species of *Trifolium*, section *Lotoidea*. Agron. Abstr., 68.
- ŘEPKOVÁ, J. (1989): Regenerace jetelů z meristémů pro mezidruhovou hybridizaci. In: Sbor. věd. prací OSEVA, KVŠŮP č. 11: 5–11.
- ŘEPKOVÁ, J., NEDBÁLKOVÁ, B., HOLUB, J. (1991): Regeneration of plants from zygotic embryos after interspecific hybridization within the genus *Trifolium* and

electrophoretic evaluation of hybrids. In: Sci. Stud. Res. Inst. Fodder Plants Troubsko, č. 12: 7-13.

ŘEPKOVÁ, J. (1992): Vývoj embrya a kultury embryí rodu *Trifolium*. [Kandidátská disertace.] Praha, ÚEB AV.

SANGDUEN, N., SÖRENSEN, E. L., LIANG, G. H. (1982): A perennial annual  $\times$  *Medicago* cross. *Canad. J. Genet. Cytol.*, 24: 361.

SAWAI, A., UEDA, S., GAU, M., UCHIYAMA, K. (1990): Interspecific hybrids of *Trifolium medium*  $\times$  4x *T. pratense* L. obtained through embryo rescue. *J. Jap. Soc. Grassl. Sci.*, 35: 267-272.

SMRŽ, J., MUSIL, M., VACEK, V. (1985): Náchylnost vybraných druhů z čeledi *Viciaceae* k virózám. In: Sbor. věd. prací VŠÚP Troubsko, č. 9: 163-170.

VESSABUTR, S., GRANT, W.F. (1995): Isolation, culture and regeneration of protoplasts from birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 41: 9-15.

VOGT, M., SCHWEIGER, W. (1983): Untersuchungen zur Methodik der Embryokultur bei *Trifolium*. *Arch. Zcht.-Forsch.*, 13: 273-283.

WILLIAMS, E. (1978): A hybrid between *Trifolium repens* and *T. ambiguum* obtained with the aid of embryo culture. *N.Z. J. Bot.*, 16: 499-506.

WILLIAMS, E. (1980): Hybrids between *Trifolium ambiguum* and *T. hybridum* obtained with the aid of embryo culture. *N.Z. J. Bot.*, 18: 215-220.

WRIGHT, R. L., SOMERS, D. A., MCGRAW, R. L. (1987): Somatic hybridization between birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) and *L. conimbricensis* Willd. *Theor. Appl. Genet.*, 75: 151.

YAMADA, T., FUKUOKA, H. (1986): Production of interspecific hybrids between *Trifolium ambiguum* M.Bieb. and *T. repens* L. by ovulo culture. *Jap. J. Breed.*, 36: 233-239.

YAMADA, T., FUKUOKA, H., HIGUCHI, S. (1989): Interspecific hybridization of tetraploid kura clover (*Trifolium ambiguum* M.Bieb.) and white clover (*T. repens* L.) using ovulo culture. *J. Jap. Soc. Grassl. Sci.*, 35: 180-185.

### **Methods of Embryo Culture and Protoplast Fusion for Interspecific Hybridization in *Medicago*, *Trifolium* and *Lotus***

Interspecific hybridization is desired owing to the transfer of some characteristics such as specific pathogen resistance (*Trifolium*, *Medicago*) or pod dehiscence (*Lotus*). Hybridization between species of *Trifolium* under natural conditions is considered very

improbable, even in closely related species. The method of embryo culture *in vitro* was developed to perform successful crossing of species, that cannot be crossed by the traditional method. It is one way of overcoming interspecific barriers, but only in some suitable combinations. The conditions for the cultivation of zygotic embryos of *Trifolium* species have been optimized. The method of protoplast fusion provides the possibilities of somatic hybridization in the genus *Medicago* and *Lotus*. The composition of the all solutions used for the isolation of mesophyll protoplasts, protoplasts from suspension culture and for protoplast fusion is described.

---

*Kontaktní adresa:*

RNDr. Jana Řepková, CSc., Výzkumný ústav pícninářský, s.r.o.

664 41 Troubsko, Česká republika

tel.: 00 420 5 472 275 10-13, fax: 00 420 5 472 273 85, e-mail: vuptbrmo.ics.muni.cz

## **Studijní informace 1997**

### **řada Rostlinná výroba**

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

Klír J.: Setrvalé zemědělství	40 Kč
Šimon J.: Zemědělství v marginálních oblastech	40 Kč
Píkula J.: Bojujeme proti plevelům	40 Kč
Flohrová A.: Vápník a jeho význam pro půdu a rostliny	35 Kč
Blechto vá A.: Význam organické hmoty v půdě	40 Kč
Míkula P.: Pěstování brambor	40 Kč
Kůdela V.: Rostlinolékařské právní normy v českých zemích a jejich historický vývoj	62 Kč

Uvedené publikace si můžete objednat na adrese:

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

## Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

---

### Seminář o historii šlechtění rostlin

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita (MZLU) v Brně a Českomoravský svaz šlechtitelů uspořádali dne 4. 3. 1997 v aule MZLU Seminář o historii šlechtění v Čechách a na Moravě. Cílem semináře bylo poukázat na dlouholetou a úspěšnou činnost v oblasti šlechtění rostlin na území dnešní České republiky, seznámit účastníky s dosaženými výsledky šlechtění a vzpomenout osobností, které se o to zasloužily. Seminář byl určen pro pracovníky šlechtění, zemědělského výzkumu a všechny, kteří se o šlechtění zajímají. Zúčastnilo se ho více než 200 osob.

V úvodním vystoupení vyzvedl prof. Ing. O. Chloupek, DrSc., význam šlechtitelské práce pro zvyšování výnosů zemědělských plodin a její trvalé poslání při zajišťování výživy lidí. Příspěvky k jednotlivým skupinám plodin přednesli:

obiloviny – doc. Ing. J. Bouma, CSc.

kukuřice – Ing. F. Damborský

luskoviny – Ing. F. Tyller

jeteloviny – Ing. J. Palán

trávy – Ing. V. Světlík, CSc.

ovoce, réva vinná, okrasné rostliny – prof. Ing. J. Lužný, CSc.

zeleniny a kořeninové rostliny – Ing. J. Moravec, CSc.

okopaniny, olejniny, technické plodiny, chmel – Ing. V. Němec, CSc.

Přednášející poukázali na to, že u většiny u nás pěstovaných plodin má šlechtění dlouholetou historii. U některých velkoplošně využívaných plodin, ale i u speciálních a méně významných plodin byla vyšlechtěna řada významných odrůd, které byly po několik let nosnými odrůdami pěstovaného sortimentu a staly se také významnými zdroji pro další odrůdy vyšlechtěné u nás nebo v zahraničí.

S ohledem na současnou situaci ve šlechtění a jeho význam pro další zvyšování výnosů zemědělských plodin byl seminář uspořádán ve vhodný čas. Podle předpokladu OSN vzroste počet obyvatel na naší planetě v roce 2020 přibližně na 8 miliard a v roce 2035 na 10 miliard. Jestliže se má zabránit hladovění, bude růst populace nevyhnutelně vynucovat růst zemědělské výroby. Růst rozlohy zemědělské půdy pro intenzivní hospodaření nelze očekávat. Zvýšení výroby bude kromě ekonomických, politických, technických a jiných podmínek záviset především na využívání vysoce výkonných odrůd. Tento předpoklad je zcela oprávněný, poněvadž během posledních 30 let přineslo využívání vylepšených odrůd 50% nárůst produktivity při pěstování hlavních zemědělských plodin.

Z uvedených údajů vyplývá, že úspěšné šlechtění má nezastupitelný význam v dalším rozvoji zemědělské výroby. To by si měli uvědomit všichni, kdo se jakýmkoliv způsobem podílejí na vytváření podmínek ať už legislativních, technických, dotačních nebo jiných pro naše šlechtění, aby svým rozhodnutím přispěli k rozvoji této činnosti.

V zájmu široké informovanosti o historii a stavu českého šlechtění připravuje Českomoravský svaz šlechtitelů pod záštitou Českomoravské šlechtitelské a semenářské asociace vydání Almanachu šlechtění v Čechách a na Moravě. Autory kapitol o šlechtění rostlin budou uvedení autoři příspěvků, vedoucím kolektivu je Ing. V. Němec, CSc., ze Semčic. Doufáme, že Almanach přispěje k oživení historie našeho šlechtění a k pochopení významu šlechtitelské činnosti pro současnost i budoucnost.

*Ing. František Damborský*  
*předseda ČMSS*

## 10. zasedání Biometrické sekce společnosti EUCARPIA

Ve dnech 13. až 16. května 1997 se v Poznani v Polsku uskutečnilo 10. zasedání sekce společnosti EUCARPIA pod názvem Biometrika ve šlechtění rostlin. Jednání jednotlivých tematických okruhů bylo uvedeno pěti vyzvanými referáty, na které navazovalo celkem 52 dílčích ústních či plakátových sdělení.

Zasedání zahájil předseda sekce Dr. J. Hill z Velké Británie. První tematický okruh uvedl odborným příspěvkem H. H. Geiger z Univerzity ve Stuttgartu (SRN) na téma Kvantitativní genetika a optimalizace šlechtitelských programů. Navazující referáty se týkaly optimalizace šlechtitelských postupů u řepy cukrové (studia proměnlivosti jednotlivých faktorů), modelů reciproké rekurentní selekce u rodu *Eucalyptus*, modelování různých systémů dialelního křížení a organizace kvantitativních znaků. Vlastní příspěvek (V. Šíp, J. Radek, M. Škorpič a J. Vacke) se zabýval porovnáním různých indexových odhadů pro posuzování rezistence obilovin k viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV). Byl vyvinut počítačový program v jazyce Pascal (J. Radek, BIOMETRIKA, Vinařice, ČR), který využívá iterační metody pro stanovení mocninné regrese spolu se substitucí vybraných proměnných a dopočtem korelačních analýz a analýz rozptylu. Tento přístup by mohl najít uplatnění při hodnocení znaků, které mají multivariační charakter, jako jsou např. znaky mlynářské a pekařské kvality pšenice.

Využití tvorby dihaploidních linií ve šlechtění rostlin a v genetickém výzkumu bylo druhým tematickým okruhem. V úvodním referátu J. W. Snape (John Innes Centre, Norwich, UK) poukázal na pokrok dosažený v produkci dihaploidních linií. Prašnické kultury nyní převládají u kukuřice a rýže, zatímco u pšenice a ovsa se nejlépe osvědčuje technika křížení s kukuřicí a u ječmene „bulbosum“ techniky. Pro potřeby šlechtění je nejuvhodnější tvorba dihaploidů v generacích  $F_2$  či  $F_3$  o křížení. V genetickém výzkumu sehrávají dihaploidy významnou roli při vývoji genetických map, zvláště u rýže, pšenice a ječmene. Jsou též výhodné při analýze kvantitativních znaků a pro zjišťování QTL. Význam dihaploidů byl demonstrován na základě analýzy agronomických znaků u ječmene a pšenice. Na tento příspěvek navazovaly referáty týkající se využití molekulárních markerovacích technik pro identifikaci genotypů (*Lolium* sp.), odhadů genetických vzdáleností a predikce výkonu kříženců (ječmen) a hybridů (kukuřice).

Mapování lokusů pro kvantitativní znaky (QTL) bylo předmětem příspěvku R. C. Jansena (CPRO-DLO, Wageningen, Nizozemsko). Významné bylo konstatování, že v posledních letech byl zaznamenán výrazný pokrok ve vývoji statistických metod a softwaru pro mapování QTL v populacích získaných křížením inbredních linií (BC,  $F_2$ , DH linií a rekombinantních inbredních linií). Techniky zaznamenaly příklon k mnohotným (multiple) analýzám QTL v různém prostředí a dostupná je řada

počítačových programů. Současný stav využitelnosti detekovaných QTL markerů výnosových znaků ve šlechtění (pro zvýšení efektivnosti výběru na výnos od raných hybridních generací) demonstroval P. Stam a kol. (Agricultural University, Wageningen) u křížence jarního ječmene. Z příspěvku vyplynulo, že tento přístup zdaleka ještě nepřináší uspokojivé, šlechtitelsky využitelné výsledky. Na závěr této sekce prezentoval A. Gallais (Station de Génétique Végétale, INRA, Ferme du Moulon, Francie) analytický přístup k posuzování efektivnosti šlechtitelského výběru s využitím markerů. Ukazuje se, že výběr založený na markerech QTL může být vysoce efektivní i při rozdílných úrovních heritability znaků.

Multivariační přístup k analýze interakcí genotypů s prostředím ozřejmil ve svém příspěvku T. Caliński (Univerzita, Poznaň). Přístup je založen na analýzách rozptylu (ANOVA) a multivariačních analýzách rozptylu (MANOVA), přičemž pro testování hypotéz o hlavních vlivech a interakcích genotypů s roky a místy byly nezbytné testovací statistiky z MANOVA. Užitečné v tomto směru se ukázaly též kánonické variace a analýzy hlavních komponent. Navazující příspěvky pojednávaly o výběru vhodných lokalit pro testování odrůd a analýzách interakcí genotypů s prostředím u pšenice (J. Hartmann a J. Pešek, ČR) a dalších obilnin.

Metodologie testování odrůd byla předmětem posledního tematického okruhu. Simultánní testování DUS (distinctness, uniformity, stability) bylo předmětem příspěvků J. Jansena a F. A. van Eeuwijka (CPRO-DLO, Wageningen) a J. Boryse a kol. (RCCT, Słupia Wielka, Poznaň). Konstrukci skupin referenčních odrůd pro testování odlišnosti odrůd se zabýval příspěvek L. C. P. Keizera a F. A. van Eeuwijka (CPRO-DLO, Wageningen). J. R. Law (National Institute of Agricultural Botany, Cambridge, UK) pojednal o metodách odhadů a interpretace genetické diverzity odrůd s využitím AFLP dat.

Metodologie testování odrůd mohla být prakticky diskutována též v rámci návštěvy Výzkumného střediska pro testování odrůd Słupia Wielka nedaleko Poznaň. Toto středisko odrůdového zkušebnictví je zaměřeno na:

1. výzkumnou práci pro určení hodnoty VUS u odrůd (value for cultivation and use);
2. testování a určování hodnoty DUS (distinctness, uniformity, stability);
3. udržování Registru odrůd (tento registr umožňuje pěstování a prodej osiv odrůd v Polsku);
4. udržování Registru šlechtitelských práv odrůd, který garantuje šlechtitelská práva;
5. poskytování poradenské služby pro pěstování povolených odrůd.

Středisko tvoří síť pokusných stanic, které obhospodařují celkem 6 000 ha orné půdy a přibližně 20 000 m<sup>2</sup> skleníkové plochy a japanů. Úzká je spolupráce se semenářskými organizacemi a s institucemi zajišťujícími v Polsku poradenství. Účastníci exkurze byli podrobně seznámeni s moderními statistickými postupy zakládání pokusů a jejich hodnocení. Je zavedeno rozčleňování bloků s více než 16 členy

do alfa podbloků, což umožňuje lépe eliminovat vlivy prostředí. Při organizaci pokusů je také přihlíženo ke shodnosti v délce rostliny či ranosti. K detailnějšímu testování vhodnosti odrůd pro různé směry hospodářského využití však polské odrůdové zkušebnictví zatím nepřistoupilo.

Součástí zasedání sekce bylo také zasedání výboru (V. Šíp v zastoupení za člena výboru J. Peška). Bylo rozhodnuto, že příští pořadatelskou zemí bude Francie. Zasedání by se mělo uskutečnit v roce 2000 v Paříži. Bylo konstatováno, že přelom tisíciletí je příležitostí k revizi dosažených výsledků týkajících se uplatnění biometrickogenetických metod v procesu šlechtění rostlin a k zahledění se do budoucna.

Byly navrženy tyto okruhy problémů:

1. Kvantitativní genetika a genetické základy heteroze, s akcentem na využitelnost moderních molekulárních metod markerování kvantitativních znaků.
2. Metody šlechtění a tvorba nových odrůd.
3. Uplatnění statistických metod při hodnocení genetických zdrojů.
4. Uplatnění matematických metod při studiu vztahu hostitel/patogen a šlechtění na horizontální rezistenci k chorobám a škůdcům.

Byl přijat návrh současného předsedy J. Hilla předat předsednictví sekce mladšímu nástupci v průběhu příštího zasedání v Paříži.

Zasedání bylo po odborné i společenské stránce výborně připraveno a umožnilo získat nejnovější poznatky z oblasti biometrické genetiky, jakož i prohloubit a rozšířit spolupráci s předními pracovišti genetickošlechtitelského výzkumu v Polsku a v evropských zemích, které se zasedání účastnily. Hlavní přínos tohoto zasedání lze spatřovat v tom, že bylo výrazně zaměřeno na metody hodnocení výsledků postupů využívajících markerování a molekulární metody.

*Ing. Václav Šíp, CSc.*

Katalog videotéky  
Ústřední zemědělské a lesnické knihovny

## **AGROVIDEO**

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

Katalog obsahuje asi 360 titulů, které jsou rozděleny do 27 tematických okruhů, např. věda a výzkum, mechanizace a automatizace rostlinné a živočišné výroby, alternativní zemědělství, půdoznalství, šlechtění rostlin, zahradnictví, chov zvířat, plemenářství, včelařství, rybářství, lesnictví, myslivost, tvorba a ochrana životního prostředí, vodní hospodářství apod. Cena katalogu je 50 Kč, lze jej objednat i na disketě (cena disket + 30 Kč).

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

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

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

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

### **Informace na tel. čísle:**

242 579 39, l. 520 – dr. Bartošová  
(informace z databáze, rešerše na téma)  
242 579 39, l. 304 – pí Hedvíková (výpůjční činnost)  
259 096 – záznamník (mimo prac. dobu)

### **Objednávky katalogu:**

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

# NOVÉ ODRŮDY – NEW VARIETIES

## Ječmen jarní Olbram

**Povolen:** Česká republika 1996

**Šlechtitelská práva:** MORSTAR a. s., Kroměříž, Česká republika

**Šlechtitel a udržovatel:** MORSTAR a. s., Šlechtitelská stanice Branišovice

**Rodokmen:** HVS 1703 x BR 2174

**Metoda šlechtění:** Křížení bylo provedeno v roce 1986. První klasové výběry následovaly v generaci F<sub>2</sub>. U klasových potomstev v generaci F<sub>3</sub> se hodnotila ranost, odnoživost, výška rostliny a odolnost k chorobám. V generaci F<sub>4</sub> započalo testování sladovnické kvality mikrosladovací metodou, skleníkové testy na odolnost k padlí travnímu (*Erysiphe graminis*) a hnědé skvrnitosti (*Pyrenophora teres*). Klasové výběry v této generaci byly základem rodokmenové metody šlechtění. Další zkoušení pokračovalo v polních podmínkách. Do státních zkoušek byla odrůda zařazena v letech 1993–1995. Po jejich ukončení byla povolena pod názvem Olbram.

**Odolnost k chorobám:** Odolnost k padlí travnímu (*Erysiphe graminis*) je rasově nespecifická, daná recesivním genem *mlo*. Rezistence proti rzi ječné (*Puccinia hordei*) je podmíněna genem *Rph 12*, ale v polních podmínkách vykazuje vyšší rezistenci, zřejmě podmíněnou přítomností vyšší úrovně nespecifické odolnosti. Rezistence k listovým skvrnitostem (*Pyrenophora teres* a *Rhynchosporium secalis*) je střední.

**Sladovnická jakost:** Odrůda má vynikající sladovnickou jakost ve všech parametrech. Má vysoký obsah celkového extraktu, velmi vysokou enzymatickou (proteolytickou, amylolytickou a cytolytickou) aktivitu, velmi příznivý stupeň prokvašení a nízký obsah beta glukanů ve sladince. Podle stávajícího bonitačního systému kvality sladovnického ječmene (VÚPS Brno) má odrůda hodnocení 8,77 (9) a řadí se mezi výběrové odrůdy.

**Výnos zrna:** Nadprůměrných výnosů dosahuje v kukuřičné výrobní oblasti, průměrných v řepařské a lepší bramborářské výrobní oblasti.

**Ostatní vlastnosti:** Olbram je poloraná odrůda s nízkým stéblem, dobrou odnoživostí a střední odolností k poléhání. Zrno je středně velké, s dobrou výtěžností předního zrna, které je slámově žluté barvy s jemně zvrásněnou pluchou. Požadavky na agrotechniku je zapotřebí směřovat k cílenému pěstování superkvalitního sladovnického ječmene.

## Spring barley Olbram

**Registered:** Czech Republic 1996

**Breeders rights:** MORSTAR a.s., Kroměříž, Czech Republic

**Breeder and maintainer:** MORSTAR a.s., Branišovice Plant Breeding Station

**Pedigree:** HVS 1703 x BR 2174

**Breeding method:** Year of crossing 1986. First spike selections took place in F<sub>2</sub> generation. Earliness, tillering rate, plant height and resistance to diseases were evaluated in F<sub>3</sub> generation. Tests of malting quality by a micro-malting method, greenhouse tests for resistance to powdery mildew (*Erysiphe graminis*) and net blotch (*Pyrenophora teres*) started in F<sub>4</sub> generation. Spike selections in this generation were the basis of pedigree breeding. Further tests were conducted in field conditions. This variety was included in official trials in 1993–1995. After their termination, it was registered under the name Olbram.

**Resistance to diseases:** Resistance to powdery mildew (*Erysiphe graminis*) is race nonspecific, constituted by recessive gene *mlo*. Resistance to brown rust (*Puccinia hordei*) is conditioned by gene *Rph 12*, but its resistance in field conditions is higher, likely to be conditioned by the presence of the higher level of nonspecific resistance. Resistance to leaf blotches (*Pyrenophora teres* and *Rhynchosporium secalis*) is intermediate.

**Malting quality:** Excellent malting quality in all traits. High content of total hot water extract, very high enzymatic (proteolytic, amylolytic and cytolytic) activities, very satisfactory final attenuation and a low content of beta glucanes in wort. The variety evaluation pursuant to the present evaluation system of malting barley quality (Brewing and Malting Research Institute in Brno) is 8.77 (9), it ranks among first-grade varieties.

**Grain yield:** Above-average yields are achieved in a corn production region, average ones in a sugar beet production region and better ones in a potato production region.

**Other characteristics:** Olbram is a semi-early variety with low culm, good tillering rate and medium resistance to lodging. Grain is of average size, with a good yield of grade grains, yellow in color, with finely wrinkled husk. Requirements for cultural practices should be aimed at targeted growing of extra-quality malting barley.

*Ing. František Růžička, CSc.*

*MORSTAR a. s., Šlechtitelská stanice, 671 77 Branišovice*

*tel.: 00 420 621 925 25, fax: 00 420 621 925 24*

## Pšenice ozimá Saskia

**Povolena:** Česká republika 1996

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

**Šlechtitel a udržovatel:** SELGEN a.s., Šlechtitelská stanice STUPICE

**Rodokmen:** Hana x Viginta

**Metoda šlechtění** – rodokmenová: Křížení bylo provedeno v roce 1982, výběry rostlin byly zahájeny v  $F_2$ , reselekcce rostlin pak pokračovaly v generacích  $F_3$  až  $F_5$ . V  $F_6$  byly sklizeny dvouřádkové mikroparcely (plocha  $0,8 \text{ m}^2$ ), v generacích  $F_7$  a  $F_9$  byl hodnocen výnos zrna postupně ve staničních a mezistaničních zkouškách na parcelách  $10 \text{ m}^2$ . Selekcce na odolnost k padlí travnímu, rzím a braničnatce byla prováděna od generace  $F_1$  pod umělými infekcemi ve speciálních fytoškolkách i za přirozené infekce v polních podmínkách. V  $F_7$  až  $F_9$  byly tyto testy doplněny skleníkovými testy na padlí travní ve stadiu klíčnicích rostlin. Podrobnější hodnocení jakosti, mrazuvzdornosti a odolnosti k porůstání zrna bylo prováděno od generace  $F_7$ . Udržovací šlechtění bylo zahájeno v generaci  $F_8$ . Nové šlechtění SG-S352 bylo přihlášeno do státních odrůdo-vých zkoušek v roce 1992 a povoleno pod názvem Saskia v roce 1996 (generace  $F_{13}$ ).

**Odolnost k chorobám:** Je středně odolná k padlí travnímu, rzím (pšeničné, plevové i travní) i k braničnatce plevové. Je vyšlechtěna ze stejné kombinace křížení jako odrůda Samanta, vůči které má zlepšenou odolnost k většině chorob o půl až celý stupeň.

**Genetické založení odolnosti:** Nebyl zjištěn žádný gen odolnosti proti padlí travnímu, odolnost ke rzi plevové je založena pravděpodobně genem *Yr2*, ke rzi pšeničné je podmíněna genem *Lr3*, proti rzi travní je to gen zatím označený jako + (VÚRV Ruzyně – P. Bartoš, R. Hanušová).

**Jakost potravinářská A7.** Má dobrý obsah lepku (Go kolem 25 %), obsah bílkovin 13 %, bobtnavost ( $Q_0$  13–14 ml), sedimentační hodnota 55 ml (SDS test), číslo poklesu 320–350 s, objemová hmotnost velmi dobrá nad 800 kg/hl, a měrný objem pečiva při Rapid Mix testu je kolem  $540 \text{ cm}^3/100 \text{ g}$ . Dobrou pekařskou jakost potvrzují i gluteninové podjednotky: 6 + 8 a 5 + 10. Odolnost k porůstání zrna v klase je dobrá.

**Mrazuvzdornost** je velmi dobrá, podle hodnocení ve VÚRV Praha-Ruzyně má kritickou teplotu LT 50 kolem  $-12 \text{ }^\circ\text{C}$ .

**Výnos zrna:** Na základě hodnocení průměru pokusů ÚKZÚZ v letech 1993–1996 patří ve skupině odrůd s dobrou potravinářskou jakostí k výnosově nadprůměrným v kukuřičné oblasti, kde měla výnos 101 % na všechny kontroly včetně nepotravinářských a 103 % v porovnání s kontrolami s potravinářskou jakostí. V ostatních oblastech se pohybují výnosy kolem průměru kontrol.

**Ostatní vlastnosti:** Je středně raná, se střední délkou stébla (90 cm) i střední odolností k poléhání. Od odrůdy Samanta se odlišuje kratší délkou stébla (o 7 cm) a zlepšenou odolností k poléhání. Klas je bílý, Jehlancovitého tvaru, řídký, osinkatý. Osinky jsou středně dlouhé nebo krátké a vyskytují se v horní čtvrtině klasu.

## Winter wheat Saskia

**Registered:** Czech Republic 1996

**Breeders rights:** SELGEN a.s., Prague, Czech Republic

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

**Pedigree:** Hana x Viginta

**Breeding method** – pedigree. Year of crossing 1982. Individual plant selections started since F<sub>2</sub>. Reselections of plants were repeated on plant progenies plots since F<sub>3</sub> to F<sub>5</sub>. In F<sub>6</sub> plant progenies on two-row microplots (0.8 m<sup>2</sup>) were harvested. Grain yield was evaluated progressively on more locations with plot size 10 m<sup>2</sup> from F<sub>7</sub> to F<sub>9</sub>. Screening for resistance to mildew, rusts (yellow, brown and stem) and *Septoria nodorum* was practised from F<sub>1</sub> under artificial infections in special diseases nurseries and under natural infection in field trials. Screening for mildew resistance on seedlings in greenhouse were done in F<sub>7</sub>–F<sub>9</sub>. More detailed analyses for quality, frost resistance and sprouting resistance were performed since F<sub>7</sub>. Maintenance breeding started in F<sub>8</sub>. Line labelled SG-S352 was tested in the official trials since 1993 to 1996 and then registered as variety Saskia in 1996.

**Disease resistance:** Resistance to mildew, rusts and septoria is moderate. The level of resistance is better in comparison with sister variety Samanta.

Resistance genes: Mildew – no major gene, yellow rust probably *Yr2*, resistance to brown rust *Lr3*, stem rust – not yet defined gene + (VÚRV Praha – P. Bartoš, R. Hanušová).

**Quality** – A7: High protein content (13%), favourable gluten content (Go 25%), with good swelling capacity (Qo 13–14 cm<sup>3</sup>), sedimentation value 55 ml (SDS test), falling number 320–350s, test weight very high – over 800 kg/hl, loaf volume in Rapid Mix test around 550 cm<sup>3</sup>/100g. Good baking quality confirmed also. glutenin subunits: 6 + 8 and 2 + 12. Saskia has also good sprouting resistance.

**Frost resistance** is high, according to test in Research Institute for Crop Production, Prague-Ruzyně the critical temperature (LT 50) is around –12 °C.

**Grain yield:** Yield is expressed in relation to the mean of official trials in the years 1993-1996. Saskia yields above average in warmer area, in the other regions yielded on the average.

**Other characteristics:** time of ear emergence and ripening is medium early, plant length is medium (90 cm), lodging resistance is good. The spike is white, tapering shape, with lax density and with short or middle scurs in the upper part of the ear.

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

*SELGEN, a. s., Šlechtitelská stanice Stupice, 250 84 Sibřina, Česká republika  
tel.: 00 420 2 677 106 46, 00 420 2 677 106 76, fax: 00 420 2 677 113 98*

## Brambor Korneta

**Povolena:** Česká republika 1996

**Šlechtitelská práva:** SATIVA Keřkov a. s., Havlíčkův Brod, Česká republika

**Šlechtitel a udržovatel:** SATIVA Keřkov a. s., Šlechtitelská stanice Keřkov

**Rodokmen:** Adretta x KE 25/21

**Metoda šlechtění:** Po nakřížení a vypěstování semenné generace bylo potomstvo vedeno dva roky v ramšových generacích, ve kterých byly během vegetace i po sklizni vylučovány typy výrazně neodpovídající šlechtitelskému záměru. V následných vegetativních generacích (1.–5.) bylo potomstvo každého jedince získaného v pohlavní generaci sledováno individuálně. Selektce a testace byla prováděna na odolnost k chorobám (virovým, houbovým, bakteriálním), výkonnost a kvalitativní ukazatele konzumní jakosti. V 6. až 9. vegetativní generaci byl kříženec zkoušen ve Státních registračních zkouškách pod označením KE-A42/52A a následně povolen jako nová odrůda. V tomto období bylo rozpracováno udržovací šlechtění křížence jednak tradiční metodou klonového šlechtění spojenou s využitím ELISA testu u výchozích materiálů, jednak bylo započato s ozdravováním výchozích materiálů pomocí tkáňových kultur a následným množením meristémových rostlin v izolátech. Získaná sadba se stala základem pro výrobu základních množitelských stupňů.

**Odolnost k chorobám:** Odrůda je odolná k rakovině brambor rase D 1, náchylná k háďátku bramborovému. Má vyšší odolnost ke strupovitosti hlíz a plísní bramborové na hlízách. V nati je náchylnější k alternárii. Vykazuje vyšší polní rezistenci k virovým chorobám.

**Jakost:** Hlízy jsou oválného tvaru s mělkými očky, žlutou dužinou a žlutou slupkou. Hlízy jsou vzhledně, tvarově i velikostně středně vyrovnané. Je vhodná pro přímý konzum po celé skladovací období. Má střední až vyšší odolnost k mechanickému poškození a dobře se skladuje. Má střední obsah škrobu a dobrou konzumní hodnotu, která odpovídá zařazením varnému typu B.

**Výnos hlíz:** V průběhu registračních zkoušek (1993–1995) dosáhla průměrného výnosu (93–105 %), vyšší výnosy dává v hlubších humóznějších půdách.

**Ostatní vlastnosti:** Raná odrůda brambor se středně rychlým počátečním růstem. Kvete bíle, slabě.

## Korneta Potato

**Registered:** Czech Republic 1996

**Breeders rights:** SATIVA Keřkov a.s., Havlíčkův Brod, Czech Republic

**Breeder and maintainer:** SATIVA Keřkov a.s., Keřkov Plant Breeding Station

**Pedigree:** Adretta x KE 25/21

**Breeding method:** After crossing, and when seed generation was produced, the progeny was grown in first clonal generations for two years from which types not appropriately meeting the breeding intention were eliminated in the growing season as well as after harvest. The progeny of each individual obtained in sexual generation was studied individually in the following vegetative generations (1 to 5). Selection and testing were aimed at resistance to diseases (viral, fungal, bacterial ones), at performance and qualitative traits of table quality. The hybrid was tested in Official trials in the 6th to 9th generations under the name KE-A42/52A, and then registered as a new variety. Maintenance breeding of the hybrid started in that period: traditional method of clonal breeding along with ELISA technique were used in original materials, and virus eradication in original materials started at the same time using tissue cultures followed by meristem plant propagation in isolates. This material was used for production of basic types of seed tuber stock.

**Resistance to diseases:** The variety is resistant to potato wart disease, race D 1, but it is susceptible to potato root eelworm. It shows higher resistance to potato scab and to late blight of potato. Its foliage is rather susceptible to alternaria. Its field resistance to viral diseases is at a higher level.

**Quality:** Tubers of Korneta variety are oval in shape, with shallow-seated buds, yellow pulp and yellow skin. Tubers are good-looking, their shape and size are medium uniform. Korneta variety is suitable for direct consumption throughout the whole storage period. Its resistance to mechanical injury is intermediate to high, its storage is easy. Starch content is at an intermediate level, and its good table quality corresponds to its classification to cooking type B.

**Tuber yield:** Its yield (93–105 %) in official tests (1993–1995) was at an average level, but it is higher when grown in deeper soils with higher humus content.

**Other characteristics:** Early potato variety with medium fast initial growth. Few white flowers.

*Ing. Josef Konrád, CSc.*

*SATIVA Keřkov a. s., Šlechtitelská stanice Keřkov*

*582 22 Přebyslav*

*tel.: 00 420 451 484 17, fax: 00 420 451 245 93*

## 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.: Vernalisation requirements of some winter wheat varieties – Javorizační nároky některých odrůd pšenice ozimé .....	161
Singh A., Sabharwal P. S., Panwar D. V.S., Mehla I. S.: Stability of yield and seed parameters in rice – Stabilita parametrů výnosu a osiva rýže .....	173
Baldini M., Vannozzi G.-P., Turi M., Gomez-Sanchez D.: Physiological selection approach to improve drought resistance in sunflower – Fyziologická selekce pro zvýšení odolnosti k suchu u slunečnice .....	181
Sandu I., Vranceanu A. V., Craiciu D.-S., Balana I., Pacureanu M.: Inheritance of branching types in sunflower – Dědičnost typu rozvětvení u slunečnice .....	197
Manev M., Stehno Z.: Denzitometrická interpretace výsledků elektroforetické frakcionace gliadinů pšenice ozimé v A-PAGE – Densitometric interpretation of results from electrophoretic fractionation of winter wheat gliadins on A-PAGE .....	203
AKUALITY – NEWS	
Jahoor A., Schonfeld M., Backes G., Mohler V., Wenzel G.: Use of molecular markers in cereal breeding – Využití molekulárních markerů ve šlechtění obilnin .....	211
PŘEHLEDY – REVIEW	
Řepková J., Binarová P.: Metody enbryokultur a fúze protoplastů a jejich využití při mezidruhové hybridizaci u rodu <i>Medicago</i> , <i>Trifolium</i> a <i>Lotus</i> – Methods of embryo culture and protoplast fusion for interspecific hybridization in <i>Medicago</i> , <i>Trifolium</i> and <i>Lotus</i> .....	215
Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA – FROM THE SCIENTIFIC LIVE	
Damborský F.: Seminář o historii šlechtění rostlin .....	229
Šíp V.: 10. zasedání Biometrické sekce společnosti EUCARPIA .....	231
NOVÉ ODRŮDY – NEW VARIETIES	
Růžička F.: Ječmen jarní Olbram – Spring barley Olbram .....	235
Hanišová A., Haniš M.: Pšenice ozimá Saskia – Winter wheat Saskia .....	237
Konrád J.: Brambor Korneta – Korneta potato .....	239

---

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: 02/242 539 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