

№ 4278

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

659272

03/čas 04304



Czech Journal of
**GENETICS AND
PLANT BREEDING**

NÁRODNÍ KNIHOVNA



1001066100

Genetika a šlechtění

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

1

VOLUME 34
PRAGUE
MARCH 1998
CS ISSN 0862-8629

Genetics and Plant Breeding Genetika a šlechtění

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České 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 Čemý, DrSc., Ing. Antonín Fojtík, CSc., Ing. Alena Hanišová, prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., Ing. Josef Konrád, CSc., prof. Ing. Antonín Kováčik, DrSc., Ing. Josef Pešek, DrSc., prof. dr. Ing. Jan Rod, DrSc., RNDr. Erich Schwarzbach, dr. agr. habil., Ing. Jaroslav Špunar, CSc., Ing. Jaroslav Tupy, 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. Ruckebauer (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, preliminary reports, short communications and reviews. Paper are published in English, Czech, or in Slovak.

Periodicity: The journal is published quarterly. Volume 34 appearing in 1998.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Marcela Braunová, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: + 420 2 25 10 98, fax: + 420 2 242 538 39, e-mail: editor@login.cz. Both the dates of the reception of the manuscript and of the acceptance by the editorial board for publishing will be indicated in the printed contribution.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year and should be sent to the contact address. Subscription price for 1998 is 56 USD (Europe) and 58 USD (overseas).

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce, předběžná a krátká sdělení a odborná review. Práce jsou publikovány v angličtině, češtině nebo ve slovenštině.

Periodicita: Časopis vychází čtvrtletně. Ročník 34 vychází v roce 1998.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou kopiích je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Marcela Braunová, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/25 10 98, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz. V uveřejněném příspěvku se uvádí jak datum doručení rukopisu do redakce, tak i jeho přijetí redakční radou k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány na celý rok na adrese: Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1998 je 224 Kč.

Editorial

Dear readers,

You have just received the first issue of scientific periodical *Genetika a šlechtění* (founded in 1965) with a new layout and larger standard size. These formal changes have been made to comply with formal requirements for the layout of prestigious foreign periodicals.

The periodical *Genetika a šlechtění* is a unique scientific periodical in this country and it has been warmly accepted by Czech and Slovak professional community (mainly by breeders and research workers). It is, however, highly desirable that the journal should become an international one. The board of editors have always tried not only to improve professional standard of the periodical but also to enhance its reputation in the professional community in this country as well as in foreign countries. The periodical is registered in prominent world databases (Agrindex, Biol. Abstr., Bibl. Agri., Chem. Abstr., Field Crop Abstr., Helminthol. Abstr., Herb. Abstr., Landwirt. Zentralbl., Plant Breed. Abstr.). It is, however, intelligible that many authors try to publish their papers in periodicals monitored by the prestigious world database Current Contents. For reaching this status some precautions have been made. Substantial improvement of the quality of our periodical has been achieved in recent years, particularly thanks to the efforts of the professional and efficient international board of editors. Foreign members of editorial board review the presented papers and they are asked for evaluation of scientific level of our periodical. Each paper is reviewed by both the specialist and the member of editorial board and, thanks to Dr. Nielsen from Canada, a high professional language standard of papers presented in English is now guaranteed. Since 1998 the periodical will also be used for publication of papers and short communications from important international conferences held in the Czech Republic. All these precautions have already led to increased proportion of papers written in English. The papers written in the Czech or Slovak language are accompanied by long summaries in English. Taking into account the structure of the board of editors (21 experts from eight countries) and the increasing number of papers of other than Czech and Slovak origin, it is possible to consider the periodical *Genetika a šlechtění* as an international one.

The above mentioned changes in the character of our journal have suggested that the present name of this periodical is not apt any longer from various aspects. Therefore the board of editors have decided to change the name. The new name is *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* since this issue (1/1998), while the original name (*Genetika a šlechtění*) is maintained on the first page of the cover in a less conspicuous form to preserve the continuity of the periodical and to make the readers' orientation easier.

I believe that you will understand these change motivated by our efforts to improve the quality of this periodical and its availability at an international level. Making our journal better accessible to foreign authors will undoubtedly benefit you because it will broaden the spectrum of obtained information and increase publicity of your research work.

Ing. Václav Šíp, CSc.
Chairman of Editorial Board of the periodical
Czech Journal of Genetics and Plant Breeding
(*Genetika a šlechtění*)

dostáváte do ruky první číslo již 34. ročníku vědeckého časopisu *Genetika a šlechtění* v nové úpravě a ve větším, standardním formátu. K provedení formálních změn jsme přistoupili proto, aby časopis i svým vzhledem odpovídal požadavkům renomovaných zahraničních časopisů.

Časopis *Genetika a šlechtění* je jediným vědeckým časopisem tohoto druhu u nás a má vyhraněný okruh čtenářů i problematiku. Z národohospodářského hlediska je to problematika vysoce závažná, neboť šlechtění odrůd je bezesporu ekonomicky i ekologicky nejvýhodnější cestou k zvyšování produkce a dosažení potřebné jakosti produktů. Stálou snahou redakční rady je nejen zvyšovat vědeckou úroveň časopisu, ale i jeho renomé mezi odbornou a vědeckou veřejností u nás i v zahraničí. Časopis je evidován ve významných světových databázích (*Agrindex*, *Biol. Abstr.*, *Bibl. Agri.*, *Chem. Abstr.*, *Field Crop Abstr.*, *Helminthol. Abstr.*, *Herb. Abstr.*, *Landwirt. Zentralbl.*, *Plant Breed. Abstr.*). Je však pochopitelné, že mnozí autoři se snaží uplatnit své příspěvky v časopisech sledovaných prioritní světovou databází *Current Contents*. Proto byla přijata řada opatření směřujících k začlenění časopisu *Genetika a šlechtění* do této světové databáze. V posledních letech se podařil výrazný posun v kvalitě časopisu, na němž má zásluhy především odborně i pracovně kvalitní mezinárodní redakční rada. Zahraniční členové redakční rady jsou využíváni k lektorování příspěvků a byli vyzváni k posouzení vědecké úrovně a přínosu časopisu. Každý příspěvek posuzuje vedle lektora (užšího specialisty) ještě člen redakční rady a zajištěna je rovněž jazyková úprava angličtiny Dr. Nielsenem z Kanady. Časopis bude od roku 1998 využíván i k publikování vědeckých článků či stručných sdělení z významných evropských a světových vědeckých konferencí. Všechna zmíněná opatření se již odrazila ve zvýšení podílu příspěvků v anglickém jazyce, což je předpoklad pro získání statutu impaktovaného časopisu. Jsme si plně vědomi toho, že časopis *Genetika a šlechtění* takto uspěje jen jako časopis mezinárodního významu, při upřednostňování kvalitních vědeckých příspěvků v jazyce anglickém. Jejich náročné posouzení garantuje současně složení redakční rady (21 odborníků z 8 zemí).

Uvedené změny charakteru našeho časopisu způsobily, že současný název časopisu přestal vyhovovat. Proto se redakční rada rozhodla název časopisu změnit. Od tohoto čísla (1/1998) je název časopisu *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* s tím, že původní název časopisu zůstane pro lepší orientaci čtenářů zachován jako podtitul na obálce časopisu.

Doufáme, že všechny tyto změny budou u naší i zahraniční vědecké veřejnosti přijaty s pochopením, neboť byly vyvolány snahou o další zvýšení kvality našeho časopisu a jeho lepší mezinárodní postavení na mezinárodní úrovni. Nové pojetí i provedené změny zpřístupňují náš časopis více než dosud zahraničním autorům, což nejen rozšíří spektrum poskytovaných vědeckých informací, ale nepochybně přispěje i ke zvýšení publicity příspěvků.

Ing. Václav Šíp, CSc.
předseda redakční rady časopisu
Czech Journal of Genetics and Plant Breeding
(*Genetika a šlechtění*)

THE *mlo* BASED RESISTANCE OF BARLEY TO MILDEW AND THE RESPONSE OF MILDEW POPULATIONS TO THE USE OF VARIETIES WITH THE *mlo* GENE

ODOLNOST JEČMENE K PADLÍ PODMÍNĚNÁ GENEM *mlo* A REAKCE POPULACE PADLÍ NA PĚSTOVÁNÍ ODRŮD S GENEM *mlo*

E. Schwarzbach

Research Institute of Crop Production, Prague, Czech Republic

ABSTRACT: The protection against mildew of varieties, grown on most of the spring barley area in western and central Europe, is based on the single recessive gene *mlo*. A summary of accumulated knowledge on genetics, fine structure and effects of the *mlo* gene is presented. The *mlo*-gene, in spite of its adverse side effects, is used in barley breeding since the previously used mildew resistance genes became largely ineffective due to the spread of virulent races, and because of the common opinion that *mlo* provides a durable race-nonspecific resistance. However, a race from Japan and a race from an artificial selection experiment have more than 50 times higher disease efficiency on *mlo*-hosts than field races from Europe, indicating the possibility of evolution of pathogenicity on *mlo*-hosts and questioning the race nonspecificity of the resistance. Since the increased disease efficiency of these races is specific for *mlo* while against other resistance genes it remains unchanged, the term "partial virulence" is introduced. The so far observed duration of *mlo*-based resistance, 19 years after the release of the first commercial *mlo*-variety, may have two main reasons: a) the parasite needs a number of quantitative evolutionary steps to be able to reproduce well on *mlo*-hosts, as is supported by indications that existing partial virulence is conditioned by several genes, and b) the very low selection advantage of races with intermediate levels of disease efficiency on *mlo*-hosts. Calculations of the selection advantage and of frequency changes of races in populations indicate that even the most *mlo*-virulent races known would need decades of years to spread in the population, if the proportion of *mlo*-barley on the total barley growing area will not become extremely high and if mixtures of *mlo* and susceptible plants will not be grown on a large scale. In 1997 a project of monitoring of partially *mlo*-virulent races in Europe was started. A jet spore trap, mounted on the roof of a car, was used to collect airborne mildew samples along a route from Slovakia through the Czech Republic and eastern Germany to Denmark. A split bulk method with repeated reinfections on a *mlo* host was developed to detect the presence of partially *mlo*-virulent races. The obtained data indicate that partially *mlo*-virulent races with disease efficiency up to ten times higher than common European races might be present in the monitored regions at frequencies of more than 0.1%.

barley; mildew resistance; *mlo* gene; partial virulence; monitoring of races

ABSTRAKT: Největší podíl plochy jarního ječmene ve střední a západní Evropě zaujímají odrůdy, jejichž odolnost k padlí je podmíněna recesivním genem *mlo*, o jehož genetice, molekulární struktuře a účincích je podáván souhrn dosavadních poznatků. Ačkoliv má gen *mlo* nepříznivé vedlejší účinky, je využíván ve šlechtění ječmene, neboť předtím využívané geny odolnosti k padlí jsou v důsledku rozšíření virulentních ras již vůči současné populaci padlí neúčinné a protože je rozšířeno mínění, že odolnost k padlí na základě genu *mlo* je trvalá a rasově nespecifická. Jsou však známy dvě rasy padlí, jedna z Japonska a druhá vzniklá selekčním experimentem v laboratoři, které mají na rostlinách s genem *mlo* více než padesátinásobně vyšší infekční účinnost než běžné evropské polní rasy, což poukazuje na možnost evoluce patogenicity vůči rostlinám s genem *mlo* a zpochybňuje rasovou nespecifitu této rezistence. Protože zvýšená infekční účinnost těchto ras je specifická pro *mlo*, zatímco reakce vůči jiným genům rezistence zůstává nezměněna, je zaváděn termín „parciální virulence“. Dosavadní dlouhé trvání rezistence založené na genu *mlo*, 19 let po uvedení první odrůdy s genem *mlo* na trh, má zřejmě dvě hlavní příčiny: a) parazit potřebuje několik kvantitativních evolučních kroků, než bude schopen dobré reprodukce na rostlinách s genem *mlo*, což potvrzují poznatky, že existující parciální virulence k *mlo* je podmíněna několika geny; b) velmi nízká selekční výhoda ras parciálně virulentních vůči *mlo*. Modelové výpočty selekčních výhod a změn relativní četnosti parciálně virulentních ras v populaci ukazují, že i rasy s nejvyšší známou úrovní virulence vůči *mlo* by potřebovaly desítky let, než by se rozšířily v populaci, pokud podíl odrůd s genem *mlo* na celkové ploše ječmene nebude extrémně vysoký a směsí náchylných rostlin a rostlin s *mlo* nebudou pěstovány ve velkém rozsahu. V roce 1997 byl započat projekt monitorování parciálně *mlo*-virulentních ras v Evropě. Na trase vedoucí ze Slovenska přes Českou republiku a východní Německo do Dánska byly

tryskovým lapačem spor upevněným na střeše automobilu sbírány ze vzduchu vzorky padlí. K detekci ras parciálně virulentních k *mlo* byla vyvinuta metoda dělených vzorků s opakovanou reinfekcí na rostlinách s genem *mlo*. Získaná data umožňují odhad, že rasy, jejichž parciální virulence je až desetkrát vyšší než u rozšířených ras, jsou přítomny v monitorovaných regionech s četností nejméně 0,1 %.

ječmen; odolnost k padlí; gen *mlo*; parciální virulence; monitorování ras

INTRODUCTION

The *mlo* gene and its effects

The genetics and effects of the *mlo*-gene have been several times reviewed (e.g. Jørgensen, 1992). New research results, however, may justify a brief summary of accumulated knowledge. Resistance to mildew, mediated by the recessive *mlo*-gene, has been known since Freisleben and Lein in 1942 described an X-ray barley mutant resistant to mildew. Since then the gene has been induced by various mutagens in different varieties independently more than 150 times (Jørgensen, 1992). Its allelism with a spontaneous recessive mildew resistance gene of "Nackte unbegrante" of Ethiopian origin and absence of close linkage with other known resistance genes was described by Nover and Schwarzbach (1971). Jørgensen (1975) localised the gene on chromosome 4. The *mlo* gene causes that intracellular cell wall appositions which form at sites of cell wall damage caused by parasites or mechanically and commonly called "papillae" (reviewed e.g. by Aist, Gold, 1987; Aist, Bushnell, 1991), grow larger, faster and appear more frequently and often unnecessarily, causing on leaves necrotic flecks of different size and shape that mimic hypersensitivity based resistance (Wolter et al., 1993). The severity of necrotic reactions varies with genetic background. In backcrosses all *mlo*-segregants show the same type and severity of necrotic flecking, while in genetically wider crosses a wide range of type and severity of flecking occurs, from nearly zero to heavier than exhibited by the *mlo*-parent (Schwarzbach, 1975). The necrotic reactions appear even without involvement of parasites and under axenic conditions and their severity increases with developmental stage (Jørgensen, 1972). Exaggerated papilla formation can be observed in *mlo* plants exposed to mildew, to aphids or to mechanical injury like carborundum powder (Skou, 1985). Under mildew free conditions *mlo* plants have significantly lower yield characteristics than isogenic *Mlo* plants, as was demonstrated in segregating backcross populations (Schwarzbach, 1975). The wild *Mlo* allele has obviously a regulatory function, preventing excessive papilla formation, while *mlo* mutations lack the regulatory function (Jørgensen, 1991). Jørgensen and Jensen (1979) found that different *mlo* muta-

tions, though functionally allelic, are not exactly the same and recombinations within the *mlo* locus occur. Since *mlo* alleles of independent origin may represent different events at a molecular level, they have been designated by symbols *mlo1* through *mlo26* (Jørgensen, 1994). This was recently proven by Büschges et al. (1997), who analysed the fine structure of the *Mlo* gene and of 11 *mlo* mutations. While the nucleotide sequence of the wild *Mlo* allele was the same in the mother varieties, the 11 mutations represented different changes at different positions of the 1599 bp large gene. The data are summarised in Tab. I.

In contrast to mildew resistance genes causing hypersensitive host reaction, *mlo* does not affect the infection type, but reduces the disease efficiency, i.e. the number of sporulating pustules developed from germinating conidia, about 500 times. The effect varies with categories of epidermal cells. The infection efficiency of avirulent mildew on subsidiary stomata cells, on short cells in contact with stomata, and on long cells without contact with stomata is 0.8%, 0.1% and < 0.003%, respectively (Andersen, 1989; Andersen, Jørgensen, 1992). The three cell types cover 6%, 35% and 59% of the leaf area, respectively, so that the average infection efficiency is approx. 0.08%. The disease efficiency is lower, since it is cal-

I. Mutational events in different *mlo*-mutations (after Büschges et al., 1997, simplified)

Mutation	Changes at the level of	
	nucleotids	amino acids
<i>mlo-1</i>	T ⁴⁸⁴ → A	Trp ¹⁶² → Arg
<i>mlo-3</i>	2 deletions ¹¹⁸⁸	frame shift aft. Phe ³⁹⁵
<i>mlo-4</i>	11 del ⁴⁷⁸	frame shift aft. Trp ¹⁵⁹
<i>mlo-5</i>	G ³ → A	Met ¹ → Ile
<i>mlo-7</i>	G ⁶⁷⁷ → A	Gly ²²⁶ → Asp
<i>mlo-8</i>	A ¹ → G	Met ¹ → Val
<i>mlo-9</i>	C ²⁸ → T	Arg ¹⁰ → Trp
<i>mlo-10</i>	6 deletions ⁵⁴³	2 amino acids missing
<i>mlo-13</i>	T ⁸⁹ → A	Val ³⁰ → Glu
<i>mlo-17</i>	C ⁹² → T	Ser ³¹ → Phe
<i>mlo-26</i>	T ⁸⁰⁹ → A	Leu ²⁷⁰ → His

The numbers indicate the position of nucleotids and amino acids according to the translational start site. The *Mlo*-gene is 1599 bp, the coded protein 533 aa.

culated on the basis of applied conidia, usually around 0.04% or less. However, the disease efficiency on *mlo* plants is highly dependent also on environmental conditions, e.g. relief from water stress may increase temporarily the disease efficiency by two orders of magnitude (Newton, Joung, 1996; Baker et al., 1997). This, and possibly other factors like nitrogen supply, may explain occasional outbreaks of mildew in fields of *mlo*-varieties, not attributable to *mlo*-virulence (Jørgensen, 1992; Atzema et al., 1994). In experiments, factors that affect the genetically and biochemically rather complex papillae-based defence mechanism may alter also the *mlo*-based mildew resistance. Mutations affecting papillae may therefore reduce the *mlo*-based mildew resistance. The genes *ror1* and *ror2*, described as "required for the functioning of *mlo*-resistance" (Freialdenhoven et al., 1996) may be such. Biochemical treatment affecting basic papillae constituents like callose, such as calcium antagonists (Bayles, Aist, 1987) or cell treatment with mannose or 2-deoxy-D-glucose (Lyngkjær et al., 1997), results in a breakdown of *mlo*-based resistance, but also increases the disease level on hosts with the susceptibility allele *Mlo*. In contrast, phenolic substances, which are also involved in papillae formation and are in absence of major resistance genes partly responsible for the penetration resistance, which permits only a proportion of the landed conidia to succeed (Carver et al., 1994), seem not to be involved in the *mlo*-based resistance, since inhibitors of phenolics synthesis do not affect *mlo*-based resistance while reducing general penetration resistance and suppressing resistance based on hypersensitivity (Zeyen et al., 1995).

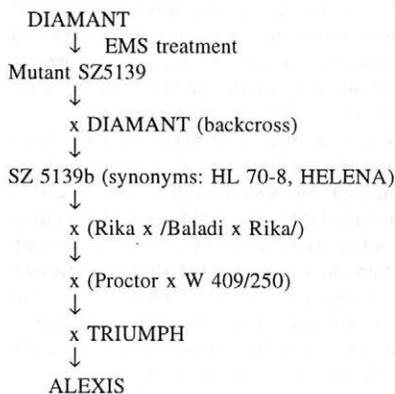
The *mlo* gene has been widely used in breeding when it was established, that its unfavourable pleiotropic effects can be almost suppressed by a suitable genetic background (Schwarzbach, 1967; Bjornstad, Aastveit, 1990). The first *mlo*-variety, ATEM, was

II. Disease efficiency of GE-3 and HL-3 on hosts with different resistance genes

	GE-3	HL-3
<i>Mlg</i>	≈ 20%	≈ 20%
<i>Mla1</i>	0	0
<i>Mla3</i>	0	0
<i>Mla6</i>	≈ 20%	≈ 20%
<i>Mla7</i>	0	0
<i>Mla9</i>	0	0
<i>Mla12</i>	0	0
<i>Mla13</i>	0	0
<i>mlo</i> *	≈ 0.04%	≈ 4%
No res. gene	≈ 20%	≈ 20%

* efficiency of GE-3 on *mlo* is reported from 0.018% (Schwarzbach, 1979) to 0.13% (Andersen, 1991). The efficiency of HL-3 on *mlo* is mostly reported close to 2%. The given values are from recent own experiments.

released in 1979. Since then, the *mlo* gene has become the most frequently used source of mildew resistance in European barley breeding and several dozens of *mlo* varieties are presently released in Europe. In the UK, 70% of the spring barley area in 1993 was *mlo* (Newton, Young, 1996), in Germany 72% of certified spring barley seed was *mlo* in 1994, but declined slightly in the following years (Bundessortenamt, 1997). From the numerous *mlo* alleles known, however, only two have been used so far in breeding. The majority of varieties is derived from the spontaneous *mlo11*-allele of Ethiopian origin, like ATEM, APEX, SALOME, GROSSO or KRONA. However, the most spread variety, ALEXIS, is derived from the mutation *mlo9*, induced in DIAMANT by Schwarzbach (1967). The pedigrees of popular *mlo* varieties were described by Jørgensen (1992). The pedigree of ALEXIS needs however the following correction:



Virulence for *mlo*

The gene is still highly effective against the present mildew population, almost 20 years after the first commercial variety with *mlo*-based resistance came into cultivation. Among 94 isolates from Denmark (Andersen, 1991) and 45 isolates from Germany (Atzema et al., 1994), analysed quantitatively, no race virulent to *mlo* has been found, although in the laboratory a culture (HL-3) considerably disease efficient against *mlo* could be produced easily in a selection experiment by approx. 40 cycles of vegetative reproduction and mass selection on a *mlo*-host (Schwarzbach, 1979) and although a similarly *mlo*-efficient mildew race (Race 1) from Japan is known (Lyngkjær et al., 1995). The HL-3 culture is on long cells, short cells and stomata cells of *mlo*-hosts over 1000 times, 75 times and 10 times, respectively, more efficient than its ancestor GE-3, in average of the whole leaf more than 50 times (Andersen, Jørgensen, 1992). The disease efficiency of HL-3, compared with GE-3, is specific for *mlo*, the interactions with other resistance genes remain unaffected. Table II summarises the disease efficiency on hosts

with different resistance genes when infected with GE-3 and HL-3 (compiled).

The specificity of the interaction justifies the term "virulence" for the increased disease efficiency of HL-3, as suggested by Lyngkjær et al. (1995). Since the disease efficiency on *mlo* does not reach the level of usual compatible interactions, the term "partial virulence" in analogy to "partial resistance" is suggested.

THEORETICAL CONSIDERATIONS

The spread of partially *mlo* virulent races

There is no doubt that large scale growing of *mlo*-varieties exerts a selection pressure for disease efficiency on *mlo* upon the parasite population. There may be two basic reasons why partially or fully *mlo* virulent races have not been found under field conditions.

One likely reason is the mechanism of *mlo*-mediated resistance itself, consisting in exaggerated forming of papillae. In wild type plants with intact *Mlo*-gene, the papillae based defense system, operating also in wheat, oat (Carver et al., 1992) and other species (Aist, Gold, 1991), is in absence of major gene resistance responsible for the failure of most of viable mildew spores to succeed, but still enough spores remain to produce colonies. Under favourable conditions this is about 20%, which is generally considered as compatible interaction. In *mlo*-plants the rate of successful infections is reduced from about 20% to 0.04%. The *mlo* gene does not add a new obstacle to the infection pathway, but quantitatively increases an already existing obstacle. Virulence for *mlo* is therefore a quantitative trait based on more efficient parasite penetration, resulting in a higher disease efficiency. Not surprisingly, different levels of *mlo*-virulence are possible. In the selection experiment, from which HL-3 originated, very likely at least three evolutionary steps based on mutations for increased *mlo*-virulence occurred, each spreading in the population before the next step thus allowing the mutations to combine. This is supported by the finding that from the final population in the experiment single spore strains with six significantly different levels of disease efficiency could be isolated, from which HL-3 was the most efficient (Schwarzbach, 1979). That at least three genes may be responsible for the *mlo*-virulence, follows also from segregation for virulence in crosses of HL-3 with avirulent mildew (Andersen, 1991; Atzema et al., 1996). In the last twenty years, during which HL-3 was kept in different laboratories and frequently reinoculated onto *mlo* hosts, its *mlo* virulence might have evolved even further, recent own tests with a HL-3 culture that have been maintained at Risø National Laboratory since 1980, indicate successful infections of about 4% of applied conidia. Very likely, selection for *mlo*-virulence proceeds under field conditions in similar evolutionary steps, each requiring time to spread in the parasite population before the next step.

Another reason is the small selection advantage of a partially *mlo*-virulent race in the agricultural environment. The selection advantage can be defined as the reproduction of the race relative to the remainder of the population during one selection cycle. In the agricultural environment the barley host generally represents large fields of genetically nearly uniform varieties. After primary infection from distant sources, shortly after crop emergence, the epidemic develops autonomously within individual fields since the amount of spores produced within the fields is by orders of magnitudes larger than from sources outside. Therefore, at a large scale, only one selection cycle within a season is available for the selection of races, which proceeds during primary infection (Wolfe, Schwarzbach, 1978a). The selection advantage (*a*) of a partially virulent race depends on how much it contributes to the aerial spore pool available for the primary infection of the next season, relative to its initial frequency in the population. This can be written as

$$a = \frac{P_{mlo} \cdot r_v + (1 - P_{mlo}) \cdot r_0}{P_{mlo} \cdot r_a + (1 - P_{mlo}) \cdot r_0}$$

where: P_{mlo} – the *mlo*-growing area relative to the barley area
 r_v and r_a – reproduction of a partially virulent and avirulent race, respectively, on the resistant *mlo*-host
 r_0 – reproduction of both races on the susceptible *Mlo*-host (assumed to be equal)

A crude, but practical measure of reproduction is the disease efficiency (colonies per initial spores), which is easier to measure than the theoretically correct spore production. The selection advantage, calculated for different levels of partial *mlo* virulence and for different relative growing area of *mlo*-varieties, is given in Tab. III.

Considering only one cycle of primary infection of the *mlo*-barley crop within a year, the yearly increase in frequency of partially virulent races should not deviate much from the figures in Tab. III. Under the assumptions that the region is epidemiologically closed, the races propagate vegetatively, hosts are fields of pure varieties, selection of races occurs during primary infection, the selection advantage is stable, no *mlo*-winter barley is grown in the region and the fitnesses of the partially *mlo*-virulent and the avirulent race on susceptible hosts with the *Mlo* allele are equal, a formula

III. Selection advantage of partially *mlo*-virulent races

Relative <i>mlo</i> -grow. area	Disease efficiency on <i>mlo</i> -host			
	0.05%	0.50%	1.25%	2.5%
	avirulent race	partially virulent races		
95%	1.0	1.32	1.88	2.79
90%	1.0	1.16	1.42	1.87
80%	1.0	1.07	1.19	1.29
50%	1.0	1.02	1.05	1.10
20%	1.0	1.005	1.01	1.02

Disease efficiency of all races on susceptible hosts without the *mlo*-allele considered 25%

for the increase in frequency of the partially virulent race can be derived similarly as by Wolfe and Schwarzbach (1978a).

The frequencies of the avirulent and of the partially virulent race change during one selection cycle proportionally to their selection advantages a_a and a_v . After n selection cycles the frequencies of the races in the population will have changed proportionally to $(a_a)^n$ and $(a_v)^n$, respectively. Given the initial frequency of the avirulent and of the virulent race in the population as f_0 and $(1 - f_0)$, respectively, then the terminal relative frequency f_t of the partially virulent race in the population will be

$$f_t = \frac{f_0 \cdot (a_v)^n}{f_0 \cdot (a_v)^n + (1 - f_0) \cdot (a_a)^n}$$

Since the selection advantage of the partially virulent race is defined relative to the avirulent race, the selection advantage of the avirulent race equals one and also $(a_a)^n = 1$. The formula can therefore be simplified to

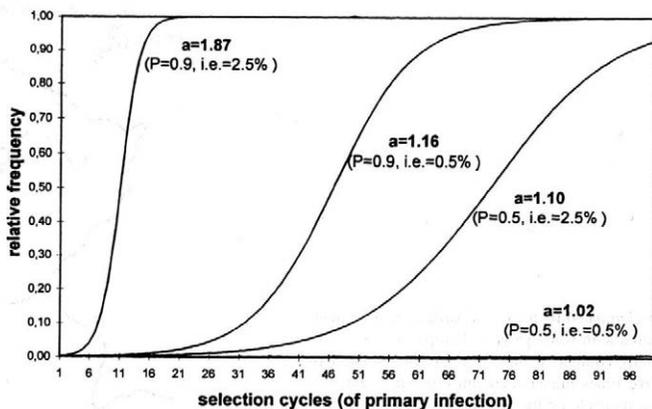
$$f_t = \frac{f_0 \cdot (a_v)^n}{f_0 \cdot (a_v)^n + (1 - f_0)}$$

The corresponding graphical representation of the frequency increase, calculated for different levels of partial virulence and for different relative acreage of *mlo*-varieties, is given in Fig. 1.

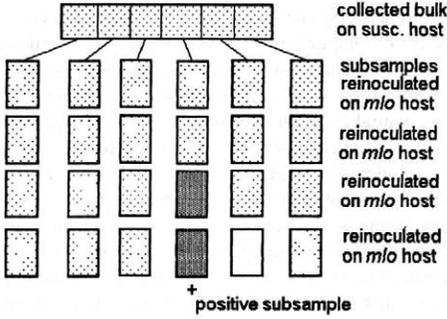
There are, however, several restrictions to the calculations. Deviations from the assumptions may enhance or slow down the spread of partially *mlo*-virulent races. The calculations ignore a suspected, but not yet demonstrated, lower fitness of partially *mlo*-virulent races on susceptible non-*mlo* hosts or bad adaptation to the winter environment that would slow down or prevent the spread. Unpredictable mutational events within the partially virulent race would lead to accumulation of genes for more efficient infection and to higher selection advantage. Also, sexual recombination, though not frequent (Brown, Wolfe, 1990, estimated 25% ascospores in the autumn barley mildew population in the UK), might enhance the evolution of the parasite. The assumption of only one selection cycle per year is pos-

sibly underrating the reality. If the *mlo* varieties contain susceptible impurities or if variety mixtures with *mlo* components are grown, the whole growing season is available for selection. Since barley mildew needs under favourable conditions only about one week from infection to sporulation, the selection effect might then be considerably larger than predicted. Formally, the formula is valid only for two competing races. If more races compete, the selection advantages are not stable and need to be recalculated with each cycle, since selection proceeds also within the remainder of the population, changing thus its selection advantage. In sum, these restrictions permit only a very crude prediction. Careful monitoring of regional and seasonal response of the pathogen population to the selection pressure exerted by the cultivation of *mlo* varieties might yield more valuable information than mathematical modelling with too many unknown factors.

The low selection advantage of partially *mlo*-virulent races in the agricultural environment explains satisfactorily the so far observed duration of *mlo*-based resistance. Historically, similar durability was observed with the *Mlg* gene, which was effective against the European mildew population for about fifty years from the beginning of the century (Wolfe, Schwarzbach, 1978b). The breakdown of *Mlg* resistance occurred only after the selection advantage of *Mlg*-virulent races became high due to a rapid increase in acreage of *Mlg*-varieties. The selection advantage of partially *mlo*-virulent races may remain low if non-*mlo* winter barley will be grown to a considerable extent, if the proportion of spring barley varieties with *mlo* will not become extremely high, and, especially, if mixtures of *mlo* barleys with susceptible barley will not be grown at a large scale.



1. Frequency increase from initial 0.001 of races with different selection advantage

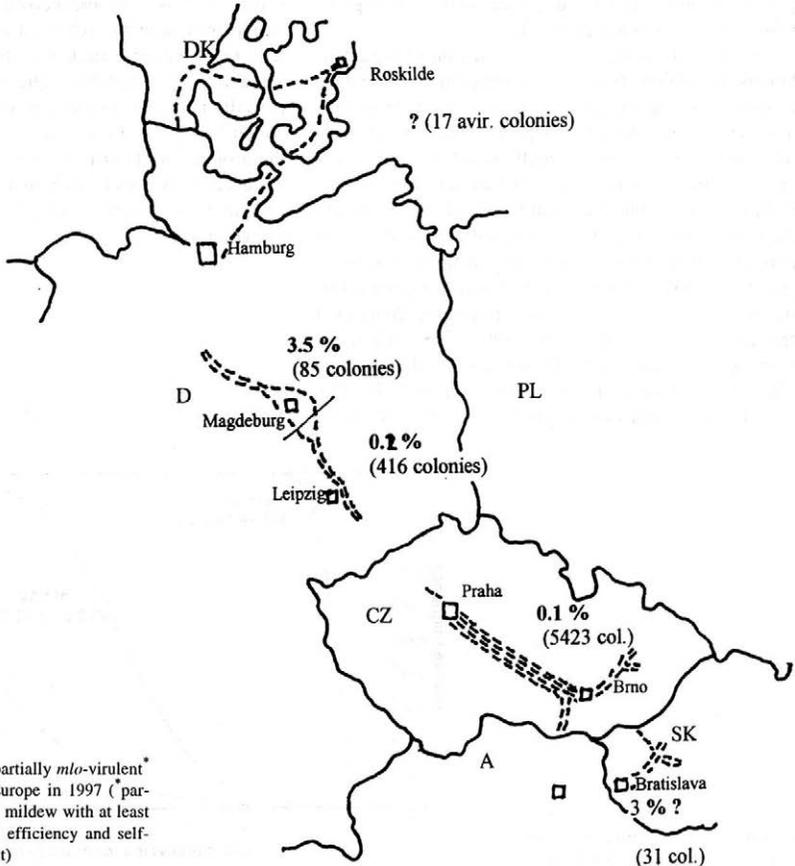


2. Scheme of bulk tests for the presence of partial virulence. Frequency can be estimated from the primary bulk size and the number of positive subsamples

MATERIAL AND METHODS

Monitoring of partial *mlo* virulence

In 1997, a project of monitoring the occurrence and frequency of partial *mlo* virulence in Europe was started, using a jet spore trap mounted on the roof of a car. The trap collected spores from a volume of approx. 4.3 m³ per km onto susceptible leaf segments on 0.5% agar. 15 ppm benzimidazole and 30 ppm ampicilline was added to the medium to delay senescence and to reduce contamination. The trapping variety was SM4142, an extremely susceptible mutant from DIAMANT. The *mlo* host was HL70-8 with the *mlo9* mutation in DIAMANT background. The sampling routes ranged from western Slovakia across the Czech Republic and eastern Germany to Denmark. Due to lack of funding, very simple mass screening techniques had to be used, allowing just rough frequency estimates. Mildew bulks were collected along 100 to 200 km long trajectories across regions. Previous attempts to monitor partial *mlo* virulence were limited to a few dozens of isolates (Andersen, 1991; Atzema et



3. Estimated frequency of partially *mlo*-virulent* mildew in some parts of Europe in 1997 (*partially virulent is considered mildew with at least five times higher infection efficiency and self-sustainable on the *mlo*-host)

al., 1994), so that low frequency could not be detected. Therefore a special bulk technique was developed. Bulks with high numbers of colonies were split into several smaller subbulks. The colonies that developed on the trapping leaf segments were approximately six times directly reinoculated as bulks onto HL 70-8, to remove the less virulent mildew strains, not self-sustainable on the *mlo* host, from the bulks. The procedure is schematically represented in Fig. 2.

RESULTS

Most of the bulks or subbulks declined to zero during the subsequent reinfections on the *mlo* host, but from some bulks self-sustainable isolates were derived, indicating the presence of partially virulent mildew among a particular number of single spore colonies composing the original bulk. The quantitative analysis of their virulence level and their spectra of virulence will be described in a separate paper. No mildew isolate with a virulence level as high as in HL-3 was found, but various self-sustainable isolates showed approx. up to ten times higher virulence than the wild type. The highest frequency of such isolates, estimated 3.5%, was found near Magdeburg, whereas in the region of Leipzig 0.2% and in the Czech Republic a frequency of 0.1% of such isolates was estimated. In Schleswig-Holstein and Denmark the mildew epidemic was extremely low and only 17 colonies were obtained from both regions, all avirulent. In Slovakia partial virulence was also present, but the total number of primary colonies was too small for frequency estimates. The routes, the estimated frequencies and the numbers of primary colonies that developed on leaf segments exposed in the spore trap are summarised in Fig. 3.

From the total number of 5972 primary colonies 10 isolates could be derived that survived the series of subsequent reinoculations on the *mlo* host and are presently under more thorough investigation. This corresponds to an overall frequency of approx. 0.2% of partially *mlo* virulent mildew. Excluding the region around Magdeburg, where almost all spring barley is *mlo*, the overall frequency in the remaining regions is approx. 0.1%. The obtained figures may underestimate the real frequency, since the resulting mass-screened isolates might contain several mildew strains with similar virulence. Also, due to random drift during the subsequent repeated bulk reinoculations onto the *mlo* host and due to the large experimental error of quantitative virulence tests some partially virulent strains might have been lost or overlooked.

DISCUSSION

The obtained data indicate a selection response of the mildew population as expected from the indicated selection advantage of partially *mlo*-virulent races.

Since there is an evident trend for further increase in acreage of *mlo*-varieties in Europe and since additional evolutionary steps in already slightly partially virulent background result in higher levels of *mlo* virulence, the selection advantage of partially *mlo*-virulent races is likely to increase and their frequency might therefore rise faster in future. Hypothetically, a selection gain of partially *mlo*-virulent races can be reduced or lost by lower fitness of such races during the winter season on susceptible winter barley, but no data are available so far to support this speculation. Much basic epidemiologic research and monitoring still need to be done before safer and quantified conclusions about the response of the pathogen to the utilisation of *mlo*-based resistance can be drawn and more specific recommendations to breeders and growers can be given.

REFERENCES

- AIST, J. R. – BUSHNELL, W. R. (1991): Invasion of plants by powdery mildew fungi and cellular mechanisms of resistance. In: COLE, G. T. – HOCH, H. C. (Eds.): The spore and disease initiation in plants and animals. N. York, Plenum Press: 321–345.
- AIST, J. R. – GOLD, R. E. (1987b): Prevention of fungal ingress. In: The role of papillae and calcium. Tokyo, Japan Sci. Soc. Press, Berlin, Springer Verlag: 47–58.
- ANDERSEN, L. (1989): Aggressiveness of powdery mildew on *mlo* resistant barley. In: Proc. XII EUCARPIA Congr., Goettingen, 1989, Sect. 3: 18.
- ANDERSEN, L. (1991): *Mlo* aggressiveness in European barley powdery mildew. In: JØRGENSEN, J. H. (Ed.): Integrated Control of Cereal Mildews: Virulence Patterns and their Change. Roskilde, Risø Natl. Lab.
- ANDERSEN, L. – JØRGENSEN, J. H. (1992): *Mlo* aggressiveness in barley powdery mildew. Norweg. J. Agric. Sci., 7: 77–87.
- ATZEMA, J. L. – FINCKH, M. R. – WOLFE, M. S. (1996): Genetics of the response of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* to *mlo* resistance in barley. In: Proc. 9th Eur. Med. Cer. Rust & Powd. Mild. Conf.: 55–57.
- ATZEMA, J. – LIMPET, E. – WOLFE, M. S. (1994): Testing isolates of barley powdery mildew for *mlo* virulence. In: LIMPET, E. – FINCKH, M. R. – WOLFE, M. S. (Eds.): Integrated control of cereal mildews and rusts: towards co-ordination of research across Europe. European Commission, Directorate-General XII, Brussels: 47–48.
- BAKER, S. – NEWTON, A. C. – GURR, S. J. (1997): Temporary breakdown of *Mlo*-resistance to mildew in spring barley. In: Proc. Conf. Approaches to improving disease resistance to meet future needs: Airborne pathogens of wheat and barley, Prague, 11.–13. Nov. 1997 (Poster abstract).
- BAYLES, C. J. – AIST, J. R. (1987): Apparent calcium mediation of resistance of an *mlo* barley mutant to powdery mildew. Physiol. Mol. Plant Pathol., 30: 337–345.
- BJØRNSTAD, A. – AASTVEIT, K. (1990): Pleiotropic effects on the *mlo* mildew resistance gene in barley in different genetical backgrounds. Euphytica, 46: 217–226.

- BROWN, J. K. M. – WOLFE, M. S. (1990): Structure and evolution of a population of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Plant Path.*, 39: 376–390.
- BUNDESSORTENAMT (1997): Beschreibende Sortenliste für Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen, Hackfrüchte. Hannover, Land-Verlag.
- BÜSCHGES, R. – HOLLRICHER, K. – PANSTRUGA, R. – SIMONS, G. – WOLTER, M. – FRIJTERS, A. – VAN DAALEN, R. – VAN DER LEE, T. – DIERGARDE, P. – GROENENDIJK, J. – TÖPSCH, S. – VOS, P. – SALAMINI, F. – SCHULZE-LEFERT, P. (1997): The barley *Mlo* gene: A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*, 88: 695–705.
- CARVER, T. L. W. – ZEYEN, R. J. – BUSHNELL, W. R. – ROBBINS, M. P. (1994): Inhibition of phenylalanine ammonia lyase and cinnamyl-alcohol dehydrogenase increased quantitative susceptibility of barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* DC). *Physiol. and Molec. Plant Path.*, 44: 261–272.
- CARVER, T. L. W. – ZEYEN, R. J. – ROBBINS, M. P. – DEARNE, G. A. (1992): Effects of PAL inhibition on oat, barley and wheat cell response to appropriate and inappropriate formae speciales of *Erysiphe graminis* DC. *Physiol. and Molec. Plant Path.*, 41: 397–409.
- FREILDENHOVEN, A. – PETERHANSEL, C. – KURTH, J. – KREUZTALER, F. – SCHULZELEFERT, P. (1996): Identification of genes required for the function of non-race-specific *mlo* resistance to powdery mildew in barley. *Plant Cell*, 8: 5–14.
- FREISLEBEN, R. – LEIN, A. (1942): Über die Auffindung einer mehltreueresistenten Murante nach Röntgenbestrahlung einer anfälligen reinen Linie von Sommergerste. *Naturwiss.*, 30: 608.
- JØRGENSEN, J. H. (1975): Identification of powdery mildew resistant barley mutants and their allelic relationship. In: *Proc. Symp. Barley Genetics III*, Garching: 446–455.
- JØRGENSEN, J. H. (1991): Mechanism of *Mlo* resistance to barley powdery mildew. *Sver. Utsädesför. Tidskr.*, 2: 80–84.
- JØRGENSEN, J. H. (1992): Discovery; characterisation and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley. *Euphytica*, 63: 141–152.
- JØRGENSEN, J. H. (1994): Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sci.*, 13: 97–119.
- JØRGENSEN, J. H. – JENSEN, H. P. (1979): Inter-allelic recombination in the *mlo* locus in barley. *Barley Genet. Newsl.*, 9: 37–39.
- LYNGKJAER, M. F. – JENSEN, H. P. – OSTERGARD, H. (1995): A Japanese powdery mildew isolate with exceptionally large infection efficiency on *Mlo*-resistant barley. *Plant Pathol.*, 45: 786–790.
- LYNGKJAER, M. F. – CARVER, T. L. W. – ZEYEN, R. J. (1997): Suppression of resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* conferred by the *mlo5* barley powdery mildew resistance gene. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 50: 17–36.
- NEWTON, A. C. – YOUNG, I. M. (1996): Temporary partial breakdown of *Mlo* powdery mildew resistance in barley. *Euphytica*, 63: 141–152.
- NOVER, I. – SCHWARZBACH, E. (1971): Inheritance studies with a mildew resistant barley mutant. *Barley Genetics Newsl.*, 1: 36–37.
- SCHWARZBACH, E. (1967): Recessive total resistance of barley against mildew (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *hordei* Marchal) as a mutation induced by ethylmethansulphonate. *Genet. a Šlecht.*, 3: 157–161 (in Czech).
- SCHWARZBACH, E. (1975): The pleiotropic effects of the *mlo* gene and their implications in breeding. In: *Proc. Symp. Barley Genetics III*, Garching: 440–445.
- SCHWARZBACH, E. (1979): Response to selection for virulence against the *mlo* based mildew resistance in barley, not fitting the gene-for-gene hypothesis. *Barley Genetics Newsl.*, 9: 85–88.
- SKOU, J. P. (1985): On the enhanced callose deposition in barley with *mlo* powdery mildew resistance. *Phytopathol. Z.*, 112: 207–216.
- WOLFE, M. S. – SCHWARZBACH, E. (1978a): Patterns of race changes in powdery mildews. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 16: 159–180.
- WOLFE, M. S. – SCHWARZBACH, E. (1978b): The recent history of the evolution of barley powdery mildew in Europe. In: SPENCER, D. M. (Ed.): *The Powdery Mildews*. London, N. York, San Francisco, Academic Press: 129–155.
- WOLTER, M. – HOLLRICHER, K. – SALAMINI, F. – SCHULZE-LEFERT, P. (1993): The *mlo* resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defence mimic phenotype. *Mol. Gen. Genet.*, 239, 122–128.
- ZEYEN, R. J. – BUSHNELL, W. R. – CARVER, T. L. W. – ROBBINS, M. P. – CLARK, T. A. – BOYLES, D. A. – VANCE, C. P. (1995): Inhibiting phenylalanine ammonia lyase and cinnamylalcohol dehydrogenase suppresses *Mla1* (HR) but not *mlo5* (non-HR) barley powdery mildew resistances. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 47: 119–140.

Received on December 12, 1997

Contact Address:

RNDr. Erik Schwarzbach, Dr. agr. habil., Václavov 23, 671 72 Miroslav, Česká republika

YIELD EVALUATION OF SUNFLOWER GENETIC RESOURCES IN RELATION TO WATER SUPPLY

HODNOCENÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ SLUNEČNICE V ZÁVISLOSTI NA SUCHOVZDORNOSTI

Y. Griveau¹, H. Serieys¹, J. Cleomene¹, E. Belhassen²

¹ Institut national de la recherche agronomique, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, centre de Montpellier, Mauguio, France

² Institut national de la recherche agronomique, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, centre de Montpellier, Montpellier Cedex 1, France

ABSTRACT: Sunflower hybrids developed from two female and 35 male parental inbred lines were, together with parents, tested for leaf area index (LAI), dry matter yield, and oil content at Montpellier and Toulouse, France, in the years 1993 to 1994, both in rainfed and irrigated field trials. The trials were aimed at the development of drought resistant genotypes. In this, the most interesting genotypes were the two female parental lines, and the hybrids derived from *Helianthus agrophyllus*. We thus succeeded to introduce some drought tolerance into sunflower germplasm from the wild species.

sunflower; drought resistance; yielding ability; stability; interspecific material

ABSTRAKT: Hybridy slunečnice, vzniklé z křížení 35 otcovských a 2 mateřských linií, byly testovány na index listové plochy (LAI), výnos nažek a obsah oleje v polních pokusech v Montpellier a Toulouse v letech 1993 až 1994 pod závlahami a bez závlah. Cílem výzkumu byla identifikace genotypů tolerantních k suchu. Nejzajímavějšími materiály z tohoto hlediska byly 2 mateřské linie a hybridy z *Helianthus agrophyllus*. Prokázala se tak možnost přenosu suchovzdornosti z divokých druhů.

slunečnice; suchovzdornost; výnosový potenciál; stabilita; interspecifický materiál

INTRODUCTION

Sunflower breeders are faced with a lack of variability for drought tolerance in the germplasm of cultivated *Helianthus annuus* (Rawson, Begg, 1980a, b). The potential of wild relative species, mainly annual *Helianthus* spp., for this breeding purpose have been assessed. *H. agrophyllus* is of interest for its vigour, its high leaf area duration and its low foliar desiccation (Serieys, 1991). Other annual species, like *H. anomalus*, *H. niveus* or *H. debilis* have high water efficiency (Serieys, 1993). In this programme, the INRA breeding team of Montpellier studied in more detail the properties of progenies of crosses of annual species with cultivated types for their drought tolerance.

MATERIAL AND METHODS

Material

We tested hybrids whose female parents were the inbred lines HA89 and 887. The list of male parents

from INRA Montpellier is given in Table I. They are divided into cultivated and interspecific genotypes, polymorphic gene pools and inbred lines. They were compared with inbred lines from Arles Semillas: 13B, 1801, 1802, 1803, 1813, 2082, 2802, 2803, 2804, 2806, 2807, 3802, 852, 880 and 890. In 1994 at Montpellier, we tested also two inbred lines from Udine, Baccara 5 and Baccara 41.

Treatments and design

Trials were performed at the INRA breeding stations of Montpellier and Toulouse in 1993 and 1994, on both rainfed and irrigated fields.

At Montpellier in 1993, the plants were sown on 20th April at a density of 8 pl/m²; the so-called rainfed plots got just 20 mm irrigation after flowering, while irrigated plots got a weekly 40 mm irrigation from bud appearance to physiological maturity. The plants were harvested between 1st and 13th September. In 1994, the plants were sown on 6th April at a density of 6.7 pl/m²; rainfed plots got no irrigation, and the irrigated plots

I. Genotypes from INRA Montpellier

Genotype code	Type	Origin
T+	gene pool	<i>Helianthus annuus</i> x <i>H. agrophyllus</i> , selected for high foliar desiccation (Series, 1991)
T-	gene pool	<i>H. annuus</i> x <i>H. agrophyllus</i> , selected for low foliar desiccation (Series, 1991)
Arg-rec	gene pool	<i>H. annuus</i> x <i>H. agrophyllus</i> , selected for general combining ability through recurrent selection
AA\7.2.4	inbred line	<i>H. annuus</i> x <i>H. agrophyllus</i> , from the Arg-rec gene pool
Ann-ano	gene pool	<i>H. annuus</i> x <i>H. anomalus</i>
PNRM 6.5.1	F4 family	<i>H. annuus</i> x <i>H. anomalus</i> , <i>in vitro</i> selected on a mannitol medium (Azpiroz et al., 1988)
Ann-nit	gene pool	<i>H. annuus</i> x <i>H. niveus tephrodes</i>
91 T602	inbred line	<i>H. annuus</i> x <i>H. niveus tephrodes</i>
91 T622	inbred line	<i>H. annuus</i> x <i>H. niveus canescens</i>
Deb-Deb	gene pool	<i>H. debilis debilis</i> x <i>H. annuus</i>
89-1471-12	F3 family	<i>H. debilis debilis</i> x <i>H. annuus</i> , from the Deb-Deb gene pool
Gizzezh 91	gene pool	Gizzezh and Gabbes populations
Gizzezh 53-3	gene pool	maternal issue from a plant from the Gizzezh 91 gene pool
89B1	inbred line	pedigree including a cross with <i>H. praecox</i> Runyonii
89B2	inbred line	pedigree including a cross with <i>H. niveus canescens</i>

received twice 30 mm irrigation from bud appearance to the 5 cm bud stage, then a weekly 40 mm to physiological maturity. The plants were harvested when fully mature between 25 September and 10th October.

At Toulouse in 1993, the plants were sown on 8th April at a density of 6.2 pl/m²; rainfed plots received no irrigation, while irrigated plots got one 35 mm irrigation at flowering. The plants were harvested on 8th and 9th September. In 1994, the plants were sown on 27th April at the same density; the rainfed field received 27 mm irrigation at flowering, while the irrigated plots received 40 mm irrigation at flowering and 40 mm two weeks later. The harvest took place in September.

For each year, each treatment and each location, all hybrids were grown with three replications according to lattice designs.

Traits measured

We measured the leaf area index (LAI) in each plot after the method described by Pouzet and Bugat (1985), dry matter grain yield and oil content in percent (measured by NMR).

RESULTS

Influence of water stress

In 1993, a severe and early water stress occurred at Montpellier in rainfed fields, which strongly reduced LAI (Fig. 1) and with it the grain yield (Fig. 2). Irrigation at grain filling increased oil content slightly in rainfed plots, compared to the irrigated control (Fig. 3). In Toulouse, there was hardly any water stress and thus

no effect on grain yield (Fig. 2) and on oil content (Fig. 3). In 1994, moderate and late water stress occurred at Montpellier. It had a slight effect on LAI (Fig. 1) and yield (Fig. 2), but oil content was strongly reduced (Fig. 3). In Toulouse, water stress was severe and affected also the yield (Fig. 2) and oil content (Fig. 3) of the irrigated field.

Ranking of tested germplasm

The effects by year, location and treatment were highly significant (Table II), so were genotype, genotype treatment and genotype location effects for yields. For oil content, all effects were also highly significant, except for genotype year interaction (although significant at $P < 0.05$).

We present here the ranking of the tested germplasm through their average value in combination with HA89 and 887. The cultivated line 83HR4 was used as control.

In rainfed plots (Table III), the best male parents for yield were 83HR4, AA\7.2.4, Arg-rec, 2803 and T-. Oil content of AA\7.2.4 and 2803 was high, but this

II. Analyses of variance in 1993 and 1994

	Grain yield	Oil content
Treatment	***	***
Year	***	***
Location (year)	***	***
Genotype x treatment	***	*
Genotype x year	***	***
Genotype x location (year)	***	***

*** $P < 0.001$; * $P < 0.05$

can be partly due to the male sterility of their hybrid combinations. In contrast, oil content of hybrids with T- was lower than those with 83HR4.

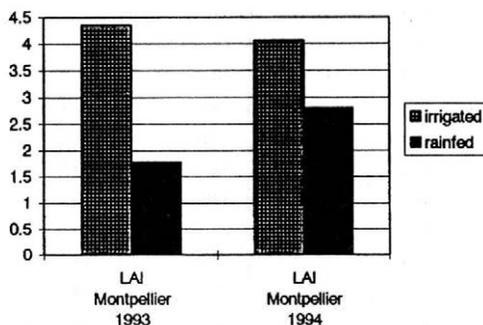
In irrigated fields (Table IV), the best male parents for yield were AA\7.2.4., Baccara 5, 852, Gizzezh 91 and 83HR4. Line AA\7.2.4. yielded significantly more than 83HR4. Gizzezh 91 had a low oil content. In an average of rainfed and irrigated plots the best male parents for yield were AA\7.2.4, 83HR4, Gizzezh 91, Arg-rec, and 880 (Table V), although we found again the low oil content of Gizzezh 91.

When we consider the dry/irrigated ratio (Fig. 4), the most interesting parents were actually low yielding germplasms. Among high yielding parents, Arg-rec ($n \times 27$) and 2803 ($n \times 11$) were the most regular.

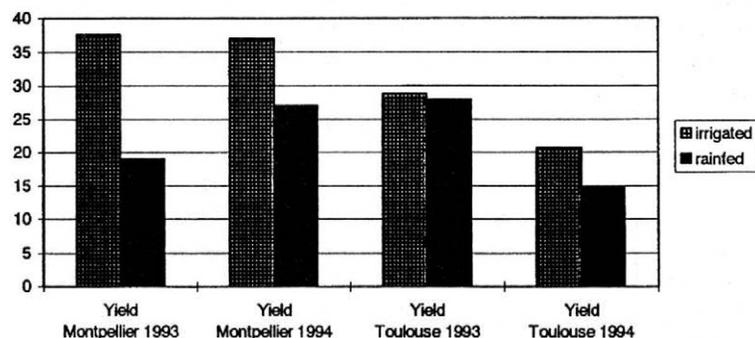
DISCUSSION AND CONCLUSION

At Montpellier, the trials were performed in different fields in 1993 and 1994. In 1993, the water capacity of soil equalled 70 mm. In 1994, it was close to 160 mm. In 1993, we just brought 20 mm water onto the dry field to provide a relevant yield. In 1994, we got 50 mm rainfall at the beginning of flowering, this induced a good yield, but was sufficient for a high oil synthesis. In this year the trials got enough water to provide a LAI of 2.8 which did not limit grain yield. In Toulouse, water availability in soil was also different between the two years. The results from rainfed and irrigated treatments have to be considered relative to location and year.

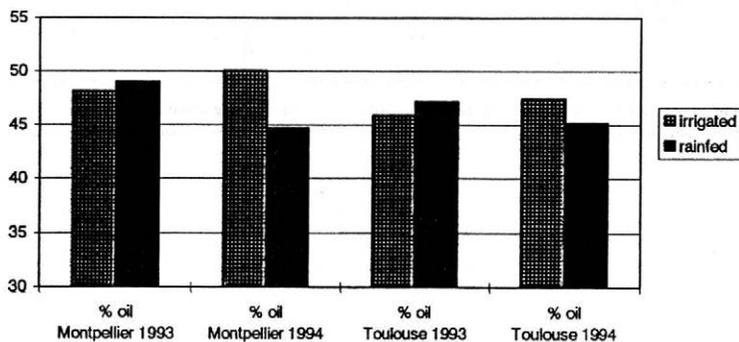
1. Means of LAI at Montpellier



2. Means of yield in the four environments



3. Means of oil content in the four environments



III. General combining abilities under rainfed conditions

Male parent	Yield (q/ha)	≠83HR4	Oil (%)	≠83HR4
83HR4	25.3	NS	46.5	NS
AA17.2.4	25.2	NS	49.2	+
Arg-rec	25.1	NS	46.9	NS
2803	24.4	NS	50.8	+
T-	24.3	NS	45.5	-
Gizzezh 91	23.85	NS	43.9	-
880	23.8	NS	48.0	+
T+	23.6	NS	44.9	-
Gizzezh 53-3	23.3	NS	44.6	-
13B	23.2	NS	52.2	+
2802	23.1	NS	51.7	-
2082	23.0	NS	50.2	+
1802	23.0	*	46.9	NS
890	22.9	NS	49.3	+
PNRM 6.5.1	22.8	*	42.5	-
1803	22.8	NS	46.5	NS
89B1	22.4	*	49.2	+
1813	22.4	*	48.1	+
2806	22.4	*	45.9	NS
89B2	22.2	*	48.4	+
3801	21.8	*	46.7	NS
2801	21.7	*	49.0	+
2804	21.5	*	50.7	+
2807	21.4	*	47.4	NS
Baccara 5	21.3	*	45.3	NS
89-1471-12	21.1	*	46.3	NS
852	21.0	*	48.7	+
1801	19.8	*	45.8	NS
Deb-Deb	19.8	*	44.0	-
91T622	18.8	*	48.0	-
3802	18.5	*	47.8	NS
91T608	18.4	*	43.3	-
Baccara 41	18.4	*	46.7	NS
Ann-nit	18.1	*	41.3	-
Ann-ano	17.3	*	44.0	-
Female parent		≠HA89 <i>P</i> < 0.05		≠HA89 <i>P</i> < 0.05
887	22.7	*	46.7	*
HA89	21.2		47.4	

* significant difference at *P* = 0.05; + higher than 83HR4 (*P* < 0.05); - lower than 83HR4 (*P* < 0.05)

IV. General combining abilities under irrigated conditions

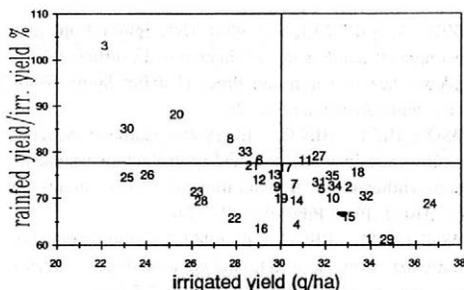
Male parent	Yield (q/ha)	≠83HR4 <i>P</i> < 0.05	Oil (%)	≠83HR4 <i>P</i> < 0.05
AA17.2.4	36.7	+	51.7	+
Baccara 5	34.8	NS	46.8	NS
852	34.3	NS	50.0	NS
Gizzezh 91	33.9	NS	45.0	-
83HR4	33.5	NS	49.1	NS
3801	33.1	NS	49.1	NS
880	32.8	NS	50.0	NS
T+	32.5	NS	46.3	-
2802	32.4	NS	52.7	+
T-	32.4	NS	46.3	-
1802	31.9	NS	48.0	NS
Arg-rec	31.8	NS	48.5	NS
Gizzezh 53-3	31.8	NS	46.0	-
2803	31.2	NS	52.1	+
2807	30.8	NS	48.7	NS
1801	30.8	NS	49.2	NS
1813	30.7	NS	49.1	NS
13B	30.3	-	53.9	+
89-1471-12	30.1	-	49.1	NS
2801	29.9	-	49.6	NS
2806	29.8	-	46.8	-
3802	29.2	-	50.4	NS
2804	29.1	-	52.9	+
1803	29.1	-	46.9	-
89B2	28.8	-	50.4	+
PNRM 6.5.1	28.5	-	43.1	-
91T608	28.0	-	46.2	-
2082	27.8	-	51.5	+
Baccra 41	26.5	-	48.9	NS
91T622	26.5	-	49.0	NS
89B1	25.4	-	50.4	+
Ann-nit	24.1	-	41.9	-
Deb-Deb	23.2	-	44.5	-
Ann-ano	23.2	-	44.8	-
890	22.2	-	51.5	+
Female parent		≠HA89 <i>P</i> < 0.05		≠HA89 <i>P</i> < 0.05
HA89	30.4		49.3	
887	29.4	*	47.9	*

* significant difference at *P* = 0.05; + higher than 83HR4 (*P* < 0.05); - lower than 83HR4 (*P* < 0.05)

V. Mean general combining ability

Male parent	Yield (q/ha)	≠83HR4 <i>P</i> < 0.05	Oil (%)	≠83HR4 <i>P</i> < 0.05
AA\7.2.4	30.9	NS	50.4	+
83HR4	29.4	NS	47.8	NS
Gizzezh 91	28.8	NS	44.4	-
Arg-rec	28.4	NS	47.7	NS
880	28.3	NS	49.0	+
T-	28.3	NS	45.9	+
T+	28.1	NS	415.6	-
2803	27.8	NS	51.4	+
2802	27.6	NS	52.1	+
Gizzezh 53-3	27.6	NS	45.3	-
Baccara 5	27.6	NS	46.1	NS
852	27.5	NS	49.3	+
3801	27.4	NS	47.9	NS
1802	27.3	*	47.4	NS
13B	26.9	*	53.1	+
1813	26.4	*	48.6	NS
2807	26.2	*	48.0	NS
2806	26.0	*	46.3	-
2801	25.8	*	49.3	+
1803	25.8	*	46.7	NS
PNRM 6.5.1	25.7	*	42.8	-
89B2	25.7	*	49.4	+
89-1471-12	25.5	*	47.7	NS
2082	25.5	*	50.9	+
1801	25.2	*	47.5	NS
2804	25.2	*	51.8	+
89B1	24.2	*	49.8	+
3802	24.0	*	49.1	+
91T608	23.2	*	44.7	-
890	22.7	*	50.4	+
91T622	22.6	*	48.5	NS
Baccara 41	22.3	*	47.8	NS
Deb-Deb	21.5	*	44.3	-
Ann-nit	21.0	*	41.6	-
Ann-ano	20.3	*	44.4	-
Female parent		≠HA89 <i>P</i> < 0.05		≠HA89 <i>P</i> < 0.05
887	26.1	NS	47.3	*
HA89	25.8		48.3	

* significant difference at *P* = 0.05; + higher than 83HR4 (*P* < 0.05); - lower than 83HR4 (*P* < 0.05)



4. Yielding ability and stability of studied germplasm

Codes of entries: 1: 852, 2: 880, 3: 890, 4: 1801, 5: 1802, 6: 1803, 7: 1813, 8: 2082, 9: 2801, 10: 2802, 11: 2803, 12: 2804, 13: 2806, 14: 2807, 15: 3081, 16: 3802, 17: 13B, 18: 83HR4, 19: 89-1471-12, 20: 89B1, 21: 89B2, 22: 91T608, 23: 91T608, 23: 91T608, 23: 91T622, 24: AA\7.2.4, 25: Ann-ano, 26: Ann-nit, 27: Arg-rec, 28: Baccara 41, 29: Baccara 5, 30: Deb-Deb, 31: Gizzezh 53-3, 32: Gizzezh 91, 33: PNRM 6.5.1, 34: T+, 35: T-

Horizontal line within figure corresponds to mean of rainfed/irrigated ratio (78.3%)

Vertical line corresponds to mean of irrigated yield (29.9 q/ha)

The most interesting germplasm for drought tolerance were

- on one hand two cultivated lines used as parents of commercial hybrids, and known to give regular yielding combinations: 83HR4 bred by INRA, and 2803 bred by Arlesa.
- on the other hand germplasm derived from *Helianthus agrophyllus* through several selection and intercross cycles: Arg-rec and its progeny AA\7.2.4. Arg-rec is particularly interesting for its yield stability. In this case, we succeeded in introducing some drought tolerance in sunflower from a wild species. Gizzezh 91 is derived from North African landraces and *H. agrophyllus*, and has to be improved for oil content. Other interspecific germplasm (from *H. debilis*, *H. anomalus*, *H. niveus*) can produce biomass, but they have a low ability to yield grain. Among this material, gene pools (Ann-nit, Deb-Deb) have to be submitted to moderate selection for productivity and oil content, and inbreds like PNRM 6.5.1 (from *H. anomalus*) can be used as donors in crosses with elite lines.

This study was performed in co-operation with the University of Giessen (Germany), University of Udine (Italy), CNRS-IBMP of Strassbourg (France) and the private companies Rustica Prograin Génétique (Blagnac, France) and Arlesa Semillas (Sevilla, Spain).

REFERENCES

AZPIROZ, H. S. - VINCOURT, P. - SERIEYS, H. (1988): Utilization of *in vitro* test as an early screening technique for drought stress evaluation in sunflower. Proc. 12th Int. Sunfl. Conf., Novi Sad (Yugoslavia): 207-213.

POUZET, A. – BUGAT, T. (1985): Description d'une méthode simple et rapide pour l'estimation de la surface foliaire par plante chez le Tournesol. Proc. 11th Int. Sunfl. Conf., Mar del Plata (Argentina): 21–26.

RAWSON, H. M. – BEGG, J. E. (1980a): Carbon production on sunflower cultivars in field and controlled environments. I. Photosynthesis and transpiration of leaves, stems and heads. Aust. J. Plant Physiol.: 555–574.

RAWSON, H. M. – BEGG, J. E. (1980b): Carbon production on sunflower cultivars in field and controlled environments. II. Leaf growth. Aust. J. Plant Physiol.: 575–586.

SERIEYS, H. (1991): Agrophysiological consequences of a divergent selection based on foliar desiccation in sunflower. Les colloques de l'INRA, 55: 211–224.

SERIEYS H. (1993): Etude du comportement de 8 espèces sauvages annuelles de Tournesol soumises à un stress hydrique. Groupe "Physiologie agronomique du tournesol", INRA-CETIOM.

Received on June 26, 1997

Contact Address:

Y. Griveau, Institut national de la recherche agronomique, Station de Génétique et d'Amélioration des Plantes, centre de Montpellier, Domaine de Melguil, F-34130 Mauguio, France

VÝSKYT ENDOFYTNÍCH HUB RODU *NEOTYPHODIUM* V SEMENECH NĚKTERÝCH DRUHŮ TRAV*

THE INCIDENCE OF ENDOPHYTIC FUNGI *NEOTYPHODIUM* IN SEEDS OF SOME GRASS SPECIES

B. Cagaš

OSEVA PRO Co. Ltd – Grassland Research Station, Rožnov-Zubří, Czech Republic

ABSTRACT: The incidence of endophytic fungi *Neotyphodium* sp. (*Acremonium*) in seed samples of 42 registered varieties of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam. var. *westerwoldicum* Wittm.), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam. var. *italicum* /A.Br./ Volkart), hybrid ryegrass (*L. multiflorum* Lam. x *L. perenne* L.), intergeneric hybrids between Italian ryegrass and tall fescue and between Italian ryegrass and meadow fescue, perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), meadow fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) was investigated. The staining method of Welty and Rennie (1985) was used. The incidence of *Neotyphodium* was highest in the varieties Barrage (34%) and Quickstart (42%) of *Lolium perenne*, in Belimo (44%) and Otava (58%) of *Festuca pratensis*, and in the varieties Barocco (16%) and Safari (25%) of tall fescue.

Neotyphodium (Acremonium); Lolium; Festuca; hybrids

ABSTRAKT: V semenných vzorcích registrovaných odrůd jílku jednoletého (*Lolium multiflorum* ssp. *westerwoldicum* Wittm.), jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum* Lam. var. *italicum* /A.Br./Volkart), jílku hybridního (*Lolium multiflorum* Lam. x *Lolium perenne* L.), meziodrůvých kříženců jílku mnohokvětého a kostřavy rákosovité (*Lolium multiflorum* Lam. x *Festuca arundinacea* Schreb.) a jílku mnohokvětého a kostřavy luční (*Lolium multiflorum* Lam. x *Festuca pratensis* Huds.), jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.), kostřavy luční (*Festuca pratensis* Huds.) a kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreb.) byl zjišťován stupeň kontaminace endofytními houbami rodu *Neotyphodium*. Mezi 42 analyzovanými odrůdami byl zjištěn výskyt *Neotyphodia* u odrůd jílku vytrvalého Barrage (34 %) a Quickstart (42 %), u odrůd kostřavy luční Belimo (44 %) a Otava (58 %), u odrůd kostřavy rákosovité Barocco (16 %), Safari (25 %) a Silverado (2 %). U ostatních odrůd nebyl výskyt této endofytní houby potvrzen.

Neotyphodium (Acremonium); jilek; kostřava; kříženci

ÚVOD

Endofytní houby rodu *Neotyphodium* (*Acremonium*) žijící v mutualistickém vztahu se svým travním hostitelem, zejména hospodářsky významnými rody *Lolium* a *Festuca*, jsou fenoménem fytopatologické pícninářské literatury posledních deseti let. S ohledem na podstatné rozšíření sortimentu registrovaných odrůd u hlavních hostitelů této houby (se zřetelem na možný dopad jejich využití v pícninářství i trávníkářství u nás) byla provedena analýza jejich výskytu.

MATERIÁL A METODY

V Seznamu odrůd zapsaných ve Státní odrůdové knize platném od roku 1996 figuruje 5 odrůd jílku mnohokvětého jednoletého, 5 odrůd jílku mnohokvětého italského, 1 odrůda jílku hybridního, 3 odrůdy me-

ziodrůvých kříženců jílku mnohokvětého a kostřavy rákosovité, 1 odrůda křížence jílku mnohokvětého a kostřavy luční, 16 odrůd jílku vytrvalého, 5 odrůd kostřavy luční a 6 odrůd kostřavy rákosovité. Od každé odrůdy získané z genové banky VST Zubří byla provedena analýza 100 semen a určen procentní výskyt této endofytní houby. Přítomnost hyf hub rodu *Neotyphodium* byla zjišťována mikroskopicky po barvení semen podle osvědčené metody autorů Welty a Rennie (1985).

VÝSLEDKY

V poměrně rozsáhlém sortimentu 42 povolených odrůd rodu jilek a kostřava včetně jejich hybridů byla zjištěna přítomnost vláken hub rodu *Neotyphodium* v semenech odrůd jílku vytrvalého Barrage (34 %) a Quickstart (42 %), kostřavy luční Belimo (44 %) a Otava (58 %) a kostřavy rákosovité Barocco (16 %) a Safari (25 %) (tab. I).

* Práce byla uskutečněna za finanční podpory Grantové agentury ČR v rámci grantového projektu č. 522/96/0032.

I. Výskyt endofytních vláken (*Neotyphodium* sp.) v sortimentu registrovaných odrůd jílku mnohokvětého jednoletého (*Lolium multiflorum* Lam. var. *westerwoldicum* Wittm.), jílku mnohokvětého italského (*Lolium multiflorum* Lam. var. *italicum* /A.Br./ Volkart), jílku hybridního (*Lolium multiflorum* Lam. x *Lolium perenne* L.), jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.), kostřavy luční (*Festuca pratensis* Huds.), kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreb.) a mezirodových hybridů – Incidence of *Neotyphodium* in the Czech assortment of registered varieties of annual ryegrass, Italian ryegrass, hybrid ryegrass, perennial ryegrass, meadow fescue and tall fescue and intergeneric hybrids

Druh ¹	Odrůda ²	Původ ³	Množství endofytů v % ⁴	Využití P/T ⁵	Ploidie ⁶
Jílek mnohokvětý jednoletý	1 Aubade	Feldsaaten Freudenberger	0	P	4n
	2 Barspectra	BARENBRUG Holland B.V.	0	P	4n
	3 Billiken	P.H. Petersen Saatzucht	0	P	4n
	4 Jivet	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
	5 Rožnovský	Agrogen Troubsko s. r. o.	0	P	2n
Jílek mnohokvětý (italský)	1 Jiskra	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	2n
	2 Lolita	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
	3 Luha	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
	4 Romul	Tagro Červený Dvůr s. r. o.	0	P	2n
	5 Tetraflorum	Feldsaaten Freudenberger	0	P	4n
Jílek hybridní	1 Odra	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
Jílek mnohokvětý x kostřava rákosovitá	1 Bečva	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	
	2 Felina	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	
	3 Hykor	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	
Jílek mnohokvětý x kostřava luční	1 Perun	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
Jílek vytrvalý	1 Ahoj	Agrogen Troubsko s. r. o.	0	T	2n
	2 Algol	Oseva UNI a. s. Choceň	0	P	2n
	3 Bača	Agrogen Troubsko s. r. o.	0	P	2n
	4 Barball	BARENBRUG Holland B.V.	0	T	2n
	5 Barclay	BARENBRUG Holland B.V.	0	T	2n
	6 Barrage	BARENBRUG Holland B.V.	34	T	2n
	7 Charger	TURF-SEED, Inc.	0	T	2n
	8 Jakub	Oseva UNI a. s. Choceň	0	T	2n
	9 Lonar	Oseva UNI a. s. Choceň	0	P	2n
	10 Metropol	Šlecht. stanice Lev. Lúky š. p.	0	P	2n
	11 Mustang	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	2n
	12 Olaf	Agrogen Troubsko s. r. o.	0	P	2n
	13 Quickstart	TURF-SEED, Inc.	42	T	2n
	14 Sport	Oseva UNI a. s. Choceň	0	T	2n
	15 Talgo	Zelder B.V.	0	T	2n
	16 Tarpan	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	4n
Kostřava luční	1 Belimo	Mommersteeg Intern. BV	44	P	
	2 Benfesta		0	P	
	3 Bundy	D.J. van der Have GmbH	0	P	
	4 Otava	Oseva UNI a. s. Choceň	58	P	
	5 Rožnovská	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	
Kostřava rákosovitá	1 Barocco	BARENBRUG Holland B.V.	16	T	
	2 Lekora	Šlecht. stanice Lev. Lúky š. p.	0	P	
	3 Kora	ŠS Hladké Životice s. r. o.	0	P	
	4 Koreta	Šlecht. stanice Lev. Lúky š. p.	0	T	
	5 Safari	TURF-SEED, Inc.	25	T	
	6 Silverado	TURF-SEED, Inc.	2	T	

Využití: P = picinářské, T = trávníkářské – Used for: P = fodder, T = lawn

¹species, ²variety, ³origin, ⁴seeds with endophytes in %, ⁵used for P/T, ⁶ploidy

DISKUSE

Přes značnou pozornost, která je v poslední době věnována vztahu endofyta a hostitele, neznáme zatím ještě všechny aspekty vzájemného soužití houby a travního hostitele. Platí to pro travní druhy využívané jak na píci, tak do trávníků.

Analýza sortimentu odrůd hlavních hostitelů hub rodu *Neotyphodium*, které jsou registrovány v České republice, přinesla několik zjištění:

- „Kontaminace“ současného sortimentu pícních odrůd jílku a jejich kříženců s košťavou luční a košťavou rákosovitou je nulová, i když výskyt endofytních hub je i u krátkodobých jílků (jílek jednoletý a jílek mnohokvětý) potvrzen (L a t c h et al., 1988; Nelson, Read, 1990).
- V souboru 16 registrovaných odrůd jílku vytrvalého byla zjištěna přítomnost hub rodu *Neotyphodium* u odrůd Barrage a Quickstart, které jsou určeny pro trávnickářské využití. S ohledem na proklamované lepší vlastnosti endofyty kontaminovaných rostlin lze předpokládat, že vysoký podíl rostlin s endofyty v populaci byl dosažen záměrně v průběhu šlechtění, jak o tom svědčí práce jednoho z autorských pracovníků uvedených odrůd (Bouter, Klooster, 1966).
- U košťavy rákosovité lze obdobně předpokládat, že trávnickové odrůdy Barocco a Safari, kde množství semen s endofyty kolísalo od 16 do 25 %, byly infikovány záměrně (buď uměle, nebo s využitím ekotypů s výskytem hub rodu *Neotyphodium*).
- Poměrně překvapující je dosti vysoký obsah hub rodu *Neotyphodium* u košťavy luční odrůdy Belimo, kontaminace naší odrůdy Otava je známou skutečností.
- Na základě výskytu *hyf* v semenech lze poměrně přesně usoudit na výskyt endofytů v rostlině, mikroskopickou metodu však nelze jednoznačně označit

za nejspolehlivější (Reddick et al., 1988) a výsledky se mohou tam, kde výskyt hub rodu *Neotyphodium* není vysoký, mírně lišit, což ostatně dokazují i Bumerl a Černá (1980).

- U pícních odrůd s výskytem endofytů nebylo zjišťováno složení alkaloidů produkovaných houbou rodu *Neotyphodium*.

Otázka významu endofytů u nás je stále aktuální a bude vyžadovat cílený postup a úzkou spolupráci mezi výzkumem a šlechtěním, neboť zaostávat i na tomto úseku by bylo pro celé trávinařství vážnou chybou.

LITERATURA

- BOUTER, W. – KLOOSTER, G. VAN (1996): Practical endophyte-work at the Barenbrug Grass Breeding Department. In: 2nd Int. Conf. Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pasture and Turf, 19 (7): 55–58.
- BUMERL, J. – ČERNÁ, O. (1989): Ověření metodiky studia endofytní houby *Acremonium* a výsledky dosažené na ŠS Větrov. In: Sbor. Ref. odbor. Školení „Zdravotně závadné alkaloidy v pícních travách, jejich vztah k výskytu endofytních hub *Acremonium* sp. a metody jejich stanovení“. Větrov, 23. 2. 1989, 3: 24–34.
- LATCH, G. C. M. – CHRISTENSEN, M. S. – HICKSON, R. E. (1988): Endophytes of annual and hybrid ryegrasses. N. Z. J. Agric. Res., 31: 57–63.
- NELSON, C. R. – READ, V. C. (1990): Fungal endophyte infection in italian annual ryegrass. Plant Dis., 74: 183.
- REDDICK, B. B. – COLLINS, M. H. (1989): An improved method for detection of *Acremonium coenophialum* in tall fescue plant. Phytopathology, 78: 418–420.
- WELTY, R. E. – RENNIE, W. J. (1985): Grasses endophyte. *Graminae, Acremonium coenophialum*. ISTA Handbook on Seed Health Testing. Working Sheet No 55.

Došlo 8. 10. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Bohumír Cagaš, CSc., OSEVA PRO s. r. o., Výzkumná stanice trávinařská, 756 54 Zubří, Česká republika, tel.: + 420 651 65 81 95, fax: + 420 651 65 81 97

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

Ze VII. semináře šlechtitelů (Brno, 3. 2. 1998)

Seminář se zaměřením na témata spojená se šlechtěním obilnin byl uspořádán na Mendelově zemědělské a lesnické univerzitě v Brně.

Význam zasedání byl zdůrazněn účastí prof. Dr. E. Øyjorda z Univerzity v Aas (Norsko) a jeho vyznamenáním medailí MZLU. Prof. Dr. Ing. Jan Rod rozhodl přinést základního vynálezu prof. Øyjorda – principu bezzbytkového secího stroje – i jeho dalších výsledků a aktivit v polní pokusnické mechanizaci. Prof. Øyjord rovněž promítl snímky svých prvních prototypů pokusnických secích strojů „Øyjord“. Zajímavé bylo zjištění, že jedny z prvních „Øyjordů“ byly dodány v letech 1970 až 1972 do Československa – na šlechtitelské stanice Osevy a do výzkumných ústavů. Revoluční vynález prof. Øyjorda znamenal neobyčejný pokrok ve šlechtění a polním pokusnictví, neboť nejen zpřesnil polní pokusy, ale spolu s vynálezem parcelního kombajnu (Dr. H. Hege) umožnil několikanásobný nárůst rozsahu šlechtitelských školek.

Hlavní přednášku o výzkumu a šlechtění pšenice na odolnost k fuzariózám klasu přednesl prof. Dr. Peter Ruckebauer z Universitát für Bodenkultur ve Vídni. Zdůraznil nebezpečí fuzarióz z hlediska zdravotního, protože vyšší výskyt znehodnocuje produkci zrna tvorbou toxinů, zejména deoxynivalenolu (neboli vomitoxinu). Kromě výsledků polních pokusů s uměle infikovanými rostlinami uvedl i kladné výsledky laboratorních testů stupně klíčivosti zkoušených odrůd na médiích s obsa-

hem deoxynivalenolu. Rozdíly odolnosti k toxinům při klíčení měly příznivou korelaci k polnímu hodnocení stupně odolnosti odrůd k fuzarióze klasu. Výsledky genetické analýzy byly založeny na studiu monosomických a substitučních sérií odrůdy Hobbit. Geny rezistence k fuzariózám klasu byly zjištěny na chromozomech 4A, 5A a 6B.

Na tuto přednášku navazovaly informace o rozsáhlém výzkumu chorob obilnin ve VÚRV v Praze-Ruzyni a ZVÚ v Kroměříži (Ing. Šíp, Dr. Tvarůžek, Ing. Minaříková).

RNDr. J. Ovesná uvedla současnou perspektivu DNA markerů, zejména pomocí AFLP metody (amplifikovaný délkový polymorfismus DNA).

Pro šlechtitele ječmene byly zajímavé přednášky o šlechtění nesladovnických ječmenů (Ing. Vaculová, doc. Ehrenbergová) a o vitalitě obilek ječmene (prof. Chloupek). Z přehledu současného stavu šlechtění hybridní pšenice (Ing. Nesvadba) vyplynulo, že přes značné úsilí některých velkých firem mají hybridní odrůdy pšenice poměrně malé zastoupení (kupř. ve Francii 5 % ploch). Další šlechtění hybridních odrůd by měl usnadnit nový gametocid Genesis od firmy Monsanto.

Přehled historického vývoje šlechtění pšenice v ČR uvedl doc. Ing. J. Bouma, autor světově proslulé odrůdy ječmene Diamant a jiných odrůd ječmene i pšenice, a historii ječmene prof. Ing. J. Lekeš.

Ing. Alena Hanišová

HODNOCENÍ REZISTENCE K VIRU SVINUTKY BRAMBOR (PLRV) U VYBRANÝCH KLONŮ BRAMBOR

EVALUATION OF RESISTANCE TO POTATO LEAF-ROLL VIRUS (PLRV) IN SELECTED POTATO CLONES

P. Petr

Potato Research Institute Havlíčkův Brod, Ltd, Havlíčkův Brod, Czech Republic

ABSTRACT: During the years 1993–1996, there were tested tetraploid potato clones, with presupposed resistance to leaf-roll virus, which came from hybridization in 1990 and 1991, aimed at group resistance to potato virus diseases. Both relative resistance of given genotypes and contingent extreme intolerance were investigated. Although both types of resistance were estimated separately, we can agree to conclusions drawn by Debréová (1985) and by Zadína (1974) concerning the advantage of contingent combination of extreme intolerance with relative resistance. Provocation tests were done by the method of tuber grafting. Evaluation was made first visually on three tufts of each clone and then after transplanting by ELISA test. Susceptible clones were continually excluded from the tests. As the very perspective presented clones 90.34/3 (SSSR 24/6ž x 85.53/280) and 90.144/4 (KE 74 x D 274/20) – Table III. In these clones, no presence of leaf-roll virus was found at any case. In addition, clone 90.34/3 has a number of good characteristics as resistance to PVY, PVA and PVX, which can be used for future breeding work. Universal conclusions could not be deduced about resistance transfer offspring from the analysis of used parental material. The results indicate that higher percentage of clones with relative resistance to PLRV can be expected with the use of parent 87.336 which originates from Sante x A 61/2 crossing – Table IV. After 1990s hybridization all clones with extreme resistance were gained with the use of Dita variety.

potatoes; breeding; resistance; leaf-roll virus; extreme intolerance

ABSTRAKT: Během let 1993–1996 byly testovány tetraploidní klony brambor s předpokládanou rezistencí vůči viru svinutky, které pocházejí z hybridizace let 1990 a 1991 a jsou zaměřeny na skupinovou rezistenci vůči virovým chorobám brambor. Byla sledována jak relativní rezistence daných genotypů, tak případná extrémní intolerance. Provokační zkoušky byly prováděny metodou roubování hlíz. Hodnocení bylo prováděno nejprve vizuálně na třech trsech od každého klonu a potom po přesadbě testem ELISA. Náchylné klony byly průběžně vylučovány ze zkoušek. Jako velice perspektivní se projeví klony 90.34/3 (SSSR 24/6ž x 85.53/280) a 90.144/4 (KE 74 x D 274/20), u nichž nebyla ani v jednom případě zjištěna přítomnost viru svinutky. Z analýzy použitého rodičovského materiálu nebylo možné vyvodit jednoznačné závěry o předávání rezistence na potomstvo. Výsledky však indikují, že vyšší procento klonů s relativní rezistencí k PLRV lze očekávat po použití rodiče 87.336 pocházejícího z křížení Sante x A 61/2. Po hybridizaci v roce 1990 byly všechny klony s extrémní intolerancí získány po použití rodičovské odrůdy Dita.

brambory; šlechtění; rezistence; virus svinutky; extrémní intolerance

ÚVOD

Virus svinutky brambor (PLRV) je vážným problémem při šlechtění brambor na skupinovou rezistenci vůči virovým chorobám.

PLRV je přenosný mšicemi a roubováním. Mšice *Myzus persicae* je nejúčinnějším vektorem viru svinutky bramboru, ale i některé klony *Macrosiphum euphorbiae* přenášejí PLRV účinně na testovací rostliny brambor (Woodford, 1992). *Macrosiphum euphorbiae*, sebrané na poli z rostlin brambor infikovaných virem svinutky bramboru (PLRV), přenášejí v polních pokusech virus na méně rostlin než v laboratoři chované mšice *Myzus persicae* (Woodford et al., 1995). Nej-

důležitějším přenašečem je tedy mšice broskvoňová (*Myzus persicae* Sulz.). PLRV je virus perzistentní. Vedle brambor je hostitelskou rostlinou PLRV mochnýň (*Physalis floridananae* Rybd., *P. angulata* L.), durman (*Datura stramonium* L., *D. tatula* L.), lilek černý (*Solanum nigrum* L.) a některé další (Rybáček, 1988).

Ve šlechtění brambor na rezistenci proti tomuto viru byla dlouho známa pouze relativní (polygenní) rezistence. Šlechtění na této bázi je velice složité. Efektivní se stává jen při systematické práci zaměřené na akumulaci genů (minor genů) této rezistence (Zadína, Jermoljev, 1976).

Ve snaze zefektivnit šlechtění brambor na rezistenci vůči viru svinutky se hledají zdroje jiných typů odol-

nosti, jaké jsou k dispozici ve šlechtění na rezistenci proti jiným druhům virů na bramborách – imunita a přecitlivělost. Rezistentní šlechtění na bázi imunity a přecitlivělosti je méně náročné, protože tyto typy rezistence jsou podmíněny monogenně, dominantními geny (major geny) děděnými tetrasomicky (Zadina, Novák, 1983).

K získání odolnosti brambor proti viru svinutky se tedy využívá relativní rezistence a extrémní intolerance (Lebeda et al., 1988).

Za hlavní kritérium zjišťování relativní rezistence považujeme tzv. vytrvalostní pokusy na odolnost, které jsou prosázeny infekčním materiálem (Debréová, 1985).

Nejrozšířenější je šlechtění na polygenně založenou relativní rezistenci odvozenou z různých zdrojů, například *S. demissum*, *S. acaule*, *S. andigena* (Ross, 1985). Perspektivních výsledků bylo dosaženo i kombinací *S. andigena* x *S. stenotomum* x *S. pampasense* (Krasavín, 1989). Jako rezistentní zdroje jsou uváděny také *S. brevidens*, *S. chacoense*, *S. chancayense*, *S. huarochariense*, *S. huancabambense*, *S. sparsipilum* a *S. megistacrolobum*. Mezi zdroje uváděné dokonce jako imunní vůči PLRV patří *S. acaule*, *S. abancayense*, *S. candolleianum*, *S. lignicaule* a *S. tundalomense* (Ochoa, Schmiediche, 1987).

Extrémní intolerance ke svinutce se projevuje nevzháživostí hlíz, resp. niřovitostí klíčků hlíz sklizených z rostlin napadených v průběhu vegetace virem svinutky. Tento jev označujeme jako autoselekcí neboli samočištění, a tak negativní výběry rostlin napadených virem svinutky v sadbových oblastech téměř odpadají. Extrémní intolerance ke svinutce je podmíněna monogenně, dominantním genem *N1* děděným tetrasomicky (Ross, 1985).

Při šlechtění na odolnost vůči viru svinutky je důležitá vzájemná hybridizace genotypů vykazujících relativní rezistenci s genotypy vykazujícími extrémní intoleranci. Relativní rezistence zajišťuje nízký výskyt infekce, extrémní intolerance autoselekcí potomstva z infikovaných rostlin. Při jednostranném využívání extrémní intolerance by mohlo docházet k velké mezerovitosti porostů po letech s vyšším výskytem svinutky a tím i k výraznému snížení výnosu z takovýchto porostů (Zadina, 1987).

Šíření PLRV v odolných rostlinách je podstatně omezeno z těchto tří hlavních důvodů: větší rezistence vůči infekci; omezení systematického šíření viru; rostliny s nižší koncentrací viru jsou horšími zdroji inokula (Barker, 1987). Pronikání viru a celkové zvýšení rezistence mohou také ovlivňovat klimatické podmínky (Goliszewski, 1988). Pokusy ukázaly, že nejsilnější vliv na napadení virem má oblast (zóna infekčního tlaku), rezistence odrůd a vlastní postupy (Turška et al., 1992).

Cílem této práce bylo na základě hodnocení vedeného sortimentu tetraploidních klonů šlechtěných na skupinovou rezistenci vůči virům vybrat nejlepší materiály s ohledem na rezistenci vůči PLRV.

MATERIÁL A METODY

Do hodnocení, které probíhalo ve výzkumné stanici VÚB ve Valečově, byly zařazeny klony na tetraploidní úrovni, pocházející z hybridizace zaměřené na získání kombinované rezistence k virům, u nichž alespoň jeden z rodičovských partnerů vykazoval buď vysokou relativní rezistenci vůči svinutce, nebo extrémní intoleranci. Provozační zkoušky byly prováděny metodou roubování hlíz.

Ke zjišťování odolnosti zkoušených klonů proti viru svinutky bylo využíváno roubování hlíz: z hlíz zkoušeného genotypu byl vyjmut váleček a na jeho místo byl vložen zdroj infekce svinutky. Při roubování je třeba dbát na to, aby délka rouby a otvoru si navzájem odpovídaly. Aby bylo dosaženo lepších výsledků, roubování se provádí pod vodou. Okraje řezných ran se vždy zaparafinují. Infekční roub musí být prostý oček, očka zůstávají pouze na zkoušené podnoží daného klonu. Jako zdroj infekce byla využívána odrůda Jizera napadená svinutkou a přezkušovaná ELISA testem. Naroubované hlízy byly vysázeny na pole vždy tři hlízy od každého zkoušeného genotypu. Během vegetace byla sledována vzháživost a zdravotní stav roubovanců. V případě nasazení hlíz bylo provedeno ještě následné hodnocení po přesadbě testem ELISA na přítomnost viru svinutky. Bonitace byla prováděna podle upravené stupnice (tab. I).

Tato stupnice vychází z hodnocení, které prováděl v minulosti Zadina (1974), a je upravena pro potře-

I. Stupnice hodnocení roubovanců hlíz testovaných na rezistenci ke svinutce po jejich výsadbě v roce roubování – Evaluation scale of tuber grafts tested for resistance to leaf-roll after their planting in the year of grafting

Bonitační stupeň hodnocení (označení) Degree of evaluation scale	Charakteristika stavu rostlin roubovanců	Characterization of graft plants state
II	roubovanci vůbec nevyklíčí, nebo vytvářejí rostliny vysoké 5–10 cm s příznaky metlovitosti a antokyanizovanými listy (projev extrémní intolerance) (obr. 1)	grafts do not germinate at all or they produce 5–10 cm high plants with potato witches' broom symptoms and antocyanised leaves (expression of extreme intolerance) (Fig. 1)
L	roubovanci tvoří rostliny normální výšky s projevem svinutky (obr. 2)	grafts produce normal high plants with symptoms of leaf-roll disease (Fig. 2)
Z	roubovanci vytvoří rostliny normální výšky bez příznaků svinutky (obr. 3)	grafts produce normal high plants without leaf-roll symptoms (Fig. 3)



1. Roubovanec do 10 cm výšky s příznaky metlovitosti a antokyanozovanými listy – projev extrémní intolerance (bonitační stupeň IL) – Stocking plant till 10 cm of height with symptoms of witches-broom and anthocyanised leaves – the expression of extreme intolerance (degree of evaluation scale IL)



2. Roubovanec normální výšky s projevem svinutky (bonitační stupeň L) – Stocking plant of normal height with symptoms of PLRV (degree of evaluation scale L)



3. Roubovanec normální výšky bez jakéhokoliv příznaku svinutky (bonitační stupeň Z) – Stocking plant of normal height without any symptoms of PLRV (degree of evaluation scale Z)

II. Původ výchozího materiálu použitého při křížení na získání rezistence vůči svinutce – Parentage of original material used at hybridization for resistance to leaf-roll virus

Progenitor ¹	Původ ²
73.59/227	Apta x Schwalbe
85.53/280	Rema x SSSR 20
85.53/308	Rema x SSSR 20
85.56/100	SSSR 20 x Lajana
80.38/267	Galina x USA 5
80.34/357	Apta x USA 3
80.28/420	Apta x USA 1
87.336/36	Sante x A 61/2
80.336/9	Sante x A 61/2
80.336/74	Sante x A 61/2
80.336/41	Sante x A 61/2
86.126/17	E 399/106 x SSSR 5
87.274/22	MR 5 x Klára
87.335/2	Barbara x Rema
86.104/51	KE 33 x SSSR 1
86.102/35	SSSR 1 x KE 33
86.171/6	66.53/67 x Ausonia
85.90/3	Hertha x Gourlayi

¹progenitor, ²pedigree

by současného hodnocení rezistence k viru svinutky s ohledem na získávání kombinované odolnosti k virózám. Spojením stupňů X, 5, 4 a 3 byl vytvořen bonitační stupeň IL. Stupeň L pak vznikl sloučením stupňů 2 a 1. Bonitační stupeň Z zůstal beze změny.

Primární příznaky byly patrné především na mladých listcích, které jsou většinou vzpřímenější, stáčeji se podle hlavní žilky, mají světlejší barvu (chloróza) a u některých klonů od okraje červenají.

Sekundární příznaky u vysázených infikovaných hlíz jsou typické. Projevují se inhibicí růstu, zkracováním internodií, kornoutovitým stáčením hlavně spodních listů a chlorózou. Trs má většinou metlovitý vzhled. Častým jevem na hlízách je tzv. nitkovitost klíčků.

Vedle vizuálního hodnocení se využíval spolehlivý test ELISA. Zkoušené klony byly zařazeny do čtyřletého sledování s tím, že náchylný materiál byl postupně z testování vylučován. Do posledního roku zkoušení se tudíž dostaly pouze materiály vykazující vysokou relativní rezistenci vůči svinutce, případně klony s extrémní intolerancí.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výchozí materiál (pocházející především ze sortimentu VÚB) použitý při hybridizaci na získání genotypů se skupinovou rezistencí vůči virům včetně svinutky, u něhož je znám původ, uvádí tab. II.

Tab. III a IV ukazují, s jakými výsledky byly jednotlivé šlechtitelské klony s předpokládanou rezistencí

III. Výsledky hodnocení roubovanců nakřížených v roce 1990 – Evaluation results of grafts crossed up in 1990

Genotyp ¹	Původ ²	1993		1994		1995		1996		Výsledné hodnocení ⁵
		bonitace ³	ELISA ⁴	bonitace	ELISA	bonitace	ELISA	bonitace	ELISA	
90.14/8	73.59/227 x NDR 71.696	L, L, L	0							nách.
90.15/7	SSSR 49(85)-3 x 85.53/280	L, Z, Z	+							nách.
90.19/9	Judica x 85.53/280	L, L, Z	0							nách.
90.19/12		L, L, L	0							nách.
90.24/9	85.56/100 x Dita	IL, Z, IL	-	Z, IL, IL	nevz.	IL, Z, Z	-	IL, IL, IL	nevz.	IL
90.24/10		IL, Z, IL	-	IL, Z, IL	nevz.					IL
90.27/5	85.53/308 x KE 74	L, L, IL	0							nách.
90.28/8	85.53/280 x Nora	L, L, L	0							nách.
90.29/2	85.53/280 x Judica	L, L, Z	0							nách.
90.34/3	SSSR 24/6ž x 85.53/280	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
90.45/1	80.38/267 x Judica	Z, Z, IL	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
90.50/6	80.34/357 x Lyra	Z, Z, Z	-	Z, IL, IL	-	Z, Z, Z	-	Z, L, L	+	RRL
90.53/5	SSSR 105-3 x 80.28/420	L, Z, L	0							nách.
90.61/7	Expova x 80.28/420	L, IL, L	0							nách.
90.61/28		L, L, L	0							nách.
90.67/7	Utte x KE 518/24	L, L, L	0							nách.
90.72/2	Utte x L6 9663	L, L, L	0							nách.
90.77/2	Sante x Dita	IL, IL, IL	nevz.							IL
90.78/6	Sante x Nora	L, L, L	0							nách.
90.78/16		L, L, Z	0							nách.
90.88/1	Benol x Dita	L, L, IL	0							nách.
90.92/4	Judica x Darwina	L, L, L	0							nách.
90.97/2	Desireé x Nora	L, L, L	0							nách.
90.102/4	Nicola x Nora	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, L, L	+	RRL
90.102/11		L, L, L	0							nách.
90.109/1	Nora x Desireé	L, L, L	0							nách.
90.131/16	Nora x D 274/20	L, L, L	0							nách.
90.132/4	Ronea x Dita	L, Z, L	0							nách.
90.132/11		IL, IL, IL	nevz.							IL
90.133/1	Dita x Judica	L, IL, L	0							nách.
90.137/7	Katja x KE 74	L, Z, L	0							nách.
90.140/9	Borka x KE 74	Z, Z, Z	-	Z, L, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
90.142/5	Judica x Dita	L, IL, L	0							nách.
90.144/4	KE 74 x D 274/20	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
90.160/2	Judica x Dita	Z, L, L	0							nách.
90.160/14		L, L, L	0							nách.
90.161/2	Judica x Nora	L, L, Z	0							nách.
90.164/6	Desireé x Dita	L, L, IL	0							nách.
90.166/11	Olga x Dita	Z, L, L	0							nách.
90.171/2	Dita x Sira	Z, L, L	0							nách.
90.175/4	Lada x Judica	L, L, Z	0							nách.
90.175/8		L, L, L	0							nách.
90.177/1	Asva x Judica	Z, L, L	0							nách.

Vysvětlivky k tab. III a IV – Explanation for Tables III and IV:

L = napadeno svinutkou – infected with leaf-roll virus

IL = extrémní intolerance – extreme intolerance

Z = nenapadeno svinutkou – not infected with leaf-roll virus

+ = pozitivní ELISA test – positive ELISA

RRL = klon s relativní rezistencí – clone with relative resistance

¹genotype, ²origin, ³evaluation, ⁴ELISA test, ⁵final evaluation

0 = nehodnoceno – not evaluated

nevz. = nevzešel – not emerged

nách. = klon náchylný k PLRV – clone susceptible to PLRV

- = negativní test ELISA – negative ELISA

IV. Výsledky hodnocení roubovanců nakřížených v roce 1991 – Evaluation results of grafts crossed up in 1991

Genotyp ¹	Původ ²	1993		1994		1995		1996		Výsledné hodnocení ⁵
		bonitace ³	ELISA ⁴	bonitace	ELISA	bonitace	ELISA	bonitace	ELISA	
91.308/8	Sante x 87.336/36	L, L, IL	0							nách.
91.322/1	86.126/17 x 87.336/36	Z, IL	nezv.							IL
91.322/4		L, L	0							nách.
91.322/6		IL, Z	-			Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
91.322/7		Z, Z	-			Z, Z, Z	-	Z, Z	-	RRL
91.323/7	86.126/17 x 87.336/9	Z, L, L	0							nách.
91.323/11		Z, Z	nezv.	L, Z, Z	nezv.	Z, Z, Z	-	L, L, L		RRL
91.323/19		Z, Z	nezv.	Z, L, Z	nezv.	Z, Z, Z	+	Z, Z, Z	-	RRL
91.323/22		L, L	0							nách.
91.323/26		IL, L	0							nách.
91.324/2	87.274/22 x Lipsi	IL, IL	nezv.							IL
91.326/3	87.336/74 x 87.274/22	L, L, Z	0							nách.
91.328/3	87.336/41 x V-2	L, L	0							nách.
91.330/1	87.336/41 x 87.274/22	Z, Z, Z	-	L, Z, Z	+	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
91.335/11	SSSR 24/6Ž x BL 1-10	L, L	0							nách.
91.335/14		L, L	0							nách.
91.335/15		L, L, L	0							nách.
91.335/20		L, L, Z	0							nách.
91.337/2	87.335/2 x 86.104/51	IL, IL	nezv.							IL
91.339/2	87.336/9 x Lipsi	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	+	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
91.339/3		L, L, IL	0							nách.
91.339/4		L, L	0							nách.
91.339/5		IL, L	0							nách.
91.339/6		Z, Z	-	Z, IL, IL	nezv.					IL
91.339/7		L, L	0							nách.
91.342/2	86.104/51 x 87.336/41	L, L, L	0							nách.
91.342/3		L, L, Z	0							nách.
91.343/3	86.104/51 x 87.336/9	Z, Z	-	Z, Z, Z	+	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	+	RRL
91.343/10		IL, IL	nezv.							IL
91.345/5	Nora x 86.102/35	Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	L, L, L	+	RRL
91.346/1	Eroica x 86.102/35	L, L	0							nách.
91.347/6	Lipsi x 86.102/35	L, L	0							nách.
91.347/13		L, L	0							nách.
91.354/11	8590 x 86.102/35	IL, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	Z, Z, Z	-	RRL
91.358/7	Serrana x V-2	L, L	0							nách.
91.377/2	86.171/6 x V-2	IL, IL	nezv.							IL
91.391/6	SSSR 24/6Ž-samoopylení	IL	nezv.	Z, Z, Z	+	Z, Z, Z	+	Z, Z, Z	-	RRL
91.436/2	85.90/3 x 86.104/51	Z	nezv.	L, L, L	0					nách.
91.436/3		L, L	0							nách.
91.442/1	87.336/36 x 86.104/51	L, L	0							nách.

Vysvětlivky jsou u tab. III – For explanation see Table III

vůči viru svinutky hodnoceny. Z tabulek je zřejmé, o jaké klony se jednalo, jaký je jejich původ, jaké bylo jejich vizuální hodnocení v jednotlivých letech (1993 až 1996) a výsledek ELISA testu po přesadbě.

Z celkového počtu 43 hodnocených klonů pocházejících z křížení roku 1990 je 33 náchylných k viru svinutky, 4 klony vykazují extrémní intoleranci a 6 klonů

relativní rezistenci. Není bez zajímavosti, že všechny 4 klony vykazující extrémní intoleranci mají původ v odrůdě Dita. Klony s relativní rezistencí mají různé rodičovské partnery, tudíž nelze usuzovat na vhodnost některé konkrétní odrůdy či křížence k tvorbě klonů vykazujících relativní rezistenci (tab. III).

Klonů pocházejících z křížení roku 1991 bylo hodnoceno celkem 40 (tab. IV). Náchylných k viru svinutky bylo 24 klonů. Extrémně intolerantních bylo šest kříženců a relativní rezistenci vykazovalo 10 klonů, z nichž sedm má v rodičovském původu některý klon pocházející z hybridu 87.336, jehož původ je Sante x A 61/2.

Ze zjištěných údajů vyplývá, že kříženci získaní za účelem odolnosti vůči PLRV v roce 1990 byli ze 77 % náchylní, 9 % bylo extrémně intolerantních a 14 % klonů vykazovalo relativní rezistenci. Kříženci získaní v roce 1991 měli proti klonům z roku 1990 relativně vyšší odolnost, neboť náchylných bylo 60 %, extrémně intolerantních 15 % a relativní rezistenci vykazovalo 25 % zkoušených klonů.

Poznatky získané při řešení této problematiky ukazují na nevhodnost jednostranného využití extrémní intolerance, při němž dochází k velké mezerovitosti porostů. Perspektivní bude využívání kombinace extrémní intolerance a relativní rezistence, jak uvádějí Debréová (1985) a Zadina (1974).

Na základě výsledků lze jako perspektivního doporučit hybridu 90.34/3 (SSSR 24/6ž x 85.53/280), který ani v jednom případě během čtyřletého sledování nevykázal přítomnost viru svinutky jak při vizuálním hodnocení, tak i při hodnocení testem ELISA po přesadbě. Tohoto křížence lze doporučit do další šlechtitelské práce, jelikož kromě vysoké rezistence vůči svinutce vykazuje i další kvalitní vlastnosti, jako je odolnost vůči PVY, PVA a vysoká odolnost vůči PVX. Z dalších pozitivních vlastností lze jmenovat vysokou vyrovnanost hlíz, mělká očka, vyšší tvorbu bobulí a dobrou fertilitu, čehož může šlechtitel dobře využít při další hybridizaci. Daný genotyp je v současné době veden v sortimentu VÚB, oddělení genetiky a šlechtění, a předpokládá se jeho zařazení do genobanky ústavu, ve které bude k dispozici případným zájemcům. Hlíza tohoto křížence má oválný tvar, červenou slupku, téměř bílou dužninu, kvete fialově a obsah škrobu se pohybuje okolo 15 %.

Podobně vysoké odolnosti vůči svinutce bylo dosaženo i u hybridu 90.144/4 (KE 74 x D 274/20), ale pro špatné ostatní vlastnosti byl ze sortimentu VÚB vyloučen.

LITERATURA

- BARKER, H. (1987): Multiple components of the resistance of potatoes to potato leafroll virus. *Ann. Appl. Biol.*, 111: 641–648.
- DEBRÉOVÁ, K. (1985): Vyhledávání výchozích materiálů s rezistencí proti svinutce. [Závěrečná zpráva.] Havlíčkův Brod, Oseva-VŠÚB: 59–77.
- GOLISZEWSKI, W. (1988): The increase in age-dependent resistance to PLRV in two potato cultivars under field conditions. In: *Zeszyty problemowe postepow nauk rolniczych*, zs. 362. Choroby wirusowe rostlin. Warszawa, PWN: 61–71.
- KRASAVIN, V. F. (1989): Otbor ischodnogo materiala kartofelja na ustojčivost k virusnomu skručivaniju listjev. *Vest. Sel.-choz. Nauki Kazachstana*, č. 7: 42–43.
- LEBEDA, A. – BARTOŠ, P. – JENDRULEK, T. (1988): Šlechtění rostlin na odolnost k chorobám. *Sbor. SAZ, Praha*: 214 s.
- OCHOA, C. – SCHMIEDICHE, P. (1987): Status of the collection at CIP: Wild species. In: 9th Plant Conf., Lima, CIP: 19–26.
- ROSS, H. (1985): Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.). In: HOFFMANN, E. – MUDRA, A. – PLARRE, W. (Eds): *Lehrbuch der Zuchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen II*. Berlin–Hamburg, Paul Parey: 211–245.
- RYBÁČEK, V. a kol. (1988): *Brambory*. Praha, SZN: 182.
- TURSKA, E. – GOLISZEWSKI, W. – SZULC, J. – WOZNICA, W. (1992): Efekt zabiegów zwalczania mszyc w ograniczaniu porażenia wirusem lisciozwoju (PLRV) odmian ziemniaka o zroznicowanej odpornosci na ten wirus. In: *Ziemiak 1989/91*. Bonin, IZ: 53–65.
- WOODFORD, J. A. T. (1992): Virus transmission by aphids in potato crops. *Neth. J. Pl. Path.*, (Suppl. 2): 47–54.
- WOODFORD, J. A. T. – JOLLY, C. A. – AVEYARD, C. S. (1995): Biological factors influencing the transmissions of potato leafroll virus by different aphid species. *Potato Res.*, 38: 133–141.
- ZADINA, J. (1974): Intolerance brambor k viru svinutky bramboru a možnosti jejího šlechtitelského využití. *Ochr. Rostl.*, 10: 7–10.
- ZADINA J. (1987): Rezistence brambor proti viru svinutky – výsledky výzkumu, jejich realizace ve šlechtění a perspektiva. *Věst. ČAZ*, č. 10: 598–600.
- ZADINA, J. – JERMOLJEV, E. (1976): Šlechtění bramboru. Praha, Academia: 194–196.
- ZADINA, J. – NOVÁK, F. (1983): Dědičnost extrémní intolerance brambor k viru svinutky (PLRV). *Genet. a Šlecht.*, 19: 189–194.

Došlo 21. 7. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Petr, Výzkumný ústav bramborařský, Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod, Česká republika, tel.: + 0420 45 13 23, fax: + 0420 45 12 15 78

ŠKODLIVOST VIRU ŽLUTÉ ZAKRSLOSTI JEČMENE NA JEČMENI OZIMÉM INFIKOVANÉM V RANÉ RŮSTOVÉ FÁZI*

BARLEY YELLOW DWARF VIRUS HARMFULNESS ON WINTER BARLEY CROPS INFECTED AT AN EARLY GROWTH STAGE

J. Vacke, V. Šíp, M. Škorpič

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

ABSTRACT: The harmfulness of barley yellow dwarf virus (BYDV) on winter barley crops was studied in 2- to 3-year small-plot field trials. Plants of registered winter barley varieties included in the trials were infected at the tillering stage with the PAV strain of the virus using *Rhopalosiphum padi* L. aphids originating from greenhouse rearing. The results obtained have shown that Kamil, Kromir, Kromoz, Marinka, Marna and Monako (SH 9) were the most severely affected winter barley varieties by the virus infection. Infected plants of these varieties failed to head either completely or partially, and failed to produce any grain yield. Infected plants of Borwina, Lunet, Luxor and Okal headed, but their grain yields were reduced by 96.4 to 99.4%; thus they were also classified, similarly as the above mentioned group of varieties, to the category of very susceptible varieties. The grain yield of the variety Kompolti 4 which can be classified as mildly susceptible (SH 6.8) was reduced by 61.2%. Mild resistance was recorded only with the variety Sibra (SH 5), the grain yield of which was reduced by 46.7%.

winter barley; barley yellow dwarf virus; symptomatical response; harmfulness

ÚVOD

Virus žluté zakrslosti ječmene (barley yellow dwarf virus – BYDV) patří mezi významné škodlivé činitele na ječmeni ozimém. Vyvolává na něm silnou symptomatickou reakci a velké ztráty na výnosu zrna i slámy. Touto problematikou se v zahraničí zabývala řada autorů. Tak např. Grafton et al. (1982) ve svých pokusech zaznamenali u náchylných odrůd 71,3–95,6% pokles výnosu zrna vlivem virové infekce. Doodson a Saunders (1970) referovali o 31,3–95,7% a Pocsai et al. (1983) o 50% ztrátách na výnosu zrna.

Vzhledem k tomu, že nebyla známa reakce našeho současného sortimentu ječmene ozimého na infekci BYDV, zabývali jsme se řešením této otázky v našich experimentech.

MATERIÁL A METODY

Problematika škodlivosti BYDV na ječmeni ozimém byla v letech 1994–1996 zkoumána v polních maloparcelkových pokusech, do nichž bylo zařazeno 12 pov-

lených odrůd. Pokusy se skládaly ze dvou variant – infekční a kontrolní (bez infekce), přičemž každá varianta měla tři opakování. Vybrané odrůdy byly infikovány PAV kmenem BYDV ve fázi odnožování pomocí mšic *Rhopalosiphum padi* ze skleníkových chovů. Intenzita symptomatické reakce jednotlivých materiálů byla hodnocena v době kvetení neinfikovaného ječmene podle stupnice, kterou vyvinuli Schaller a Qualset (1980). Po sklizni byl hodnocen počet klasů na rostlinu, hmotnost zrna na klas, hmotnost zrna na plochu a sklizňový index. Tyto hodnoty byly stanoveny u 20 rostlin z každého opakování (celkem 60 rostlin každé varianty). Z průměrných hodnot sledovaných znaků byla vypočtena jejich procentní redukce způsobená virem (100 – I/K.100). Podle vzorce, který odvodili Comeau a St. Pierre (1982), byl pak stanoven index náchylnosti.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky pokusů ukázaly, že infekce BYDV v rané růstové fázi vyvolala u převážné většiny odrůd ječme-

* Práce byla uskutečněna za finanční podpory Grantové agentury ČR v rámci projektu reg. č. 521/97/0749.



1. Symptomatický projev infekce BYDV u silně náchylné odrůdy Borwina; vpravo zdravá rostlina – Symptoms of BYDV infection in very susceptible variety Borwina; uninfected plant to the right

2. Symptomatický projev infekce BYDV u mírně odolné odrůdy Sigra; vpravo zdravá rostlina – Symptoms of BYDV infection in moderately resistant variety Sigra; uninfected plant to the right

ne ozimého velmi silnou symptomatickou reakci. Průměrná hodnota tohoto znaku, který je souhrnem barevných a morfologických změn, se u testovaných rostlin pohybovala mezi 5. a 9. stupněm hodnotící škály (0–9, 0 – bez symptomů). Jak vyplývá z tab. I, nejcitlivěji na infekci BYDV reagovaly odrůdy Borwina (obr. 1), Kamil, Kromír, Kromoz, Lunet, Luxor, Marinka, Marna, Monako a Okal, které byly ohodnoceny stupněm 9. Virová infekce u nich vyvolala 69 až 90% redukci výšky. V době bonitace symptomů, tj. ve fázi kvetení kontrolních rostlin, měly tyto odrůdy již 75–90 % listové plochy zežloutlé nebo zaschlé. U odrůdy Marinka nevymetala během dvou pokusných let žádná rostlina. U ostatních odrůd této skupiny část rostlin (nebo v některých případech i všechny) vymetala, jejich klasy však byly většinou sterilní. Mírnější symptomatickou reakci (SH 6,8) ve všech sledovaných parametrech měla odrůda Kompolti (redukce výšky rostlin 45 %, žloutnutí listové plochy 55 %, podíl vymetaných rostlin 100 %). Nejméněší průběh onemocnění (SH 5) byl zaznamenán u odrůdy Sigra (redukce výšky rostlin 26 %, žloutnutí listů 20 %, metání 100 %) (obr. 2).

Z výsledků polních pokusů, které jsou uvedeny v tab. I, vyplývá, že infekce BYDV pronikavě ovlivnila výnos testovaných odrůd. Nejdestruktivněji se projevila na odrůdách Kamil, Kromír, Kromoz, Marinka, Marna a Monako, které neposkytly žádný výnos zrna. U odrůd Borwina, Lunet, Luxor a Okal se redukce výnosu zrna na plochu pohybovala od 96,4 do 99,4 %. Obdobně byl u této skupiny odrůd snížen výnos zrna na klas (87,0–90,5 %) i sklizňový index

(86,5–97,6 %). Obě uvedené skupiny je možné tedy oklasifikovat stupněm silně náchylný. Tomuto zařazení odpovídá index náchylnosti, jehož hodnoty se pohybují od 8,68 do 9,40.

U odrůdy Kompolti byl výnos zrna na plochu snížen o 61,2 %, na klas o 67,2 %, přičemž redukce sklizňového indexu dosáhla 25,8 % a redukce hmotnosti tisíce zrn 21,79 %. Tuto odrůdu je možné zařadit mezi mírně náchylné (SI – 6,54). U odrůdy Sigra byl výnos zrna na plochu redukován o 46,7 %, na klas o 29,8 % a sklizňový index o 13,7 %. Hmotnost tisíce zrn byla u této odrůdy snížena vlivem infekce BYDV o 18,52 %. Odrůda Sigra se z těchto hledisek jeví jako mírně odolná (SI – 5,59).

Výsledky, které jsme při studiu škodlivosti BYDV na ječmeni ozimém obdrželi, jsou varující. V našem povoleném sortimentu je pouze jediná odrůda (Sigra), která se může považovat za mírně odolnou. Zbývající materiály, vyjma mírně náchylnou odrůdu Kompolti, jsou silně náchylné. Časná infekce BYDV může na nich vyvolat až 100% ztráty na výnosu zrna. O možnosti tak silného poškození ječmene ozimého v pěstitelské praxi signalizují nálezy časných, tj. podzimních, infekcí z poslední doby. Vzhledem k tomu, že genetická ochrana ozimého ječmene před BYDV představuje vysoce efektivní zárok, je obohacení našeho pěstovaného sortimentu o odolné odrůdy cíleným šlechtěním nanejvýš žádoucí. Odolné odrůdy reagují při silném napadení snížením výnosu o 0,2 až 10 % (Grafton et al., 1970; Snidaró, Delogu, 1990). Za odolnou je např. považována odrůda Vixen u dvouřádkých ječmenů a odrůda Post u šestiřádkých ječmenů.

I. Průměrné hodnoty některých znaků u 12 odrůd ječmene ozimého ze dvou až tří pokusných let v infekční variantě (I) a procentní redukce proti neinfikované kontrole (100 - I/K.100) - Average values of some traits in 12 varieties of winter barley tested in two (three) years obtained in the infection variant (I) and percentual reductions compared with uninfected variant (100 - I/K.100)

Variety	HZP		HZK		HI		SH	SI
	I	100 - (I/K).100	I	100 - (I/K).100	I	100 - (I/K).100		
Borovina	10,4	98,0	0,18	90,5	0,033	92,8	9,0	9,08
Kamil	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Kompolti 4	148,1	61,2	0,37	67,2	0,312	25,8	6,8	6,54
Kromir	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Kromoz	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Lunet	25,0	99,4	0,22	89,7	0,016	97,6	9,0	9,24
Luxor	21,9	96,4	0,34	87,0	0,070	86,5	9,0	8,76
Marinka	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Marna	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Monako	0,0	100,0	0,00	100,0	0,000	100,0	9,0	9,40
Okal	25,0	96,7	0,27	87,7	0,080	97,3	9,0	8,68
Sigra	413,3	46,7	1,39	29,8	0,408	13,7	5,0	5,59

HZP = hmotnost zrna na plochu (g/m^2) - grain yield (g/m^2)

HZK = hmotnost zrna na klas (g) - grain weight per spike (g)

HI = sklizňový index - harvest index

SH = symptomatické hodnocení (0-9, 0 - bez symptomů) - visual symptom score (0-9, 0 - without symptoms)

SI = index náchylnosti - susceptibility index

LITERATURA

COMEAU, A. - ST. PIERRE, C. A. (1982): Trials on the resistance of cereals to barley yellow dwarf virus (BYDV). Rep. No. 4, Res. Stat., Agriculture Canada, Sainte-Foy, Quebec, Canada.

DOODSON, J. K. - SAUNDERS, P. J. (1970): Some effects of barley yellow dwarf virus on spring and winter cereals in field trials. Ann. Appl. Biol., 66: 361-374.

GRAFTON, K. F. - POEHLMAN, J. M. - SECHLER, D. T. - SEHGAL O. P. (1982): Effect of BYDV infection on winter survival and other agronomic traits in barley. Crop Sci., 22: 596-600.

POCSAI, E. - KOBZA, S. - DEZSÉRY, M. - BASKY, Z. S. (1981): Árpá sárpa törpülés vírus megfigyelése Fejér megyében. Növénytermelés, 32: 421-425.

SCHALLER, C. W. - QUALSET, C. O. (1980): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus. In: Proc. Third Int. Wheat Conf., Madrid, Spain: 528-541.

SNIDARO, N. - DELOGU, G. (1990): Agronomic techniques for preventing barley yellow dwarf damage in winter cereal. In: World Perspectives on Barley Yellow Dwarf, CIMMYT, Mexico: 457-463.

Došlo 30. 10. 1997

Kontaktní adresa:

Ing. Josef Vaček, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha-Ruzyně, Česká republika, tel.: + 420 2 36 08 51, fax: + 420 2 36 52 29

VYUŽITÍ MARKERŮ PŘI SELEKCI VE ŠLECHTITELSKÝCH PROGRAMECH OBILNIN

Ve dnech 22. a 23. září 1997 se v Institutu agrobiotechnologie v rakouském Tullnu konalo sympozium věnované využití markerů ve šlechtění obilnin. Konference byla organizována obilnářskou sekci asociace EUCARPIA. Celkem 112 účastníků z 18 zemí diskutovalo o nejnovějších výsledcích a experimentech.

První tematický okruh byl věnován molekulárním technologiím. V úvodním referátu hovořil A. E. Melchinger (Hohenheim, NSR) o současném postavení QTL (Quantitative Trait Loci) mapování v rodu *Gramineae*. Byla publikována řada prací s využitím QTL při mapování důležitých znaků: rezistence k abiotickým a biotickým stresům, kvalita a výnos. Malá pozornost je věnována validaci QTL pozice a experimentálnímu ověření efektivnosti selekce s využitím markerů. Při interpretaci výsledků je třeba mít na zřeteli vlastnosti a omezení metod QTL mapování.

M. S. Roder (Gatersleben, NSR) věnoval své vystoupení mikrosatelitnímu mapování pšeničného genomu. Jsou nalezeny mikrosatelitní markery pro všechny chromozomy pšeničného genomu. Vysoký polymorfismus mikrosatelitních markerů mezi odrůdami pšenice předpokládá využití mikrosatelitních map v genetice a šlechtění pšenice. V současné době se rozvíjí mezinárodní spolupráce na mapování pšeničných mikrosatelitů v rámci IWMMN (International Wheat Microsatellites Mapping Network).

P. Leroy (INRA, Francie) se domnívá, že mikrosatelitní markery budou velice brzy hrát hlavní roli v genetice pšenice. Metoda AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) je s úspěchem využívána při šlechtění (J. Peleman, Wageningen), zejména při analýze genetické vzdálenosti, identifikaci odrůd, nepřímé selekci a zpětném křížení.

Mnoho genů rezistence proti rzi pšeničné je využíváno ve šlechtění. B. Keller (Currych, Švýcarsko) ukázal využití markeru pro rezistentní gen *Lr10* a možné použití pro další geny rezistence na rez pšeničnou *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr29* a *Lr1* L. Hartl (Freising, NSR) se

zabýval identifikací genu rezistence proti padlí u pšenice metodami AFLP a mikrosatelity. Gen *Pm18* je možné lokalizovat pomocí AFLP, naproti tomu mikrosatelity to neumožňují.

M. Messmer (FAL, Švýcarsko) referovala o lokalizaci genů ovlivňujících kvantitativní rezistenci pomocí molekulárních markerů. Předběžně bylo nalezeno několik QTL pro rezistenci vůči braničnatce plevové, většina také souvisí s QTL pro výšku rostliny nebo s QTL pro pozdní metání.

Rozsáhlé možnosti využití markerů se ukazují při tvorbě hybridní pšenice, kde je nutné znát rodičovskou diverzitu a tak maximálně využívat heterózního efektu (A. Brandolini, Itálie).

Třetí sekce se zabývala otázkami využití markerů u žita. Molekulární mapa žita zatím obsahuje pouze několik agronomicky důležitých genů, zejména geny na chromozomech 5R a 7R (A. Börner, Gatersleben).

Další okruh byl zaměřen na ječmen. Velká pozornost byla věnována rezistentnímu šlechtění a markerům. A. Graner (Gatersleben) referoval o mapování jednotlivých chorob jarního ječmene, přičemž vycházel z map obsahujících více než 1 000 rozdílných RFLP-markerů.

Využití RAPD-markerů při šlechtění na odolnost ječmene vůči BYMV doporučil F. Ordon (Giessen, NSR). Sladovnická kvalita ječmene je komplexní ukazatel, který kombinuje několik znaků.

A. Kipp (Weihensphan, NSR) dokumentoval využití QTL mapování některých znaků sladovnické kvality.

Závěrečný tematický okruh byl věnován praktickému využití markerů ve šlechtění. Jsou již využívány jednotlivé metody pro stanovení genetické čistoty odrůd, pro determinaci vzdálenosti rodičů pro křížení a pro detekci specifických genů při selekci. Zástupci PBI Cambridge a Saaten Union Leopoldshöhe se shodli, že širší uplatnění molekulárních markerů závisí na jejich praktické využitelnosti a zejména na ekonomické výhodnosti.

Dr. Ing. Pavel Horčíčka

TRANSGENY PRO TOLERANCI K HERBICIDŮM

TRANSGENIC CROPS TOLERANT TO HERBICIDES

M. Ondřej¹, S. Rakouský¹, K. Schützner²

¹ *Institute of Plant Molecular Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Česká Budějovice, Czech Republic*

² *Hoechst Schering AgrEvo CR/SR, Brno, Czech Republic*

ABSTRACT: Transgenes coding for herbicide tolerance are currently the most common types in new transgenic varieties and those applied for the registration in different European countries. Currently, there are three main types of transgenic plants tolerant to herbicides: 1. Transgenic plants tolerant to glyphosate. Glyphosate inhibits EPSP enzyme which is involved in the biosynthesis of aromatic amino acids in the chloroplasts. 2. Transgenic plants tolerant to phosphinothricin. Phosphinothricin inhibits glutamyl synthetase involved in detoxification of ammonia. 3. Transgenic plants tolerant to chlorsulfuron and other herbicides of this type, which inhibit the activity of acetolactate synthase (ALS) involved in the production of branched chain aminoacids. There are also some other transgenes which induce tolerance to some other herbicides. According to the results of intensive research and the experience gained, the transgenes proved to be safe and harmless and corresponding herbicides used have only negligible impact both on the environment and humans.

ÚVOD

V našem předchozím článku (Ondřej, 1997) byla záměrně zkrácena kapitola o toleranci transgenických rostlin k herbicidům s tím, že tomuto tématu bude později věnován zvláštní samostatný přehled.

Transgenní rostliny jsou rostliny, do nichž byl metodami genového inženýrství vnesen jeden nebo několik cizích genů, často ze zcela nepříbuzných organismů. Transgenozé rostlin se děje obvykle prostřednictvím vektorů založených na bakteriích *Agrobacterium tumefaciens*, nebo přímým vnášením DNA do rostlinných protoplastů či celých buněk a pletiv, obvykle tzv. nastřelováním. Existují nové transgenní odrůdy, které se již prakticky využívají (zejména v USA, Kanadě, Argentíně a Číně), další jsou ve stadiu předzkoušek a mnohem více je jich ve stadiu laboratorních pokusů. Největší část registrovaných pokusů s transgenními rostlinami se týká tolerance k herbicidům. Herbicidy také tvoří největší část pesticidů používaných v běžně pěstovaných plodinách, neboť bez ochrany proti plevelům prakticky není možné žádnou kulturní plodinu pěstovat. Využití transgenních rostlin tolerantních k herbicidům znamená u řady plodin snížení spotřeby těchto herbicidů, které se aplikují preventivně do půdy. Herbicidy, k nimž jsou transgenní rostliny tolerantní, se používají až „na list“, cíleně v dávkách podle skutečného spektra a stavu plevelů, tedy až tehdy, kdy je jich opravdu třeba. Transgenní rostliny tolerantní k herbicidům umožňují nahrazení klasických herbicidů typy,

kteří se v půdě rychleji odbourávají a jsou šetrnější k životnímu prostředí, k pracovníkům v zemědělství i ke konzumentům.

Ve sdělovacích prostředcích se hovoří o některých potenciálních rizicích používání transgenních rostlin.

Rizika pro člověka

1. Toxické nebo alergogenní působení proteinu, který je kódován transgenem.
2. Možné toxické (teratogenní, karcinogenní) účinky herbicidů a jejich metabolitů.
3. Možné toxické (teratogenní, karcinogenní) účinky dalších látek, které by mohly být produkovány jako vedlejší produkty aktivity enzymu kódovaného transgenem.

Toxické, alergogenní a karcinogenní účinky používaných herbicidů a jejich hlavních metabolitů byly četnými studii vyloučeny. Takovéto studie jsou povinnou součástí registračního řízení herbicidů (i dalších typů pesticidů) jak u nás, tak i v zahraničí, a přípravky s potenciálními nežádoucími vlastnostmi nebo chybějícími studii tohoto typu nemohou být registrovány. Avšak u každého přípravku, ať již se používá i na transgenní, nebo jen na netransgenní rostliny, veškeré studie odpovídají vědeckým a technickým požadavkům doby, kdy byly vytvořeny. Nelze samozřejmě vyloučit, že se v průběhu času neobjeví poznatky nové, vedoucí k odlišným závěrům. Je tedy třeba neustále pokračovat v dalším studiu z těchto hledisek.

Rizika pro přírodní prostředí

1. Transgenní rostlina by se v důsledku svého nového znaku a jeho selekčních výhod mohla stát dominantní a nežádoucím způsobem by se mohla rozšířit jako nový plevel.

2. Mohla by přenést transgen, který přináší selekční výhodu, do genomu běžných plevelů, a tak způsobit vznik nekontrolovaných transgenů.

Cílem práce je ukázat, že používání transgenních rostlin nepřináší v zásadě jiná rizika než pěstování rostlin netransgenních.

Transgeny pro rezistenci k herbicidům se u rostlin využívají ke třem účelům:

1. Jako selekční faktor pro selekci transgenních rostlin herbicidem. To umožňuje nahradit geny používané pro rezistenci k antibiotikům (obvykle kanamycinu), které jsou potřebné pro selekci transgenních rostlin při procesu transgenozy, ale proti kterým bývají vznášeny námitky.

2. Pro likvidaci plevelů herbicidem u kulturních rostlin. Toto využití bude hlavní náplní dalšího článku.

3. Pro snadnější využití pylové sterility při produkci heterozygního osiva. Pylově sterilní rostlina je zároveň rezistentní k herbicidu a při produkci heterozygního osiva slouží jako mateřská. Je vyseta společně s otcovskou rostlinou a po odkvětu je porost ošetřen herbicidem, takže do sklizně semen dozrávají jen mateřské rostliny. V tomto systému nejsou nutné geny pro obnovu fertility, což bylo již využito u transgenních odrůdách, například řepky olejné.

Využívání transgenních rostlin, zejména s transgeny pro toleranci k herbicidům, bude vyžadovat některé změny zemědělských technologií.

Vzorce hlavních herbicidů, u nichž existují šlechtitelsky využitelné transgeny pro rezistenci, jsou uvedeny na obr. 1.

Glyphosate: Mechanismus účinku herbicidů a transgenů

Herbicid glyphosate blokuje syntézu aromatických aminokyselin tím, že blokuje enzymatický krok biosyntézy šikimátu, je neselektivní, protože působí na všechny rostliny. Je to postemergentní (působí na rostoucí, zelené rostliny, nikoliv na raná stadia klíčení semen), na list působící herbicid se systémovou aktivitou. V současné době patří k nejrozšířenějším herbicidům. V rostlině se rychle translokuje z listů do meristematických zón (Gougler, Geier, 1981; Mollenhauer et al., 1987) a do plodů, květů a kořenů. Chemicky jde o terciární amin, N-(fosfonometyl)-glycin (Budavari et al., 1989). Obchodně je distribuován jako izopropylaminová sůl (N-fosfonometyl)-glycinu pod jménem Roundup. Jeho herbicidní aktivita je podmíněna inhibicí enzymu 5-enolpyruvátšikimát-3-fosfátu (EPSP) (Gollub et al., 1967; Steinrücken, Amrhein, 1984). Šikimátová biosyntetická dráha je v rostlinných buňkách lokalizována v chloroplastech.

Roundup se aplikuje ve velice malých množstvích (0,15–2,0 kg/ha, tj. 15–20 mg na m²). Symptomy poškození rostlin začnou být viditelné po 4–7 dnech (Nap et al., 1996), kdy rostliny vadnou, hnědnou a nakonec dochází k úhynu. Existuje však značná variabilita v citlivosti různých druhů rostlin k herbicidu glyphosate.

Přirozená tolerance některých druhů netransgenních rostlin k herbicidu glyphosate může být způsobena těmito čtyřmi faktory (Devine et al., 1993):

- a) nedostatečné pronikání herbicidu glyphosate a jeho translokace z listů;
- b) rostlinný enzym EPSP není senzitivní k herbicidu glyphosate, nebo je jeho senzitivita snížena;
- c) rostlina je schopna překonat nebo kompenzovat odolnost k herbicidu glyphosate;
- d) rostlina je schopna metabolizovat herbicid glyphosate na netoxické sloučeniny.

Kromě přirozené nižší citlivosti některých rostlin k herbicidu glyphosate (například svačců) je možné selekci získat rezistentní tkáňové kultury. To se podařilo postupnou selekcí v suspenzních kulturách mrkve (Nafziger et al., 1984), rajčete (Smith et al., 1986), petunie (Steinrücken et al., 1986), tabáku (Goldsbrough et al., 1990), *Corydalis sempervirens* (Amrhein et al., 1983; Smart et al., 1985), kukuřice (Racchi, 1995). Stabilita této tolerance byla různá, ale její molekulární základ nebyl objasněn. Není však dosud znám žádný případ, že by plevel získal odolnost k herbicidu glyphosate (Kishore, Shah, 1988).

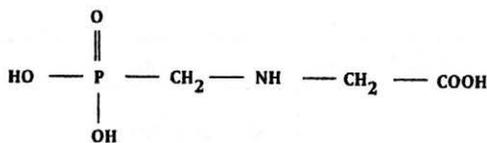
Co se týče transgenů pro odolnost k herbicidu glyphosate, existují dva typy transgenů podmiňujících rezistenci ke glyphosate:

1. Gen pro enzym EPSP
 - a) nadprodukce enzymu (geny klonovány z *Petunia* a *Arabidopsis*),
 - b) odlišný enzym (geny klonovány z bakterií *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens* a z rostlin *Petunia hybrida* a *Arabidopsis thaliana*).

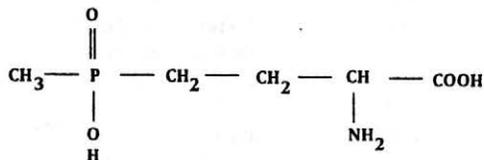
2. Gen pro glyphosateoxidoreduktázu (GOX) (klonován z bakterie *Achromobacter*).

Geny byly vneseny do různých druhů rostlin, jako jsou tabák, rajče, řepka, topol, sója, modřín, len, petunie, *Arabidopsis* (tab. I).

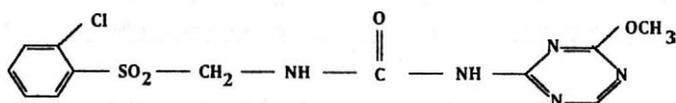
Toleranci k herbicidu glyphosate je možné navodit transgenozí prostřednictvím tří typů transgenů. První typ transgenů pro tuto toleranci podmiňuje nadprodukcí EPSP. Cílem je, aby v buňce bylo tolik molekul EPSP, aby i za předpokladu, že bude veškerý herbicid glyphosate vázán na EPSP, stále zbýval volný EPSP, který vykazuje dostatečnou katalytickou aktivitu. Tento stav byl pozorován v tkáňových kulturách transgenní petunie. Gen EPSP petunie byl klonován, k němu byl připojen konstitutivní 35S promotor a opět byl použit k transformaci petunie. Transformované kalusy vykazovaly 20–40krát zvýšenou aktivitu EPSP a z nich regenerované rostliny tolerovaly čtyřnásobnou hladinu



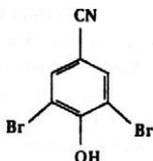
glyphosate



DL - phosphinotricin (PPT)



chlorsulfuron



bromoxynil

herbicidu glyphosate (Shah et al., 1986). Podobná hladina tolerance k herbicidu glyphosate byla zjištěna také u lnu (Jordan, McHughen, 1988). cDNA z *Petunia* byla použita jako sonda pro klonování genu EPSP z *Arabidopsis thaliana*, který byl spojen s 35S promotorem a znovu vnesen do *A. thaliana*. Rostliny pak vykazovaly zvýšenou toleranci k herbicidu glyphosate (Klee et al., 1987).

Použití transgenů pro nadprodukcii EPSP ve šlechtění je pochybné v důsledku toho, že se objevil nečekaný problém – intenzita růstu rostlin s tímto transgenem, ošetřených herbicidem glyphosate, byla podstatně snížena (Kishore, Shah, 1988; Devine et al., 1993). Pravděpodobným vysvětlením je, že herbicid glyphosate se hromadil v apikálních pupenech a tam jej ani nadprodukovaný enzym nestačil plně vyvázat. Důsledkem bylo zpomalení růstu.

Druhým typem je transgen, který kóduje modifikovaný enzym EPSP tolerantní ke glyphosate. Bylo klonováno několik takovýchto genů. Bakteriální gen je označen *aroA*, protože řídí syntézu aromatických aminokyselin. Mutované geny byly klonovány ze *Salmonella typhimurium* (Comai et al., 1983; Stalker et al., 1985; Thompson et al., 1987), *Escherichia coli* (Kishore et al., 1986; Padgett et al., 1989) a *Agrobacterium* sp. (Barry et al., 1992), které byly využity v transgenních rostlinách. Další klonované geny z *Klebsiella pneumoniae* (Sost et al., 1984) a *Pseudomonas* sp. (Schulz et al., 1984) zatím využity nebyly. Firma Monsanto vytvořila řadu mutací tohoto genu pomocí cílené mutagenese *in vitro*, které vedly u transgenních rostlin k toleranci ke glyphosate (Kishore, Shah, 1988; Padgett et al., 1989; Padgett et al., 1991).

I. Transgenní rostliny rezistentní ke glyphosate

Gen	Tranzitní peptid	Zdroj genu	Transgenní rostlina	Citace
a) Nadprodukce <i>eps</i>				
<i>eps</i>	–	<i>Petunia</i>	<i>Petunia</i>	Shah et al. (1986)
<i>eps</i>	–	<i>Petunia</i>	len	Jordan a McHughen (1988)
<i>eps</i>	–	<i>Arabidopsis</i>	<i>Arabidopsis</i>	Klee et al. (1987)
b) Vnesení mutovaného <i>eps</i>				
<i>aroA</i>	–	<i>S. typhimurium</i>	tabák	Comai et al. (1985)
<i>aroA</i>	–	<i>S. typhimurium</i>	rajče	Fillatti et al. (1987)
<i>aroA</i>	–	<i>S. typhimurium</i>	topol	Fillatti et al. (1987)
<i>aroA</i>	+	<i>E. coli</i>	tabák	Della-Cioppa et al. (1987)
<i>aroA</i>	–	<i>E. coli</i>	tabák	Kishore et al. (1988)
<i>aroA</i>	+	<i>Agrobacterium</i>	řepka	Barry et al. (1992)
<i>aroA</i>	+	<i>Agrobacterium</i>	sója	Padgette et al. (1995)
<i>aroA</i>	+	<i>S. typhimurium</i>	topol	Donahue et al. (1994)
<i>aroA</i>	+	<i>S. typhimurium</i>	modřín	Shin et al. (1994)
<i>eps</i>	+	<i>Petunia</i>	sója	Hinchee et al. (1988)
<i>epso</i>	+	<i>Petunia</i>	tabák	Padgette et al. (1989)
c) Vnesení genu <i>GOX</i>				
<i>gox</i>	+	<i>Achromobacter</i>	tabák	Barry et al. (1992)
<i>gox</i>	+	<i>Achromobacter</i>	řepka	Nickson et al. (1994)

Mutovaný gen *aroA* ze *Salmonella typhimurium*, tolerantní k herbicidu glyphosate (Comai et al., 1983), obsahoval změnu pouze jedné aminokyseliny – prolinu na serin (Stalker et al., 1985). V původním hostiteli vedl k třikrát vyšší toleranci k herbicidu glyphosate. Tento mutovaný gen *aroA* s eukaryotním promotorem byl také vnesen do tabáku (Comai et al., 1985). Tam však došlo ke vzniku jen slabé tolerance ke glyphosate, nedostatečné pro aplikaci ve šlechtění (Comai, Stalker, 1986). Tentýž konstrukt T-DNA však vedl k dostatečné toleranci herbicidu u rajčete (Fillatti et al., 1987) a topolu (Fillatti et al., 1988). Později byla vytvořena ještě jiná konstrukce obsahující informaci pro tranzitní peptid pro přenos enzymu do chloroplastů, jež vedla k vyššímu stupni tolerance ke glyphosate u topolu (Donahue et al., 1994) a modřínu (Shin et al., 1994).

Mutovaný gen *aroA* z *E. coli* B (Kishore et al., 1986), označený SM-1 (Padgette et al., 1989), kóduje enzym EPSP, který má substituci jedné aminokyseliny a má 8 000krát sníženou senzitivitu k herbicidu glyphosate. Tento gen s 35S promotorem byl vnesen do genomu tabáku. Pokud byla kódující sekvence transgenu bez úseku pro tranzitní peptid, byl enzym lokalizován v cytoplazmě. Jestliže konstrukce transgenu byla doplněna o úsek pro tranzitní peptid, byl enzym směřován do chloroplastů. Transgenní rostliny s tranzitním peptidem přežívaly aplikaci herbicidu Roundup v množství 0,5 kg/ha, zatímco rostliny s konstrukcí bez tranzitního peptidu vykazovaly jen nízkou toleranci k herbicidu Roundup, projevující se chlorózou apikálního pupenu a tvorbou postranních výhonů (Padgette et al. 1989). Nejvyšší toleranci k herbicidu glyphosate však vykazovaly rostliny transformované genem

získaným z genomu *Agrobacterium* sp. (Barry et al., 1992). Tento transgen s tranzitním peptidem pro přenos do chloroplastů je využit v mnoha transgenních kulturách rostlinách firmy Monsanto (Barry et al., 1992; Padgette et al., 1995; Dellaney et al., 1995).

Třetí strategií získání geneticky modifikovaných rostlin tolerantních k herbicidu glyphosate představuje vnesení genu pro enzym, který daný herbicid metabolizuje. Netransgenní rostliny žádný takovýto enzym nemají. Protože tento enzym musí být přítomen v dostatečném množství, musí být exprese genu konstitutivní, přičemž jeho přesná regulace není významná. Geny pro degradaci herbicidu glyphosate jsou přítomny v mnoha mikroorganismech (*Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes* spp.). K odbourávání glyphosate dochází dvěma odlišnými metabolickými cestami. Jedna z nich vede přes aminomethylfosfonát a druhá přes sarkozin (N-metylglycin). Při obou je glyphosate rozkládán na netoxické sloučeniny (Malik et al., 1989; Liu et al., 1991). Obě cesty se mohou vyskytovat u téhož mikroorganismu (Jacob et al., 1988). Prozatím byl klonován gen *gox* z *Achromobacter* sp. (Kishore, Barry, 1992), který kóduje glyphosateoxidoreduktázu podílející se na aminomethylfosfonátové biodegradaci dráze. Když byl gen včleněn s konstitutivním promotorem do genomu tabáku, byla jeho exprese velmi slabá, a proto byla provedena úplná resyntéza kódujícího úseku (Barry et al., 1992). K desetinásobnému zvýšení účinnosti došlo, když byla genová konstrukce opatřena sekvencí kódující signální peptid z genu Rubisco (gen pro jeden ze základních enzymů fotosyntézy) *Arabidopsis thaliana*, která podmiňuje transport proteinu do chloroplastů. Řepka olejná s tímto genem vykazovala silnou odolnost k herbicidu glyphosate.

Budoucí strategie vytváření transgenních rostlin tolerantních k herbicidu glyphosate pro šlechtění bude zřejmě spočívat v kombinaci odbourávání herbicidu glyphosate a nadprodukce EPSP, nebo odbourávání herbicidu glyphosate a vnesení genu pro EPSP necitlivou k herbicidu. Tohoto principu již bylo využito u řepky olejné tolerantní k herbicidu glyphosate (Nicksen et al., 1994).

Glyphosate: ekologické a toxikologické studie tolerantních transgenních rostlin

U transgenů se všeobecně uvažují dva hlavní typy rizik: ekologická rizika a rizika pro zdraví člověka. U transgenů pro odolnost k herbicidům je třeba uvažovat rizika vlastního transgenu a rizika využívaného herbicidu a jeho metabolických produktů.

Hlavní teoreticky uvažovaná ekologická rizika transgenních kulturních rostlin s geny pro toleranci k herbicidům, jejichž představitelem je glyphosate, jsou:

1. Tolerance k herbicidu by mohla teoreticky přeměnit kulturní rostlinu na nový plevel.
2. Tolerance k herbicidu by mohla narušit ekologii kulturní rostliny jiným, zatím neznámým způsobem.
3. Tolerance k herbicidu by se mohla sprášením dostat do genomu jiných rostlin (například blízkce příbuzných plevelů).
4. Gen pro toleranci k herbicidu by mohl mít neočekávaný pleiotropní efekt, který by mohl vést k nežádoucím změnám kulturních rostlin.
5. Přítomnost genu pro toleranci k herbicidu by mohla přímo či nepřímo učinit rostliny nevhodnými pro konzumaci nebo průmyslové zpracování.
6. Rozšíření genu pro toleranci k herbicidu glyphosate v přírodních populacích by ohrozilo klasické agrotechnické využití tohoto herbicidu jakožto neselektivního herbicidu v řadě plodin.

Možnost, že se z kulturní rostliny tolerantní k herbicidu vyvine plevel, závisí především na tom, jak transgen přispívá ke zdatnosti daného genotypu. Ze zkušenosti nelze předpokládat velké změny ve zdatnosti rostlin. Nap et al. (1996) uvádějí, že v populaci skládající se z transgenních i netransgenních rostlin bylo pozorováno mírné snížení zdatnosti transgenních rostlin a v důsledku toho postupná eliminace transgenu pro toleranci k herbicidu glyphosate z populace v nepřítomnosti herbicidu. U transgenních kulturních odrůd je však selekce v procesu šlechtění prováděna tak, aby transgenní odrůda neměla nižší zdatnost než původní odrůda netransgenní. Selektivní výhodu nebude mít sporadicky přežívající kulturní transgenní rostlina tolerantní ke glyphosate ani v monokultuře kulturních rostlin jiného druhu, tolerantních ke glyphosate, na něž je glyphosate aplikován. Zvýšení plevelného charakteru kulturní rostliny v důsledku získání tolerance k herbicidu glyphosate je tedy velmi nepravděpodobné.

Možnost spontánního přenesení transgenu do genomu příbuzných plevelů je závislá vždy na mnoha okol-

nostech. Je to záležitost konkrétního kulturního rostlinného druhu a ekosystému, v němž se nachází. Především záleží na tom, zda je kulturní rostlina samosprašná, či cizosprašná. Protože však absolutní samosprašnost neexistuje, možnost přenosu pylem není nikdy zcela vyloučena. Záleží rovněž na tom, zda se na stanovišti či v jeho okolí nacházejí křížitelné druhy rostlin.

Teoreticky mohou nastat tři možnosti:

1. Příbuzný plevelný druh se může stát tolerantním k herbicidu glyphosate, po jeho aplikaci se může na poli namnožit a tím znemožnit jeho používání.
2. Populace plevelného druhu může získat gen pro toleranci k herbicidu glyphosate, ale šířit se může samovolně i mimo pole, bez pozitivní selekce přípravkem Roundup.
3. Mohou nastat další problémy v důsledku přenosu tolerance k herbicidu glyphosate na další druhy.

Přenesení tolerance k herbicidu glyphosate na další plevelné druhy může vzhledem k zákonitostem populační genetiky vést ke vzniku rezistentní populace plevelů. To je pravděpodobné především tehdy, jestliže je glyphosate používán na témže poli v průběhu několika let po sobě. V agrotechnice je proto třeba počítat se střídáním kultur a s využitím odolnosti k herbicidu glyphosate jen jednou za několik let. Případně se objevující plevely rezistentní k herbicidu glyphosate je třeba vždy eliminovat jiným herbicidem.

Důležitým pojmem při hodnocení biologické bezpečnosti nového transgenu je jeho známost (familiarity). Hodnocení známosti zahrnuje hodnocení toho, do jaké míry je geneticky modifikovaný fenotyp nový v ekosystému. Tolerance ke glyphosate, získaná genetickou modifikací, je nový znak, pro ekosystémy neznámý. Z poněkud obecnějšího pohledu však nezáleží na tom, zda je rostlina eliminována glyphosatem nebo jiným herbicidem. Z hlediska rostliny je lhostejné, zda je chráněna tolerancí k herbicidu glyphosate získanou transgenozí, nebo jinou tolerancí k tomuto herbicidu. Výskyt rostlin přirozeně tolerantních ke glyphosate je v ekosystémech znám. Nemá vliv v ekosystému, v němž neexistuje selektivní tlak.

Specifickým rysem hodnocení biologické bezpečnosti transgenů pro toleranci k herbicidům je nutnost pečlivého studia toxických, teratogenních a karcinogenních účinků meziproductů a produktů biodegradace herbicidů v rostlině.

Vnesení transgenů *aroA*, *epsP* a *gox* do genomu kulturních rostlin a využívání glyphosate při kultivaci kulturních rostlin znamená, že v potravě budou přítomny tyto tři nové typy molekul:

- a) transgeny,
- b) produkty transgenů,
- c) herbicid glyphosate a jeho metabolity.

K prvnímu typu je možné konstatovat, že samotná DNA genů je stále ze stejného materiálu, nezávisle na kódovací kapacitě, a nepředstavuje proto z hlediska konzumenta žádné riziko. Je tedy možné uvažovat jen riziko nových enzymů, herbicidu glyphosate a jeho metabolitů. Samotný gen a jeho stavební materiál tedy ne-

představují žádné riziko. Jinou otázkou je, zda by mohla mít nepříznivé vlivy nadprodukce EPSP.

Enzym EPSP je komponentou šikimátové metabolické dráhy, která je běžnou součástí metabolismu bakterií, hub i rostlin. Každý člověk konzumuje s rostlinnou stravou velké množství EPSP, a enzym je tedy možné považovat za nerizikovou složku potravy. Totéž platí i o EPSP produkovaném různými mutantními transgeny, protože difference v primární struktuře jsou velmi malé. Na základě toho není důvod uvažovat ani o alergogenní aktivitě. Pokud jde o produkci enzymu GOX, o genu ani o jím kódovaném enzymu neexistují žádné literární odkazy. Rovněž neexistují informace o toxických či alergogenních účincích, a na základě dosavadních zkušeností není důvod je předpokládat.

Ještě významnější je otázka toxicity glyphosate a jeho metabolitů. Glyphosate je jen velmi málo toxický pro živočichy. Hodnota LD50 při perorální aplikaci je 5 g/kg tělesné hmotnosti (tj. asi 1/2 kg na člověka o hmotnosti 100 kg). Potenciál podráždění kůže se pohybuje mezi detergentem na mytí nádobí a dětským šamponem (Malik et al., 1989). Snášenlivost přípravku Roundup člověkem je o něco menší. Pro člověka staršího než 40 let by mohlo být smrtelné již požití 150 ml přípravku. Na této diferencii se totiž podléjí smáčedla a rozpouštědla přípravku Roundup. Roundup má také jen velice mírnou toxicitu pro včely a dešťovky. Co se týče inhibičního vlivu na půdní mikroflóru, projevuje se až u koncentrací mnohonásobně vyšších, než jsou užívány při běžné aplikaci na porosty transgenických rostlin (Grossbard, 1987). Podle provedených studií glyphosate nepůsobí nepříznivě ani na půdní faunu (Eijsackers, 1985), na zvěř (Sullivan, 1985) ani na vodu (Bronstad, Friesdat, 1985; Tooby 1985). Při jeho podávání živočichům dochází k 90–99% eliminaci za týden (Malik et al., 1989). Nedochází ani k jeho akumulaci v potravinovém řetězci (Malik et al., 1989) a nebyly pozorovány genotoxické, teratogenní nebo karcinogenní účinky (USDA, 1984; WHO, 1994). U rostlin se glyphosate hromadí v meristémích, plodech a hlízách. Vzhledem k nízké toxicitě tato koncentrace nepředstavuje riziko.

Je zde však jiná, dosud experimentálně neprostudovaná možnost. Podle starších údajů (Khan, Young, 1977) se glyphosate, pokud se dostane do půdy s vysokou koncentrací nitrátů a nitritů, může měnit na N-nitroglyphosate, který patří mezi nitrosoaminy a u něhož byla zjištěna slabá mutagenní aktivita (Seiler et al., 1977). Není však zatím prokázáno, že by k podobné konverzi mohlo docházet i v rostlinách. Vzhledem k nízkým používaným koncentracím herbicidu glyphosate tato možnost pravděpodobně významně nezvyšuje nepříznivé zdravotní účinky nadbytku nitrátů a nitritů.

Na základě zkušeností získaných s kulturními rostlinami tolerantními k herbicidu glyphosate je možné je považovat za biologicky bezpečné z hlediska možných ekologických důsledků. Ke vzniku plevelného charakteru kulturních rostlin nedochází. Není vyloučeno, že na některých místech mohou vzniknout transgenní ple-

vele rezistentní k herbicidu glyphosate, ale není pravděpodobné, že by to mohlo způsobit nevládnutelné problémy.

Phosphinotricin: mechanismus účinku herbicidů a transgenů

Phosphinotricin, chemicky 4-[hydroxy-(methyl) phosphinoyl]-D,L-homoalanin (synonymum: glufosinate) je herbicid, který se vyrábí biotechnologickým způsobem, prostřednictvím aktinomycet *Streptomyces viridochromogenes* a *Streptomyces hygroscopicus* (Bayer et al., 1972; Lea et al., 1984). Prodává se pod obchodními jmény Liberty, Basta, Finale, Radicale a dalšími. U transgenických rostlin je široce používán jako širokospektrý postemergentní herbicid v sadech a vinicích a desikant brambor, řepky, luštěnin, slunečnice a jetelovin. V případě transgenických rostlin je ovšem používán jako selektivní postemergentní herbicid. Je to tedy opět původně neselektivní herbicid (Botterman, Lee mans, 1988). Působí tím, že blokuje enzym glutaminyntetázu, klíčový enzym metabolismu dusíku, který detoxikuje amoniak za vzniku glutamátu. Phosphinotricin (a jeho komerční preparát Basta) způsobuje ireverzibilní inaktivaci glutaminyntetázy. V důsledku toho dochází k hromadění amoniaku ve vysokých koncentracích, což vede k blokádě fotosyntézy a k rozpadu chloroplastů (Devine et al., 1993; Tachibana et al., 1986). Po aplikaci herbicidu dochází po několika hodinách k poklesu fotosyntetické aktivity a do několika dnů rostliny zežloutnou a odumřou. Phosphinotricin se u nás aplikuje v koncentracích 0,4–1,2 kg účinné látky na hektar. V přírodních populacích není známa úplná odolnost k phosphinotricinu.

Bakterie *Streptomyces hygroscopicus* a *S. viridochromogenes* Tü494 také současně syntetizují enzym phosphinotricin-N-acetyltransferázu (PAT), který acetyluje volnou NH₂-skupinu phosphinotricinu, a tím jej inaktivuje. Gen, který kóduje phosphinotricinacetyltransferázu, klonovaný ze *S. hygroscopicus*, je v literatuře označován *bar*, a gen ze *S. viridochromogenes* je označován *pat*. Oba enzymy kódované oběma geny mají 183 aminokyselin a jejich primární struktura vykazuje značnou homologii (85 %) (Wohlleben, 1988). Oba geny byly vloženy do vektorových plazmidů bakterií *A. tumefaciens* pro transformaci rostlin a jsou využity v již existujících odrůdách řepky a kukuřice, povolených v USA a Kanadě. V zemích EU je již zažádáno o registraci těchto odrůd.

Phosphinotricin: ekologické a toxikologické studie tolerantních transgenních rostlin

V souvislosti s experimenty a polními pokusy s transgenními odrůdami je nutné uvažovat o několika různých otázkách biologické bezpečnosti odrůd kulturních rostlin s tímto transgenem. První z nich je vliv phosphinotricinu a jeho metabolitů v prostředí.

Phosphinotricin jako čistá chemikálie je stálý, ale v půdě se rychle rozkládá činností mikroorganismů na kyselínu 3-methylphosphin-propionovou (MPP) (Tebbe, Reber, 1988). Tato látka již není fyto toxická (Dröge-Laser et al., 1992). Nemá nepříznivé účinky na vodní organismy ani na půdní mikroflóru. Není však zcela vyloučeno pronikání do spodních vod při podzimní aplikaci za podmínek trvale vysoké hladiny spodní vody (Nizozemsko).

Nelze zcela vyloučit, že za určitých podmínek by mohlo, podobně jako u herbicidu glyphosate, v případě řepky olejné docházet k šíření transgenů do genomu příbuzných brukvovitých plevelů. Tato možnost byla pochopitelně studována a teoretické riziko nelze zcela vyloučit. Eventuální kříženci mají významně sníženou životaschopnost a fertilitu. Jsou pochopitelně hubitelní odlišnými typy herbicidů, a to jak klasickými, tak např. u mutantu odolného k Roundup pomocí Basta a obráceně.

Šíření transgenů mimo pole ošetřené phosphinotricinem nepřináší rostlinám žádnou selekční výhodu. V závislosti na kinetice populace se nový transgen může v populaci ustálit, ale může z ní být také eliminován. Není pravděpodobné, že by se nový transgen vymkl kontrole a všeobecně se rozšířil.

Stejně jako v předchozím případě nepředstavuje samotná DNA transgenů naprosto žádné toxikologické nebezpečí. Co se týče enzymu, je v trávicím traktu rozložen. Proto problémy nepředstavuje ani jeho enzymová aktivita, ani toxicita molekuly, ani možné alergogenní vlastnosti. Optimum pH enzymu je 7,5 a již při teplotě 35 °C dochází k jeho rychlé termální inaktivaci (Botterman et al., 1991; Walter et al., 1992). Kromě toho, že v žaludku je enzym degradován za méně než minutu, vyžaduje pro svou aktivitu jako kofaktor acetylkoenzym A, který za uvedených podmínek je rovněž nestabilní. Množství proteinu PAT v transgenických rostlinách obvykle nepřesahuje 0,1 % všech proteinů. Na základě porovnání s databázemi proteinů není pravděpodobné, že by PAT měl toxickou nebo alergogenní aktivitu (Trinks, 1995).

Pokud jde o phosphinotricin a jeho metabolity, komerční phosphinotricin je racemická směs D- a L- izomerů. L-izomer je v transgenických rostlinách acetylován na acetyl-PPT, zatímco D-PPT zůstává stálý (Dröge-Laser et al., 1994). Acetyl-PPT je stabilní a může se akumulovat v rostlině a pravděpodobně dochází k jeho transportu floemem do plodů a semen (Dröge-Laser et al., 1994). Při požívání transgenických rostlin ošetřených PPT je přijímán také D-phosphinotricin a acetylphosphinotricin. D-fosfinotricin se v trávicím traktu metabolizuje na acetylphosphinotricin (Trinks, 1995) a ten je rychle vylučován. Po konzumaci živočichy a člověkem dochází k detoxikaci a exkreci. Toxicita acetyl-PPT pro savce je nepatrná, má LD50 větší než 2,8 g/kg hmotnosti. Toxicita D-PPT je ještě nižší (LD50 je 1,5–4 g/kg hmotnosti) a kromě toho je tato látka v tělech savců rychle odbourávána (Kishore, Shah, 1988). Působí slabé podráždění pokožky a očí. Nemá žádné genotoxické, teratogenní nebo karcinogen-

ní účinky (Ebert et al., 1990). Není toxický pro včely, dešťovky ani půdní mikroorganismy (Lindhoud, 1984). Povolená denní dávka pro člověka je 0,02 mg za den, což mnohonásobně převyšuje dávku, která odpovídá konzumaci transgenických rostlin ošetřených PPT.

V rostlinách ale dochází v nepatrné míře také ke vzniku dalších metabolitů, u nichž zatím nejsou k dispozici obdobná fyziologická ani toxikologická data (Dröge-Laser et al., 1994).

Herbicidy, které blokují acetolaktátsyntetázu (ALS): mechanismus účinku herbicidů a transgenů

Acetolaktátsyntetáza, ALS (v angličtině také nazývaná acetohydroxyacid synthase, AHAS) se vyskytuje u bakterií, hub a rostlin. Struktura enzymu i enzym kódujících genů je u různých taxonů vysoce konzervativní. Je to první enzym biosyntetické dráhy esenciálních rozvětvených aminokyselin valinu, leucinu a izoleucinu. Živočichům tato metabolická dráha zcela chybí. ALS je tam však přítomna a účastní se metabolismu pyruvátu (tedy ne aminokyselin jako u rostlin) a nemá vazebné místo pro herbicidy (Matsunaka et al., 1985). U rostlin je gen pro enzym ALS lokalizován v jádře, ale enzym je transportován do chloroplastů. Aktivita enzymu ALS může být blokována čtyřmi typy herbicidů založených na sulfonylmočovinných imidazolonech, triazolopyrimidinech a pyrimidyloxobenzoátech (Subramanian et al., 1990). Hlavní herbicid používaný v agrotechnice je chlorsulfuron, což je 1-(2-chlorfenylsulfonyl)-3-(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl)-močovina.

Vyrábí se pod obchodním názvem Glean. Existuje i řada dalších podobných látek, jako např. metsulfuron-methyl, thiasulfuron, tribenuron, triasulfuron, amidosulfuron, rimsulfuron, triflusaluron a další. Tyto herbicidy jsou netoxické pro živočichy. Inhibiční působení je založeno na vazbě těchto sloučenin na vazebném místě enzymu ALS pro herbicid. Toto místo je jiné než místo pro vazbu substrátu i pro vazbu látky, která zprostředkovává zpětnou vazbu. Některé kulturní rostliny (obilniny, kukuřice, cukrovka a sója) jsou tolerantní k některým herbicidům tohoto typu, a proto se u nich herbicid používá k hubení plevelů.

Jiný, účinnější typ tolerance k ALS-herbicidům je důsledkem mutace genu pro enzym v místě, které kóduje vazebné místo herbicidu na enzymu. Enzym se potom stává necitlivý k herbicidům. Takovéto mutace byly u rostlin selektovány na základě získání rezistence k herbicidům, které blokují ALS. Některé mutanty jsou tolerantní ke specifickým typům herbicidů, jiné ke všem typům herbicidů, které blokují ALS. Mutace byly získávány klasickou mutagenézí, ale také u klonovaných genů *in vitro* cílenou mutagenézí. Enzym, který je pak kódován, je odolný k herbicidům blokujícím ALS. Klonované mutované geny jsou využívány jako transgeny a jsou vnášeny do genomu kulturních rostlin s cílem získat rezistentní transgenní rostliny. Využívají se především dva geny, *csrl-1* z *Arabidopsis thaliana*

(Haughn, Sommerville, 1986) a gen *SuRB/Hra* z tabáku (Lee et al., 1990). *Arabidopsis thaliana* má jen jeden gen pro ALS, jehož exprese je konstitutivní (Mazur et al., 1987). *Nicotiana tabacum* má dva geny pro ALS, které pochází od druhů, z nichž je *N. tabacum* odvozena, tedy od *N. tomentosiformis* a *N. sylvestris* (Lee et al., 1988), a jejich exprese je rovněž konstitutivní (Keeler et al., 1993). Kopie cDNA mutovaného genu ALS byla získána také ze dvou různých mutantů *Brassica napus* (Wiersma et al., 1989; Hattori et al., 1995).

Gen *Arabidopsis thaliana csr1-1* je nejvíce využíván k modifikaci různých druhů rostlin, jako čekanky (Vermuelen et al., 1992), topolu (Brasiliero et al., 1992), rýže (Li et al. 1992), jabloně (Yao et al., 1995), lnu (McHughen, Holm, 1995), jarní řepky (Blackshaw et al., 1994) a tabáku (Bandle et al., 1995). Tento gen byl přenášen jednak s vlastním promotorem a jednak se silným konstitutivním zdvojeným promotorem 35S (s duplikovanou sekvencí zesilovače) (Brasiliero et al., 1992; Tournour et al., 1993). U transgenu s vlastním promotorem byla exprese proteinu nízká, s promotorem 35S byla vysoká. Ve všech případech však transgenní rostliny vykazovaly úplnou rezistenci k chlorsulfuronu při běžně užívaných dávkách polních ošetření (Brasiliero et al., 1992). Již původní promotor tedy podmiňuje dostatečnou úroveň rezistence. V ostatních znacích transgenní rostliny s genem pro ALS nevykazují žádné rozdíly proti rostlinám netransgenním.

Herbicidey, které blokují acetylaktátsyntetázu: ekologické a toxikologické studie tolerantních a transgenních rostlin

Podstatnou otázkou je, zda se transgenní rostliny rezistentní k herbicidům, které blokují aktivitu ALS, mohou stát plevelnými, nebo zda mohou znak odolnosti k herbicidům přenést do plevelných druhů.

Rezistence k chlorsulfuronu vzniká také mutačnick cestou. Je proto důležitá rotace plodin a výsev plodin s rezistencí k chlorsulfuronu až v intervalu jednou za několik let. Předpokládá se, že kdyby se chlorsulfuron na určitém poli používal neustále, za tři až pět let by se zde nahromadily plevele k herbicidu rezistentní. V praxi se ale herbicid používá v obilnin po dobu více než 10 let a zatím nebylo významné zvýšení výskytu tolerantních plevelů zaznamenáno.

Některé druhy kulturních rostlin, zvláště obilniny, sója, některé konifery a cukrovka, mají přirozenou toleranci k selektivním hladinám jednoho nebo více typů ALS herbicidů. Přirozeně tolerantní kulturní rostliny obsahují jiné metabolity chlorsulfuronu a dalších ALS blokujících herbicidů než rostliny transgenní. U transgenních rostlin zůstává herbicid navázan na stále v nich přítomný senzitivní ALS enzym, nebo přetrvává v nevázané formě v buňce.

Co se týče samotného herbicidu chlorsulfuronu, jeho akutní toxicita LD50 pro krysy je nepatrná, zhruba

5 g/kg živé hmotnosti, přičemž herbicid se aplikuje v nepatrných množstvích (4–15 g účinné látky/ha).

Vzhledem ke všem uvedeným skutečnostem je možné geneticky modifikované rostliny obsahující transgen ALS považovat za bezpečné z hlediska konzumace.

Transgeny pro toleranci k dalším herbicidům

Jednou z látek využívaných také jako herbicid, u níž je znám transgen, který podmiňuje toleranci, je kyselina 2,4-dichlorofenoxyoctová (2,4-D). Již před více než třiceti lety byly zjištěny půdní bakterie schopné 2,4-D degradovat (Steenenson, Walker, 1957). Schopnost degradovat tuto chemickou látku byla pak zjištěna opakovaně i u dalších organismů (Don, Pemberton, 1981; Evans et al., 1971; Tiedje et al., 1969). V bakterii *Alcaligenes eutrophus* je degradace 2,4-D podmíněna šesti geny. Aktivita prvního z genů (*tfdA*), genu pro 2,4-D monooxygenázu, mění 2,4-D na 2,4-dichlorofenol, který je pro rostliny méně toxický než 2,4-D (Perkins et al., 1987). Tento gen byl přenesen do genomu tabáku (Lyon et al., 1989; Streber, Willmitzer, 1989) a bavlníku (Lyon et al., 1993), kde zvyšoval odolnost k 2,4-D 50 až 100krát. 2,4-D je biodegradovatelná látka – v důsledku činnosti půdních bakterií, kvasinek a hub v půdě přezívá jen pět až šest týdnů (Don, Pemberton, 1981).

Podobná situace je u tolerance k bromoxynilu. Herbicid bromoxynil (3,5-dibromo-4-hydroxybenzotrinitril) je fotosyntetický inhibitor, který u rostlin inhibuje fotosystém II. Má v půdě velmi krátkou životnost, protože je rozkládán bakteriemi. Byl klonován gen (*bxn*) jedné z půdních bakterií *Klebsiella azoleae*, který kóduje enzym nitrilázu, specifickou pro bromoxynil. Ta mění bromoxynil na kyselinu 3,5-bromo-4-hydroxybenzoovou za uvolnění amoniaku. Tento gen byl přenesen do genomu tabáku, kde způsobuje odolnost k bromoxynilu (Stalker et al., 1988).

Spíše historický význam má transgenozé pro toleranci k triazinu. Herbicid typu S-triazinu (atrazin, simazin a další) rovněž inhibují fotosyntézu. Atrazin se váže na protein thylakoidní membrány chloroplastů a blokuje transport elektronů u fotosystému II. Chloroplastový gen pro odpovídající protein je označován *psbA* a protein v upravené formě 32 kDa protein (Bottermann, Leemans, 1988). Byl zkonstruován chimérický gen, který obsahoval kódující sekvenci *psbA* z *Amaranthus hybridus* a sekvenci pro tranzitní peptid, a vnesen do genomu tabáku, kde působil toleranci (Cheung et al., 1988). V současné době se však již herbicidey této skupiny příliš nevyužívají.

Velkou a poměrně novou skupinou herbicidů, u nichž existují transgeny pro toleranci, které byly včleňovány do rostlinného genomu, jsou herbicidey působící toxicky na specifické proteiny fotosyntézy. Jedním z nich je phenmedipham. Patří do série karbamátových sloučenin, které působí jako inhibitory Hillovy reakce. Některé rostliny (špenát, jahody, cukrovka a některé další) jsou k této sloučenině tolerantní. U ře-

py je phenmedipham hydrolyzován na N-hydroxyphenmedipham, který je rovněž herbicidně aktivní. Ten je však glykozylován na herbicidně neaktivní glykozid (Streber, Willmitzer, 1989). Podobný enzym, který hydrolyzuje phenmedipham, byl také klonován z bakterie *Arthrobacter oxidans* (Pohlenz et al., 1992). Transgen s 35S promotorem byl přenesen do genomu tabáku, kde způsobuje vysoký stupeň rezistence k phenmediphamu (Streber et al., 1994).

Zhodnocení obecných rizik používání transgenních rostlin tolerantních k herbicidům

Z hlediska rizik pro člověka, uvedených v úvodu článku, je možné na základě provedeného rozboru konstatovat, že používání samotných transgenních rostlin s transgeny pro toleranci k herbicidům nepředstavuje žádná podstatná nová rizika. Prozatím nebyly prostudovány možné vlivy některých minoritních metabolitů, ale to platí víceméně pro všechny pesticidy, nejen pro herbicidy používané pro ošetřování k nim tolerantních transgenních rostlin.

Co se týče ekologických rizik používání rostlin tolerantních k herbicidům a herbicidů pro jejich ošetřování, u některých rostlin (např. řepky olejné a cukrovky) je nutné předpokládat stochastickou možnost, i když s velmi malou pravděpodobností, přenosu do netransgenních odrůd i do genomu plevelných rostlin. Otázkou je, zda je to na závidu jejich využití. Důsledkem většího rozšíření transgenů do běžných plevelů by byla nutnost vzdát se na určitou dobu využití příslušného herbicidu k potlačování plevelů u transgenních rostlin. To by jistě byla škoda, ne však pohroma. Rozšíření transgenů do nežádoucích genotypů lze předejít dodržováním běžných agrotechnických zásad. Tím se zde myslí především střídání plodin a nepoužívání téhož herbicidu na témže poli více let po sobě. Transgeny řepky pro toleranci k různým herbicidům byly však v zemích EU povoleny k pěstování, prozatím do zkoušek pro registraci odrůd. Přísná izolační opatření budou samozřejmě nezbytná při výrobě osiva.

Závěr

Z uvedených výsledků vyplývá, že využití veškerých uvedených transgenů pro odolnost k herbicidům je možné pokládat za bezpečné pro přírodní prostředí, zvířata i pro člověka. Transgenní rostliny tolerantní k herbicidům je možné bez obav pěstovat a ošetřovat herbicidy na velkých plochách. Neznamená to ovšem, že by nebylo potřebné další studium některých specifických otázek. Pěstování transgenních rostlin bude vyžadovat také nové přístupy ze strany šlechtitelů i pěstitelů. Pěstitelé by měli získat základní znalosti o povaze materiálu, s kterým pracují, o základních zákonitostech genetiky a šlechtění transgenních rostlin. Samozřejmým předpokladem využívání transgenních rostlin rezistentních k určitým herbicidům je střídání transgenních kultur ošetřovaných herbicidy s kulturami

netransgenními bez aplikace herbicidů. V budoucnosti bude zákonitě nutná spolupráce genových inženýrů, šlechtitelů a ekologů.

LITERATURA

- AMRHEIN, N. – JOHANNING, D. – SHAB, J. – SCHULZ, A. (1983): Chemical basis for glyphosate tolerance in a bacterium and plant tissue culture. *FEBS Letters*, 157: 191–196.
- BARRY, G. – KISHORE, G. M. – PADGATTE, S. – TAYLOR, M. – KOLACZ, K. – WELDON, M. – RE, D. – EICHHOLTZ, D. – FINCHER, K. – HALLAS, L. (1992): Inhibitors of amino acid biosynthesis: strategies for importing glyphosate tolerance to crop plants. In: SINGH, B. K. – FLORES, H. E. – SHANNON, J. C. (Eds.): *Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants*. American Society of Physiologists: 139–145.
- BAYER, E. – GUGEL, K. H. – HÄGELE, K. – HAGENMEIER, H. – JESSIPOW, S. – KÖNIG, W. A. – ZÄHNER, H. (1972): Phosphinothricin und Phosphinothricinyl-Alanyl-Alanin. *Helv. Chim. Acta*, 55: 224–239.
- BLACKSHAW, R. E. – KANASHIRO, D. – MOLONEY, M. M. – CROSBY, W. L. (1994): Growth, yield and quality of canola expressing resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Canad. J. Plant Sci.*, 74: 745–751.
- BOTTERMAN, J. – LEEMANS, J. (1988): Engineering herbicide resistance in plants. *Trends Genet.*, 4: 219–221.
- BOTTERMAN, J. – GOSSELE, V. – THOEN, C. – LAUVEREYS, M. (1991): Characterization of phosphinothricin acetyltransferase and C-terminal enzymatically active fusion proteins. *Gene*, 102: 33–37.
- BRANDLE, J. E. – McHUGH, S. C. – JANMES, L. – LABBÉ, H. – MIKI, B. L. (1995): Instability of transgene expression in field grown tobacco carrying the *csr-1* gene for sulfonyleurea herbicide resistance. *Biotechnology*, 13: 994–998.
- BRASILIERO, A. C. M. – TOURNEUR, C. – LEPLÉ, J. C. – COMBES, V. – JOUANIN, L. (1992): Expression of the mutant *Arabidopsis thaliana* acetolactate synthase confers chlorosulfuron resistance to transgenic poplar plants. *Transgenic Res.*, 1: 133–141.
- BRONSTAD, J. O. – FRIESTAD, H. O. (1985): Behaviour of glyphosate in the aquatic environment. In: GROSSBARD, E. – ATKINSON, D. (Eds.): *The Herbicide Glyphosate*. London, Butterworths: 200–205.
- BUDAVARI, S. – O'NEIL, M. J. – SMITH, A. – HECKELMAN, P. E. (1989): *The Merck index – an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 11th ed. Rathway, N.Y., USA, Merck and Co., Inc. 1606 s.
- COMAI, L. – SEN, L. C. – STALKER, D. M. (1983): An altered *aroA* gene product confers resistance to the herbicide glyphosate. *Science*, 221: 370–371.
- COMAI, L. – FACCIOTTI, D. – HIATT, W. R. – THOMPSON, G. – ROSE, R. E. – STALKER, D. M. (1985): Expression in plants of a mutant *aroA* gene from *Salmonella typhimurium* confers tolerance to glyphosate. *Nature*, 317: 741–744.
- COMAI, L. – STALKER, D. M. (1986): Mechanism of action of herbicides and their molecular manipulation. *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology*, 3: 166–195.

- DELLANEY, X. et al. (1995): Yield evaluation of a glyphosate tolerant soybean line after treatment with glyphosate. *Crop Sci.*, 35: 1461-1467.
- DELLA-CIOPPA, G. – BAUER, S. C. – TAYLOR, M. L. – ROCHESTER, D. E. – KLEIN, B. K. – SHAH, D. M. – FRALEY, R. T. – KISHORE, G. M. (1987): Targeting a herbicide-resistant enzyme from *Escherichia coli* to chloroplasts of higher plants. *Biotechnology*, 5: 579-584.
- DEVINE, M. D. – DUKE, S. O. – FEDTKE, C. (1993): Physiology of herbicide action. New Jersey, USA, PTR Prentice Hall, Englewood. 441 p.
- DON, R. H. – PEMBERTON, J. M. (1981): Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes eutrophus* and *Alcaligenes paradoxus*. *J. Bact.*, 145: 681-686.
- DONAHUE, R. A. – DAVIS, T. D. – MICHLER, C. H. – RIMENSCHNEIDER, D. E. – CARTER, D. R. – MARQUARDT, P. E. – SHANKLA, N. – SHANKLA, D. – HAISSIG, B. E. – ISEBRANDS, J. G. (1994): Growth, photosynthesis and herbicide tolerance of genetically modified hybrid poplar. *Canad. J. Forest Res.*, 24: 2377-2383.
- DRÖGE-LASER, W. – SIEMELING, U. – PÜHLER, A. – BROER, I. (1994): The metabolites of the herbicide-L-phosphinothricin (glufosinate). *Plant Physiol.*, 105: 159-166.
- EBERT, E. – LEIST, K. H. – MAZER, D. (1990): Summary of safety evaluation toxicity studies of glufosinate ammonium. *Food Chem. Toxicol.*, 28: 339-349.
- EJSACKERS, H. (1985): Effect of glyphosate on the soil fauna. In: GROSSBARD, E. – ATKINSON, D. (Eds.). *The Herbicide Glyphosate*. London, Butterworths: 151-158.
- EVANS, C. – SMITH, B. S. W. – FERNLEY, H. N. – DAVIES, J. I. (1971): Bacterial metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetate. *Biochem. J.*, 122: 543-551.
- FILLATTI, J. J. – KISER, J. – ROSE, R. – COMAI, L. (1987): Efficient transfer of a glyphosate tolerance gene into tomato using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Biotechnology*, 5: 726-730.
- FILLATI, J. J. – HAISSING, B. – McCOWN, L. – RIEMENSCHEIDER, D. (1988): Development of glyphosate-resistant *Populus* plants through expression of a mutant *aroA* gene from *Salmonella typhimurium*. In: HANOVER, J. W. – KEYSTHLEY, D. E. (Eds.). *Genetic Manipulation of Woody Plants*. New York, Plenum Press: 243-249.
- GOLDSBROUGH, P. B. – HATCH, E. M. – HUANG, B. – KOSINSKI, W. G. – DYER, W. E. – HERRMANN, K. M. – WELLER, S. C. (1990): Gene amplification in glyphosate tolerant tobacco cells. *Plant Sci.*, 72: 53-62.
- GOLLUB, E. – ZALKIN, H. – SPRINSON, D. B. (1967): Correlation of genes and enzymes and studies on regulation of the aromatic pathway in *Salmonella*. *J. Biol. Chem.*, 242: 5323-5328.
- GOUGLER, J. – GEIGER, D. (1981): Uptake and distribution of glyphosate in sugar beet plants. *Plant Physiol.*, 68: 668-672.
- GROSSBARD, E. (1985): Effect of glyphosate on the microflora: with reference to the decomposition of treated vegetation and interaction with some plant pathogens. In: GROSSBARD, E. – ATKINSON, D. (Eds.). *The Herbicide Glyphosate*. London, Butterworth: 159-185.
- HATTORI, J. – BROWN, D. – MOURAD, G. – LABBÉ, H. – QUELLET, T. – SUNOHARA, G. – RUTLEDGE, G. – KING, J. – MIKI, B. (1995): An acetohydroxy acid synthase mutant reveals a single site involved in multiple herbicide resistance. *Mol. Gen. Genet.*, 246: 419-452.
- HAUGHN, G. W. – SOMERVILLE, C. (1986): Sulfonylurea-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.*, 204: 430-434.
- HINCHEE, M. A. W. – CONNER-WARD, D. V. – NEWELL, C. A. – McDONNELL, R. E. – SATO, S. J. – GASSER, C. S. – FISCHHOFF, D. A. – RE, D. B. – FRALEY, R. T. – HORSCH, R. B. (1988): Production of transgenic soybean plants using *Agrobacterium*-mediated gene transfer. *Biotechnology*, 6: 915-922.
- CHEUNG, A. Y. – BOGORAD, L. – VAN MONTAGU, M. – SCHELL, J. (1988): Relocating a gene for herbicide tolerance: a chloroplast gene is converted into a nuclear gene. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 85: 391-395.
- JACOB, G. S. – GARBOW, J. R. – HALLAS, L. E. – KIMACK, N. M. – KISHORE, G. M. – SCHAEFER, J. (1988): Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. strain LBr. *Appl. Env. Microb.*, 54: 2953-2958.
- JORDAN, M. C. – McHUGHEN, A. (1988): Glyphosate tolerant flax plants from *Agrobacterium* mediated gene transfer. *Plant Cell Rep.*, 7: 281-284.
- KEELER, S. J. – SANDERS, P. – SMITH, J. K. – MAZUR, J. (1993): Regulation of tobacco acetolactate synthase gene expression. *Plant Physiol.*, 102: 1009-1018.
- KHAN, S. U. – YOUNG, J. C. (1977): N-nitrosamine formation in soil from the herbicide glyphosate. *J. Agric. Food Chem.*, 25: 1430-1432.
- KISHORE, G. M. – BRUNDAGE, L. – KOLK, K. – PADGETTE, S. R. – ROCHESTER, D. – HUYNH, O. K. – DELLA-CIOPPA, G. (1986): Isolation, purification and characterization of a glyphosate-tolerant mutant of *E. coli* EPSP synthase. *Federation Proc. Amer. Soc. Exptl. Biol.*, 145: 1506.
- KISHORE, G. M. – BARRY, G. F. (1992): Glyphosate tolerant plants. US Patent, 1992, PCT/US91/04514.
- KISHORE, G. M. – SHAH, D. M. (1988): Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Ann. Rev. Biochem.*, 57: 627-663.
- KISHORE, G. M. et al. (1988): 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. From biochemistry to genetic engineering of glyphosate tolerance. In: HEDIN, P. A. – MENN, J. J. – HOLLINGWORTH, R. M. (Eds.). *Biotechnology for Crop Protection*. ACS Symposium Series No. 379: 37-48.
- KLEE, H. J. – MUSKOPF, Y. M. – GASSER, C. S. (1987): Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Mol. Gen. Genet.*, 210: 437-442.
- LEA, P. J. – JOY, K. W. – RAMOS, J. L. – GUARRERO, M. G. (1984): The action of 2-amino-4-(methylphosphinyl)butanoic acid (phosphinothricin) and its 2-oxo-derivative on the metabolism of cyanobacteria and higher plants. *Phytochemistry*, 23: 1-6.
- LEE, K. Y. – LUND, P. – LOWE, K. – DUNSMUIR, P. (1990): Homologous recombination in plant cells after *Agrobacterium*-mediated transformation. *Plant Cell*, 2: 415-425.

- LEE, K. Y. – TOWNSEND, J. – TEPPERMAN, J. – BLACK, M. – CHUI, C. F. – MAZUR, B. – DUNSMUIR, P. – BEDBROOK, J. (1988): The molecular basis of sulfonyleurea herbicide resistance in tobacco. *EMBO J.*, 7: 1241–1248.
- LI, Z. – HAYASHIMOTO, A. – MURAI, N. (1992): A sulfonyleurea herbicide gene from *Arabidopsis thaliana* as a new selectable marker for production of fertile transgenic rice plants. *Plant Physiol.*, 100: 662–668.
- LINDHOUD, W. M. (1984): HOE 39866 (Glufosinate-ammonium), state of development and prospects of the Netherlands. *Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent*, 49: 1085–1090.
- LIU, C. M. – McLEAN, P. A. – SOOKDEO, C. C. – CANNON, F. C. (1991): Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family *Rhizobiaceae*. *Appl. Env. Microbiol.*, 57: 1799–1804.
- LYON, B. R. – COUSINS, Y. L. – LLEWELLYN, D. J. – DENNIS, E. S. (1993): Cotton plants transformed with a bacterial degradation gene are protected from accidental spray drift damage by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Transgenic Res.*, 2: 162–169.
- LYON, B. R. – LLEWELLYN, D. J. – HUPPATZ, J. L. – DENNIS, E. S. (1989): Expression of a bacterial gene in transgenic tobacco plants confers resistance to the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Plant Mol. Biol.*, 13: 533–540.
- MALIK, J. – BARRY, G. – KISHORE, G. M. (1989): The herbicide glyphosate. *BioFactors*, 2: 17–25.
- MATSUNAKA, S. – NAKATA, M. – HIOKI, K. – NOGUCHI, Y. – YOSHITAKE, O. (1985): Comparison of the mode of action of chlorsulfuron between higher plants and animals. *Proc. Brit. Crop Protection Conf. Weeds*, Vol. 1: 139–145.
- MAZUR, B. J. – CHUI, C. F. – SMITH, J. K. (1987): Isolation and characterization of plant genes coding for acetolactate synthase, the target enzyme for two classes of herbicides. *Plant Physiol.*, 85: 1110–1117.
- McHUGHEN, A. – HOLM, F. A. (1995): Transgenic flax with environmentally and agronomically sustainable attributes. *Transgenic Res.*, 4: 3–11.
- MOLLENHAUER, C. – SMART, C. – AMERHEIN, N. (1987): Glyphosate toxicity in the shoot apical region of the tomato plant. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 29: 55–65.
- NAFZIGER, E. D. – WIDHOLM, J. M. – STEINRÜCKEN, H. C. – KILLMER, J. L. (1984): Selection and characterization of a carrot cell line tolerant to glyphosate. *Plant Physiol.*, 76: 571–574.
- NAP, J. P. – METZ, P. L. J. – STIEKEMA, W. J. (1996): A transgene-centered evaluation of genetically modified plants. Part 3. Biosafety of genetically modified glyphosate-tolerant plants. By order of: Ministry of Economic Affairs, Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment.
- NICKSON, T. E. – FUCHS, R. L. – MITCHELL, A. H. – PADGETTE, S. R. (1994): The development, benefits and safety assessment of Roundup ready oilseed rape (canola). *Proc. ISHS Symp. on Brassicas: Ninth Crucifer Genetics Workshop*, Lisbon (Portugal), 15–19 November 1994 (Abstr.)
- ONDŘEJ, M. (1997): Transgeny pro šlechtění rostlin. *Genet. a Šlecht.*, 33: 135–160.
- PADGETTE, S. R. – DELLA-CIOPPA, G. – SHAH, D. M. – FRALEY, R. T. – KISHORE, G. M. (1989): Selective herbicide tolerance through protein engineering. In: SCHELL, J. – VASIL, K. I. (Eds.): *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*. Vol. 6. *Molecular Biology of Plant Nuclear Genes*. San Diego, Acad. Press: 44–476.
- PADGETTE, S. R. – RE, D. B. – GASSER, C. S. – EICHHOLZ, R. B. – FRAZIER, R. B. – HIRONAKA, E. B. – LEVINE, D. M. – SHAH, R. T. – FRALEY, R. T. – KISHORE, G. M. (1991): Site-directed mutagenesis of a conserved region of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase active site. *J. Biol. Chem.*, 266: 22364–22369.
- PADGETTE, S. R. – KOLACZ, K. H. – DELANNAY, X. – RE, D. B. – LAVALLEE, B. J. – TINIU, C. N. – RHODES, W. K. – OTERO, Y. I. – BARRY, G. F. – EICHHOLZ, D. A. – PESCHKE, V. M. – NIDA, D. L. – TAYLOR, N. B. – KISHORE, G. M. (1995): Development, identification and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Sci.*, 35: 1451–1461.
- PERKINS, E. J. – STIFF, C. M. – LURQUIN, P. F. (1987): The use of *Alcaligenes eutrophus* as a source of genes for 2,4-D resistance in plants. *Weed Sci.*, 35 (Suppl.): 12–18.
- POHLENZ, H. D. – BOIDOL, W. – SCHÜTTKE, I. – STREIBER, W. R. (1992): Purification and properties of the *Arthrobacter oxydans* P54 carbamate hydrolase specific for the herbicide phenmedipham and nucleotide sequence of the corresponding gene. *J. Bact.*, 174: 6600–6607.
- RACCHI, M. L. – REBECCHI, M. – TODESCO, G. – NIELSEN, E. – FORLANI, G. (1995): Glyphosate tolerance in maize (*Zea mays* L.). 2. Selection and characterization of a tolerant somaclone. *Euphytica*, 82: 165–173.
- SEILER, J. P. (1977): Nitrosation *in vitro* and *in vivo* by sodium nitrite and mutagenicity of nitrogenous pesticides. *Mutation Res.*, 48: 225–236.
- SHAH, D. M. – HORSCH, R. B. – KLEE, H. J. – KISHORE, G. M. – WINTER, J. A. – TUMER, N. E. – HIRONAKA, C. M. – SANDERS, P. R. – GASSER, C. S. – AYKENT, S. – SIEGEL, N. R. – ROGERS, S. G. – FRALEY, R. T. (1986): Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. *Science*, 233: 478–481.
- SHIN, D. I. – PODILA, G. K. – HUANG, Y. – KARNOSKI, D. F. – HUANG, Y. H. (1994): Transgenic larch expressing genes for herbicide and insect resistance. *Canad. J. Forest Res.*, 24: 2059–2067.
- SCHULZ, A. D. – AMRHEIN, N. (1984): Insensitivity of 5-enolpyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase to glyphosate confers resistance to this herbicide in a strain of *Aerobacter aerogenes*. *Archives Microb.*, 137: 121–123.
- SMART, C. C. – JOHÄNNING, D. – MÜLLER, G. – AMRHEIN, N. (1985): Selective overproduction of 5-enolpyruvylshikimate acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. *J. Biol. Chem.*, 260: 16338–16346.
- SMITH, C. M. – PRATT, D. – THOMPSON, G. A. (1986): Increased 5-enolpyruvateshikimic acid-3-phosphate synthase activity in a glyphosate-tolerant variant strain of tomato cells. *Plant Cell Reports*, 5: 298–301.
- SOST, D. – SCHULTZ, A. – AMRHEIN, N. (1984): Characterization of a glyphosate-insensitive 5-enolpyruvates-

- hikimic acid-3-phosphate synthase. *FEBS Letters*, 173: 238–242.
- STALKER, D. M. – HIATT, W. R. – COMAI, L. (1985): A single amino acid substitution in the enzyme 5-enolpyruvateshikimate-3-phosphate synthase confers resistance to the herbicide glyphosate. *J. Biol. Chem.*, 260: 4724–4728.
- STALKER, D. M. – McBRIDE, K. E. – MALYI, L. D. (1988): Herbicide resistance in transgenic plants expressing a bacterial detoxification gene. *Science*, 242: 419–422.
- STEENSON, T. I. – WALKER, N. (1957): The pathway of breakdown of 2,4-dichloro- and 4-chloro-2-methyl-phenoxy-acetic acid by bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 16: 146–155.
- STEINRÜCKEN, H. C. – AMRHEIN, N. (1984): 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae*. I. Purification and properties. *Europ. J. Biochem.*, 143: 351–357.
- STEINRÜCKEN, H. C. – SCHULTZ, N. – AMRHEIN, N. – PORTER, C. A. – FRALEY, R. T. (1986): Overproduction of 5-enolpyruvateshikimate-3-phosphate synthase in a glyphosate-tolerant *Petunia hybrida* cell line. *Arch. Biochem. Biophys.*, 244: 169–178.
- STREBER, W. R. – WILLMITZER, L. (1989): Transgenic tobacco plants expressing a bacterial detoxifying enzyme are resistant to 2,4-D. *Biotechnology*, 7: 811–816.
- STREBER, W. R. – KUTSCHKA, U. – THOMAS, F. – POHLEHZ, H. D. (1994): Expression of a bacterial gene in transgenic plants confers resistance to the herbicide phenmedipham. *Plant Mol. Biol.*, 25: 977–987.
- SUBRAMANIAN, M. V. – HUANG, H. Y. – DIAS, J. M. – MINER, V. W. – BUTLER, J. H. – JACHETTA, J. J. (1990): Properties of mutant acetolactate synthase resistant to triazopyrimidine sulfonanilide. *Plant Physiol.*, 94: 239–244.
- SULLIVAN, T. P. (1985): Effects of glyphosate on selected species of wildlife. In: GROSSBARD, E. – ATKINSON, D. (Eds.): *The Herbicide Glyphosate*. London, Butterworths: 186–199.
- TACHIBANA, K. – WATANABE, T. – SEKIZUWA, Y. – TAKEMATSU, T. (1986): Accumulation of ammonia in plants treated with bialaphos. *J. Pesticide Sci.*, 11: 33–37.
- TEBBE, C. C. – REBER, H. H. (1988): Utilization of the herbicide phosphinothricin as a nitrogen source by soil bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 29: 103–105.
- THOMPSON, G. A. – HIATT, W. R. – FACCIOTTI, D. – STALKER, D. M. – COMAI, L. (1987): Expression in plants of bacteria gene coding for glyphosate resistance. *Weed Sci.*, 35 (Suppl. 1): 19–23.
- TIEDJE, J. M. – DUXBURY, J. M. – ALEXANDER, M. – DAWSON, J. E. (1969): 2,4-D metabolism pathway of degradation of chloroacetatechols by *Arthrobacter* species. *J. Agric. Food Chem.*, 17: 1021–1026.
- TOOBY, T. E. (1985): Fate and biological consequences of glyphosate in the aquatic environment. In: GROSSBARD, E. – ATKINSON, D. (Eds.): *The Herbicide Glyphosate*. London, Butterworths: 221–240.
- TOURNEUR, C. – JOUANIN, L. – VAUCHERET, H. (1993): Over-expression of acetolactate synthase confers resistance to valine in transgenic tobacco. *Plant Sci.*, 88: 159–168.
- TRINKS, K. (1995): Studies on the phosphinothricin acetyltransferase gene and protein. *Mitt. Biol. Bundesanst.*, 309: 49.
- VERMUELEN, A. – VAUCHERET, H. – PAUTOT, V. – CHUPEAU, Y. (1992): *Agrobacterium*-mediated transfer of a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene confers resistance to chlorsulfuron in chicory (*Cichorium intybus* L.). *Plant Cell Rep.*, 11: 243–247.
- WALTER, C. – BROER, I. – HILLEMANN, D. – PÜHLER, A. (1992): High frequency heat treatment-induced inactivation of the phosphinothricin resistance gene in transgenic single-cell suspension cultures of *Medicago sativa*. *Mol. Gen. Genet.*, 235: 189–196.
- WIERSMA, P. A. – SCHMIEMANN, M. G. – CONDIE, J. A. – CROSBY, W. L. – MOLONEY, M. M. (1989): Isolation, expression and phylogenetic inheritance of the acetolactate synthase gene from *Brassica napus*. *Mol. Gen. Genet.*, 219: 413–420.
- WOHLLEBEN, W. – ARNOLD, W. – BROER, I. – HILLEMANN, D. – STRAUCH, E. – PÜHLER, A. (1988): Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viduochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*, 70: 25–37.
- YAO, J. L. – COHEN, D. – ATKINSON, R. – RICHARDSON, K. – MORRIS, B. (1995): Regeneration of transgenic plants from the commercial apple cultivar Royal Gala. *Plant Cell Rep.*, 14: 407–412.
- USDA: United States Department of Agriculture (1984). *Pesticide Background Statement*. Vol. 1. *Herbicides Agriculture Handbook*, No. 633: G1–G72.
- WHO: World Health Organization (1994): *Environmental Health Criteria 159; Glyphosate*. WHO, Geneva: 177.

Došlo 19. 11. 1997

Kontaktní adresa:

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc., Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: + 420 38 437 47, fax: + 42 414 75, e-mail: Ondrej@umbr.cas.cz, ray@umbr.cas.cz

NOVÉ ODRŮDY – NEW VARIETIES

Pšenice ozimá Alana

Povolena: Česká republika 1997

Slovenská republika 1997

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

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

Rodokmen: Hana x Mercia

Metoda šlechtění – rodokmenová: Křížení bylo provedeno v roce 1984, základní výběr klasů byl zahájen v generaci F₃, v generaci F₄ dvouřádkové mikroparcely, v generaci F₅ první výnosové zkoušky na parcelách 7 m² a rovněž reselekcce klasů. V generacích F₇ až F₉ byl hodnocen výnos zrna reselektovaných linií postupně ve staničních a mezistaničních zkouškách na parcelách 10 m² ve 2 až 4 opakováních. Selekcce na odolnost k hlavním chorobám byla započata od generace F₂, většinou umělými infekcemi padlím travním a rzemí, od F₆ *Septoria nodorum* a *Fusarium* sp. Podrobnější testování pekárenské jakosti, mrazuvzdornosti a odolnosti k prouřstání zrna a výtrolu bylo prováděno od generace F₇. Udržovací šlechtění bylo zahájeno v generaci F₈. Po tříletých registračních zkouškách ÚKZÚZ byla linie SG-U541 v generaci F₁₃ v roce 1977 registrována pod názvem Alana.

Odolnost k chorobám: Je středně odolná k padlí travnímu, rzi pšeničné a travní, vysoce odolná ke rzi plevelové, ve srovnání se sortimentem registrovaných odrůd vykazuje vyšší stupeň rezistence k bráničnatce plevové a fuzariózám klasu.

Genetické založení odolnosti: Dosud nebyl zjištěn žádný gen specifické odolnosti proti padlí travnímu, je předpoklad, že odolnost ke rzi travní a pšeničné je řízena dosud nepojmenovanými geny (+).

Jakost pekárenská A7. Vykazuje vyšší obsah bílkovin (13,4 %), dobrou sedimentační hodnotu (51 ml – SDS), vyšší číslo poklesu (320–360 ml), měrný objem pečiva při Rapid Mix testu je kolem 520 cm³/100 g. Objemová hmotnost je vyšší (nad 80 kg/hl) a HTZ je rovněž vyšší (kolem 50 g). Dobrou pekárenskou jakost potvrzují i gluteninové podjednotky: 7 + 8 a 5 + 10. Odolnost proti porůstání zrna v klasu je dobrá.

Mrazuvzdornost je dobrá, s kritickou teplotou (LT 50) v tříletém průměru kolem –12 °C.

Výnos zrna: V registračních zkouškách ÚKZÚZ dosáhla za zkušební období (1994–1996) v obilnářské a bramborářské oblasti v průměru 103–106 % výnosu kontrolních odrůd, v řepařské oblasti se výnosy pohybovaly kolem průměru kontrolních odrůd.

Ostatní vlastnosti: Je to polopozdní odrůda se střední délkou stébla (100–105 cm), střední až nižší odolností proti poléhání. Klas je bílý, Jehlancovitý, středně řídký, s krátkými osinkami v horní části klasu.

Winter wheat Alana

Registered: Czech Republic 1997

Slovak Republic 1997

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

Breeders and maintainer: SELGEN, a. s., Plant Breeding Station Úhřetice

Pedigree: Hana x Mercia

Breeding method – pedigree: Year of crossing 1984, basic ear selection started in F₃ generation, double row microplots in F₄, in F₅ first yield trials on 7m² plots and repeated ear selection. Grain yield was evaluated progressively at more locations in 2–4 replications with plot size 10 m² since F₇ to F₉. Screening for disease resistance was practised from F₂ mainly under artificial infections with mildew and rusts, from F₆ also with *Septoria nodorum* and *Fusarium* sp. More detailed analyses of baking quality, frost resistance, sprouting and shedding resistance were performed since F₇. Maintenance breeding started in F₈. After three years of official trials by ÚKZÚZ the line SG-U541 was registered in F₁₃ as variety Alana.

Disease resistance: Resistance to mildew, brown and stem rusts is moderate, resistance to yellow rust is high. In comparison to other registered varieties Alana proves a higher level of resistance to *Septoria nodorum* and *Fusarium* in ears.

Resistance genes: Mildew – no major gene, stem rust and brown rust (+) – till unnamed genes.

Quality: Baking quality A7, higher protein content (13.4%), good sedimentation value (51 ml – SDS), higher falling number (320–360 ml), loaf volume in Rapid Mix test around 520 cm³/100 g, volume weight higher (over 80 kg/hl), higher TKW (around 50 g). Good baking quality glutenin subunits also confirmed: 7 + 8 and 5 + 10. Good sprouting resistance.

Frost resistance is good, with the critical temperature (LT 50) in average of three years around –12 °C.

Grain yield: In official trials (1994–1996) it yielded 103–106% of the yield of control varieties in cereal and potato regions; the yields were at an average level in sugar beet region.

Other characteristics: A medium early variety, with medium plant length (100–105 cm), lodging resistance is medium or lower. The spike is white, tapering shape, medium lax with short scurs in the upper part of the ear.

Ing. Pavel Amler, Ing. Ludmila Bobková, CSc.
SELGEN, a. s., Šlechtitelská stanice Úhřetice, 538 32 Úhřetice
Tel.: 0455/69 29 13, fax: 0455/69 26 39

70 let činnosti Ústřední zemědělské a lesnické knihovny

Před 70 lety byla **18. března 1928** v „Domě zemědělské osvěty“ na Vinohradech v Praze **slavnostně otevřena Ústřední zemědělská a lesnická knihovna (ÚZLK)**. Po předchozím dvouletém období systematických příprav byly služby knihovny nabídnuty nejširší československé zemědělské veřejnosti. Statutárně byla knihovna založena Československou akademií zemědělskou (ČAZ) již v roce 1926. V prvních dvou letech její existence však fungovala jen čítárna, a to především pro pracovníky ČAZ. Po celou tuto dobu bylo veškeré úsilí soustředěno na vybudování dostatečného základního knihovního fondu a potřebného provozního knihovního zázemí. Cílem organizátorů bylo co nejdříve otevřít tuto knihovnu jako „**Ústřední slovanickou zemědělskou knihovnu**“, která bude sloužit nejen nejširší veřejnosti, ale současně bude plnit i funkci ústřední zemědělské knihovny pro všechny slovanské státy.

K slavnostnímu otevření knihovny došlo při výročním valném shromáždění ČAZ za účasti mnoha vzácných hostů. Hlavní projev přednesl tehdejší prezident ČAZ dr. Milan Hodža. Velkého lesku dodala tomuto slavnostnímu shromáždění přítomnost vyslanců několika slovanských zemí. Přítomni byli také zástupci čtyřech centrálních státních úřadů, vědeckých institucí, výzkumných úřadů a vysokých škol. Zúčastnili se i významní představitelé československého knihovnictví, např. dr. Z. Tobolka a další. Ministr zemědělství dr. O. Srdínko, který se nemohl slavnosti zúčastnit osobně, poslal valnému shromáždění pozdravný dopis, ve kterém vřelými slovy uvítal „...dnešní otevření Ústřední slovanské zemědělské knihovny, jež ... bude jednou z největších knihoven vůbec“. Tento nový oficiální název knihovny byl pak užíván až do prvních válečných let.

I vývoj v příštích 70 letech dosvědčuje, že knihovna opravdu dostala slovům tehdejšího ministra zemědělství. V současné době se ÚZLK řadí nejen velikostí svých knihovních fondů mezi největší odborné zemědělské knihovny na světě. V knihovně je k dispozici více než milion svazků odborné literatury. ÚZLK poskytuje nejširší škálu výpůjčních, informačních a reprografických služeb. V rámci mezinárodní sítě AGLINET spolupracuje i s partnerskými knihovnami v zahraničí. Slouží jako veřejná knihovna nejen jejím přímým návštěvníkům, ale prostřednictvím meziknihovních služeb i všem ostatním potenciálním uživatelům.

70leté výročí otevření ÚZLK si pracovníci knihovny a její příznivci připomenou na slavnostním shromáždění, které se bude konat 25. května 1998 ve velkém sále budovy ÚZPI v Praze 2, Slezská 7.

K této příležitosti bude vydána komentovaná bibliografie „Historie Ústřední zemědělské a lesnické knihovny ve světle literárních pramenů“.

Kontakt:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna
Slezská 7, 120 56 Praha 2 – pošt. schr. 39

Tel: 02/24 25 50 74 – PhDr. I. Hoch, vedoucí ÚZLK

02/24 25 79 39, l. 415 – půjčovna

02/25 90 96 – referenční služby

02/24 25 66 10 – časopisecké služby

Fax: 02/24 25 39 38, e-mail: ref@uzpi.cz

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The responsibility for the contents of a manuscript rests with the authors. They are strongly advised to get a critical review before submitting a manuscript. The Editorial Board will decide on publication, after considering the manuscripts scientific importance, contribution and quality, and the opinions and reviews by experts.

The manuscript should be typed with a wide margin, double spaced on standard A4 paper. A PC diskette with the complete text and including references, tables and figure legends of graphical documentation should be provided with manuscript, indicating the used editor program.

Manuscript should consist of the following sections: Title page, Abstract, Keywords, an instruction, Materials and Methods, Results, Discussion, References, Tables, Legends to figures.

The Title page must contain a informative title, complete name(s) of the author(s), the name(s) and address(es) of the institution(s) 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 should state in short and concise form what was done and how, and should contain basic numerical and statistical data from the results. Keywords follow the abstract; they are ranked from general to specific terms, and are written in lower case letters and separated by semicolons.

The introduction (without a subtitle) should consist of a short review of literature relevant and important for the study. The reason(s) for the work may be included.

In **Materials and Methods**, the description of experimental procedures should be sufficient to allow replication. Organisms must be identified by scientific name, including author. Abbreviations can be used if necessary; first use of an abbreviation should be just after its complete name or description. The International System of Units (SI) and their abbreviations should be used.

Results should be presented clear and concise.

The **Discussion** should interpret the results, without unnecessary repetition. Sometimes it is possible or advantageous to combine Results and Discussion in one section.

If Acknowledgments are needed, they are next.

References in the text to citations consist of author's name and year of publication. If there are more than two authors, only the first is named, followed by the phrase 'et al.'. The list of References should include only publications quoted in the text. These should be in alphabetical order under the first author's name, citing all authors, year (in brackets), full title of the article, abbreviation of the periodical, volume number, first and last page numbers.

Tables and Figures shall be enclosed separately. Tables are numbered in Roman, Figures in Arabic numerals. Each of them must be referred to in the text. Figures should be restricted to material essential for documentation and understanding of the text. Duplicated documentation of data in both tables and figures is not acceptable. All illustrative material must be of publishing quality. Both line drawing and photographs are referred to as figures. They cannot be redrawn by publisher. Photographs should have high contrast. Each figure should be accompanied by a concise, descriptive legend.

Reprint: Thirty (30) reprint of each paper are supplied free of charge.

POKYNY PRO AUTORY

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě práce.

Rukopis (text, tabulky, literatura, abstrakt a závěr) musí být psány s dvojitými mezerami mezi řádky na papíru formátu A4. K rukopisu je vhodné přiložit disketu s textem práce, popř. grafickou dokumentací pořízenou na PC s uvedením použitého programu.

Vědecké práce musí mít toto členění: titulní strana, abstrakt a klíčová slova, krátký přehled literatury (bez nadpisu úvod), materiál a metody, výsledky, diskuse, literatura, tabulky a obrázky včetně popisů.

Titulní strana musí obsahovat název práce, plné jméno autorů, název a adresu instituce, kde byla práce dělána, akademické, vědecké a pedagogické tituly, číslo telefonu a faxu a e-mail adresu kontaktního autora.

Souhrn musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit 120 slov. Klíčová slova (KEY words, index terms) se připojují po vynechání řádku pod souhrn. Řadí se směrem od obecnějších výrazů ke konkrétním; začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Materiál a metody: Model pokusu musí být popsán podrobně a výstižně. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl práci opakovat. Uváděné organismy je nutné popsat vědeckými jmény včetně autorů. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní. Zkratky jsou používány jen pokud je to nutné; první použití zkratky musí být uvedeno úplným popisem nebo vysvětlením. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat. Používané měrové jednotky musí odpovídat soustavě měrových jednotek SI.

Výsledky: Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních hodnot tabule a dát přednost grafům, anebo tabulky shrnout v statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část práce by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Je přípustné spojení s předchozí kapitolou (Výsledky a diskuse).

Literatura: Odkazy na literaturu v textu se provádějí uvedením jména autora a roku vydání publikace. Při větším počtu autorů se v textu uvádí první z nich a za jméno se doplní zkratka „et al.“. V části Literatura se uvádějí jen práce citované v textu. Citace se řadí abecedně podle jména prvního autora: příjmení (verzálkami), zkratka jména, rok vydání (v závorce), plný název práce, úřední zkratka časopisu, ročník, první–poslední stránka; u knih je uvedeno místo vydání a vydavatel.

Tabulky a obrázky: Tabulky, obrázky a fotografie se dodávají zvlášť a všechny musí být citovány v práci. Akceptovány budou jen obrázky, které jsou nebozbytné pro dokumentaci výsledků a umožňují pochopení textu. Není přípustné dokumentovat výsledky jak v tabulkách, tak na grafech. Všechny ilustrativní materiály musí mít kvalitu vhodnou pro tisk. Fotografie i grafy jsou v textu uváděny jako obrázky a musí být průběžně číslovány. Každý obrázek musí mít stručný a výstižný popis.

Separáty: Autor obdrží zdarma 30 separátních výtisků práce.

CONTENTS

Schwarzbach E.: The <i>mlo</i> based resistance of barley to mildew and the response of mildew populations to the use of varieties with the <i>mlo</i> gene (in English)	3
Griveau Y., Serieys H., Cleomene J., Belhassen E.: Yield evaluation of sunflower genetic resources in relation to water supply (in English)	11
Cagaš B.: The incidence of endophytic fungi <i>Neotyphodium</i> in seeds of some grass species (in Czech).....	17
Petr P.: Evaluation of resistance to potato leaf-roll virus (PLRV) in selected potato clones (in Czech).....	21
SHORT COMMUNICATION	
Vacke J., Šíp V., Škorpík M.: Barley yellow dwarf virus harmfulness on winter barley crops infected at an early growth stage (in Czech).....	27
REVIEW	
Ondřej M., Rakouský S., Schützner K.: Transgenic crops tolerant to herbicides (in Czech).....	31
FROM THE SPHERE OF SCIENCE	
Hanišová A.: From the VIIth breeder's seminar (Brno, 3rd Feb. 1998).....	20
Horčíčka P.: Application of marker aided selection in cereal breeding programs	30
NEW VARIETIES	
Amler P., Bobková L.: Winter wheat Alana.....	43

OBSAH

Schwarzbach E.: Odolnost ječmene k padlí podmíněná genem <i>mlo</i> a reakce populace padlí na pěstování odrůd s genem <i>mlo</i>	3
Griveau Y., Serieys H., Cleomene J., Belhassen E.: Hodnocení genetických zdrojů slunečnice v závislosti na suchovzdornosti.....	11
Cagaš B.: Výskyt endofytních hub rodu <i>Neotyphodium</i> v semenech některých druhů trav	17
Petr P.: Hodnocení rezistence k viru svinutky brambor (PLRV) u vybraných klonů brambor.....	21
KRÁTKÉ SDĚLENÍ	
Vacke J., Šíp V., Škorpík M.: Škodlivost viru žluté zakrslosti ječmene na ječmeni ozimém infikovaném v rané růstové fázi.....	27
PŘEHLEDY	
Ondřej M., Rakouský S., Schützner K.: Transgeny pro toleranci k herbicidům	31
Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA	
Hanišová A.: Ze VII. semináře šlechtitelů (Brno, 3. 2. 1998)	20
Horčíčka P.: Využití markerů při selekci ve šlechtitelských programech obilnin.....	30
NOVÉ ODRŮDY	
Amler P., Bobková L.: Pšenice ozimá Alana.....	43

Vědecký časopis CZECH JOURNAL OF GENETICS AND PLANT BREEDING (GENETIKA A ŠLECHTĚNÍ) ● Vydává Česká akademie zemědělských věd – Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Redakce: Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38 ● Sazba: Studio DOMINO – Ing. Jakub Černý, Bří. Nejedlých 245, 266 01 Beroun, tel.: 0311/229 59 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1998