

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Czech Journal of
**GENETICS AND
PLANT BREEDING**

Genetika a šlechtění

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

2

VOLUME 35
PRAGUE 1999
ISSN 1212-1975

CZECH JOURNAL OF GENETICS AND PLANT BREEDING

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture 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 Černý, DrSc., Ing. Antonín Fojtík, CSc., Ing. Alena Hanišová, prof. Ing. Oldřich Chloupek, DrSc., Ing. Josef Konrád, CSc., prof. Ing. Antonín Kováčik, DrSc., Ing. Josef Pešek, DrSc., prof. dr. Ing. Jan Rod, DrSc., RNDr. Erik Schwarzbach, dr. agr. habil., Ing. Josef Špunar, CSc., Ing. Jaroslav Tupý, DrSc.

Foreign Members of the Editorial Board – Zahraníční členové redakční rady

Dr. I. Bos (The Netherlands), Prof. Dr. V. A. Dragavcev (Russia), PD. Dr. A. Jahoor (Denmark), Prof. Dr. A. Mesterházy (Hungary), O. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. P. Ruckenbauer (Austria), Prof. Dr. Z. Staszewski (Poland), RNDr. D. Šubová (Slovak Republic), Ing. M. Užík, DrSc. (Slovak Republic)

Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Marie Černá, CSc.

Aims 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 35 appearing in 1999.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Marie Černá, CSc., editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1999 is 62 USD (Europe), 64 USD (overseas).

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

Periodicita: Časopis vychází čtvrtletně. Ročník 35 vychází v roce 1999.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Marie Černá, CSc., vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1999 je 232 Kč.

EVALUATION OF RESISTANCE TO BYDV WITH THE USE OF PCR MARKER LINKED TO Yd2 GENE IN COMPARISON WITH THE RESULTS OF FIELD INFECTION TESTS IN SPRING BARLEY*

HODNOCENÍ ODOLNOSTI K BYDV POMOCÍ PCR MARKERU SPOJENÉHO S GENEM Yd2 VE SROVNÁNÍ S VÝSLEDKY POLNÍCH TESTŮ U JARNÍHO JEČMENE

J. Ovesná, V. Šíp, J. Vacke, L. Kučera

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

ABSTRACT: To determine the suitability of recently derived PCR diagnostic marker (YLM) for application in marker-assisted breeding of BYDV-resistant spring barley lines, the selected spring barley cultivars that differ in response to the infection with BYDV in field trials and F3 lines of the Atlas 68/Jaspis cross segregating for Yd2 gene were used for analyses. With this marker the presence of Yd2 gene was detected in the resistant cultivars Atlas 68, Brea'S/Ben and the CIMMYT line Giza 121/Pue. Yd2 signal was not detected in the moderately resistant Czech cultivars Malvaz and Atribut and the five examined susceptible cultivars. Analyses of F3 plants of the Atlas 68/Jaspis cross revealed that this codominant PCR diagnostic marker, able to distinguish homozygous and heterozygous condition, may be a valuable tool for identification of resistant materials also on individual plant basis, which is difficult in field infection tests, highly influenced by environmental factors and other genes that affect plant development and appearance. Besides this, diagnosis by YLM marker was found in comparison with field tests less costly and time consuming.

Keywords: spring barley; resistance to BYDV; selection for gene Yd2; YLM diagnostic marker; field infection tests

ABSTRAKT: Ověřovali jsme možnost široké aplikace nedávno odvozeného PCR markeru YLM pro šlechtění jarního ječmene na odolnost k BYDV (šlechtění pomocí markerů). Použili jsme odrůdy jarního ječmene, které byly testovány v polních experimentech a byl určen stupeň jejich odolnosti/náchylnosti k BYDV, a F3 linie křížence Atlas 68 (Yd2)/Jaspis segregujícího v genu Yd2. Pomocí markeru byl gen potvrzen v odrůdách Atlas 68, Brea'S/Ben a u linie CIMMYT Giza 121/Pue. Gen nebyl detekován u středně odolných odrůd Atribut a Malvaz a u pěti testovaných náchylných odrůd. Analýza F3 rostlin křížence Atlas 68/Jaspis prokázala, že tento kodominantní marker, schopný rozlišovat heterozygotní a homozygotní sestavu genů, může být účinným nástrojem pro rozlišování genetické výbavy jednotlivých rostlin, což je v polních infekčních testech, ovlivněných často faktory prostředí, obtížné. Mimoto je diagnostika pomocí PCR markeru ve srovnání s polními testy levnější a časově méně náročná.

Klíčová slova: jarní ječmen; odolnost k BYDV; selekce genotypu Yd2; diagnostický marker YLM; polní infekční testy

INTRODUCTION

Barley yellow dwarf virus (BYDV), which belongs to a luteovirus group (RNA single stranded virus), is known to cause serious losses in the yield of barley in many parts of the world. The use of germplasm resistant to BYDV is generally regarded as the most effective means of controlling damage caused by this pathogen. In barley, the Yd2 gene of several Ethiopian accessions is the only effective BYDV resistance gene to have

been identified and used in breeding. The presence of Yd2 gene has been detected in several spring and winter barley cultivars (Burnett *et al.*, 1995) which have unfortunately rather poor malting quality and possess many other negative characters (Comeau, Jedlinski, 1990). Combining major gene Yd2 and minor genes, detected in Czech moderately resistant spring barley cultivars Malvaz and Atribut (Šíp *et al.*, 1997), appears to be the most prospective way to reach success in breeding barley for BYDV resistance.

* This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Grant No. 521/97/0749).

Evaluation of cultivar response to BYDV infection in glasshouse or field tests, which are costly, time consuming and depend also on environmental conditions, was until recently the only possibility how to determine BYDV resistance. In 1996, Collins *et al.* detected that Yd2 gene is located on the long arm of chromosome 3H near the centromere and found that Yd2 perfectly cosegregated with the RFLP loci *Xwg889* and *Xylp*. Paltridge *et al.* (1998) developed a codominant PCR diagnostic marker (YLM), converted from AFLP marker, which was obtained using two thousand double haploid lines of Proctor x Shannon cross and was verified on several other cultivars.

The main purpose of the presented study was to verify the possibility of the use of PCR diagnostic marker YLM in breeding spring barley for resistance to BYDV.

MATERIAL AND METHODS

Spring barley cultivars Atlas 68, Brea's/Ben, Giza 121/Pue (resistant to BYDV), Malvaz, Atribut (moderately resistant to BYDV), Jaspis, Akcent, Amulet, Novum, Rubin (susceptible to BYDV) and 120 F3 plants from the Atlas 68 (Yd2 gene)/Jaspis cross were used for analysis.

Field tests: Reactions to the infection with BYDV were studied in field trials, in which cultivars were grown on two row plots 1m long with three replicates (Vacke *et al.*, 1997). With the aim to select resistant (likely to carry Yd2 gene) and susceptible plants in the cross Atlas 68/Jaspis, appr. 2200 F2 plants were grown at a single (8 x 20 cm) spacing. Infection with PAV isolate of BYDV was carried out at the beginning of tillering by means of *Rhopalosiphum padi* L. aphids from greenhouse rearings. Symptoms of infection were evaluated visually at the stage of full flowering using 0-9 scale (0 - without symptoms), developed by Schaller and Qualset (1980).

DNA samples: To prepare DNA samples, leaves from 20 plants were pooled together in the case of cultivars. One leaf per one F3 plant was used for DNA isolation in the cross Atlas 68/Jaspis. DNA was isolated using a method described by Saghai-Marooof *et al.* (1994) from the leaves of 14 days old plants. DNA concentration was estimated and standardized against the known concentration of lambda/HindIII DNA on 0.8% agarose gel.

Yd2 - PCR diagnostic test: AFLP derived PCR primers (Paltridge *et al.*, 1998) were used at YLM locus, tightly linked with the gene Yd2, for the identification of the presence of dominant/recessive alleles of this gene. Reaction mixture consisted of 0.63 µM each primer, 1.5 Mg Cl₂, 0.2 mM each dNTP, 1 x Taq polymerase activity buffer and 1 U of Gold Star Taq DNA polymerase (both Perkin-Elmer). Reactions were performed in 25µl volume and thermal cycling comprised 10 min enzyme activation at 96 °C followed by 40 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s 58, 1 min at 74 °C in PTC-100 TM thermal cycler (MJ Research Inc. USA). Electrophoretic analysis of PCR product was performed either in 3% agarose (high resolution agarose, Sigma) or in 8% polyacrylamide gel. Ethidium bromide (agarose gel) or silver staining (PAGE) were used to visualize the fragments.

RESULTS AND DISCUSSION

As shown in Table I, with the use of YLM diagnostic marker the presence of Yd2 gene was detected in the spring barley cultivars Atlas 68 and Brea's/Ben, known as Yd2 gene carriers (Schaller, Chim, 1969; Šíp *et al.*, 1997), and also in the CIMMYT line Giza 121/Pue. All these cultivars showed a high resistance level in field tests. Average visual symptom score (VS) from three year experiments (1995-1997) was 3.6 for the cultivar Atlas 68, 2.8 for Brea's Ben and 2.6 for the line Giza 121/Pue. Yd2 associated signal was not detected

I. Results of testing the presence of Yd2 gene by YLM diagnostic marker in the spring barley cultivars

Cultivar	Classification of BYDV resistance*	Average VS** on 0-9 scale	Definition of genotype by YLM marker		
			Yd2/Yd2	Yd2/-	-/-
Atlas 68	R	3.6	+		
Brea'S/Ben	R	2.8	+		
Giza 121/Pue	R	2.6	+		
Malvaz	MR	5.1			+
Atribut	MR	5.2			+
Jaspis	VS	8.5			+
Akcent	VS	7.9			+
Amulet	S	7.3			+
Novum	VS	8.6			+
Rubin	VS	8.7			+

* R - resistant, MR - moderately resistant, S - susceptible, VS - very susceptible

** VS - visual symptom score

in the Czech moderately resistant cultivars Malvaz (VS: 5.1) and Atribut (VS: 5.2), which is in accordance with the results of genetic analyses, showing that different, minor genes are responsible for BYDV resistance in these two cultivars (Šíp *et al.*, 1997). The examined Czech susceptible or very susceptible cultivars

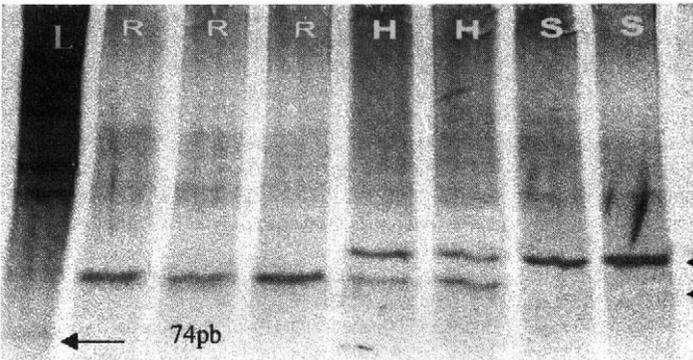
Jaspis, Akcent, Amulet, Novum and Rubín have not displayed the Yd2 allele, either.

It was evident from both analyses at a molecular level and genetic analyses in F3 hybrid generation that the plant population of the Atlas 68/Jaspis cross segregated for the major gene Yd2 (Fig. 1 and 2). From the total number of 120 F3 plants analysed with the use of PCR diagnostic marker, 65 originated from F2 plants that were classified in the 1997 field infection trials as resistant and likely to be Yd2/Yd2 genotypes. Resistance level of the parental variety Atlas 68 in the year of F2 population testing (1997) (VS: 3.2) was decisive for the choice of this material. The remaining 55 plants came from very susceptible F2 plants. Reaction to BYDV infection of the very susceptible parent Jaspis (VS: 8.3) was decisive for their choice in this case. With the use of PCR marker 61 out of 65 plants from the first (resistant) group were classified as carrying Yd2-allele; 51 plants (78%) were found to be Yd2/Yd2 genotypes and 10 plants were classified as heterozygotes (Table II).

It is generally known that allelic condition (homozygous/heterozygous) cannot be determined in field infection tests on individual plant basis with a high accuracy. The determination of variability in relative virus content, as assessed by ELISA, cannot be reckoned as a valuable method, either, because a wide variation in virus content is reported not only between different leaves in the same plant, but also between leaves in the same position on different plants in a cultivar (Pereira, Lister, 1989), and particularly in a hybrid line showing homogeneous symptom reactions (Šíp *et al.*, 1997). Among 20 lines of the Atlas 68/Jaspis cross classified in F3 as nonsegregating for Yd2 gene, 3 lines (15%) appeared to segregate for this gene in generation F4. It is also necessary to mention that conclusions obtained



I. Differences in the response to BYDV infection between Yd2 (331, 333) and non-Yd2 (332) spring barley F3 lines of the Atlas 68/Jaspis cross



2. PCR signals of different F3 individuals of the Atlas 68/Jaspis cross, segregating for BYDV resistance gene Yd2, separated on non denaturing PAGE: L = 1kb DNA ladder – Boehringer-Manheim, R = resistant Yd2/Yd2 plants (90 pb long product), H = heterozygotes Yd2/-, S = susceptible -/- (non-Yd2) plants (101pb long product)

II. Results of testing the presence of Yd2 gene by YLM diagnostic marker in F3 plants of the Atlas 68/Jaspis cross

Group of F2 plants	Number of examined F3 plants	Definition of F3 genotype by YLM marker – number of cases		
		Yd2/Yd2	Yd2/-	-/-
Resistant	65	51	10	4
Susceptible	55	5	-	50

from the examination of F3/F4 lines on two plots are undoubtedly more accurate than conclusions from individual F2 plants (Singh *et al.*, 1993). The probability of misclassification due to the absence of infection with BYDV is very low. As reported in the cross Malvaz/Akcent (Šíp *et al.*, 1997), the presence of BYDV was detected by ELISA test in all the 157 examined plants. It is, therefore, highly probable that plants determined by PCR marker as heterozygotes or non-Yd2 materials were derived from heterozygous F2 plants.

In the second "susceptible" group, including 55 plants, 50 plants (91 %) were classified by PCR marker as non-Yd2 materials but remaining 5 plants showed the presence of Yd2 gene in homozygous condition (Table II). The plants differently classified by these two methods could be either Yd2/F2 individuals or individuals that showed stunting and yellowing of leaves due to environmental stresses or adverse effects of certain genes and could be selected as plants very susceptible to BYDV.

To make general conclusions about the effectiveness of molecular breeding for the BYDV resistance gene Yd2, results from many years, comparable with results of selection for resistance in field infection trials, are needed. However, as documented by Paltridge *et al.* (1998), molecular marking of this gene presence undoubtedly enables more accurate selection. It is possible to detect the presence of Yd2 in homozygous/heterozygous state in any plant developmental stage using isolated DNA or a part of the leaf or half of the kernel as a direct template (Martynková *et al.*, 1997; Paltridge *et al.*, 1998). In the examined spring barley cultivars the presence or absence of this gene detected via YLM marker corresponded in all cases with the data presented in literature and results of genetic analyses. The determination of Yd2 gene presence in homozygous condition on individual plant basis in the field infection tests is very difficult due to different environmental factors that influence the symptom expression. Because of the variability of heterozygotes, visual selection up to F4 in virus-infected environments was necessary to select the homozygous resistant lines (Rasmusson, Schaller, 1959; Delogu *et al.*, 1995). And besides this, it was found that diagnosis by molecular marker is less costly than the field test. Costs for application of such a marker in a normally equipped laboratory (with thermocycler, vertical electrophoresis, photodocumentation system) includes the price for primers (90 DEM for 1000 reactions), Taq polymerase (350 DEM per 1000 reactions) and agarose for gels (300 DEM for 1000 reactions). After taking into account the salary and other equipment, the estimation of price could be 3–4 DEM per one analysis. Field experiments are rather expensive because they include the sowing of materials, all year field treatment, maintenance of virus isolates, greenhouse rearing of aphids, their manual field spreading and killing after inoculation feeding, evaluation of plant reactions, etc. It is assessed, that the cost per one sample could be 30–40 DEM. Therefore, the

inclusion of YLM diagnostic marker in selection of new breeding lines could lower the costs, while saving also the time necessary for field tests. This marker could be a good example for the future marker assisted selection.

REFERENCES

- Burnett P. A., Comeau A., Qualset C. O. (1995): Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf virus. In: D'Arcy C. J., Burnett P. A. (eds.): *Barley Yellow Dwarf – 40 Years of Progress*. St. Paul, Minnesota, Canada, APS Press: 321–343.
- Collins N. C., Paltridge N. G., Ford C. M., Symons R. H. (1996): The Yd2 gene for barley yellow dwarf virus resistance maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theor. Appl. Genet.*, 92: 858–864.
- Comeau A., Jedlinski H. (1990): Successful breeding for barley yellow dwarf virus resistance or tolerance: a systematic approach related to other agronomic characteristics. In: Burnett P. A. (ed.): *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*, CIMMYT, D.F. Mexico: 441–451.
- Delogu G., Cattivelli L., Snidaro M., Stanca A. M. (1995): The Yd2 gene and enhanced resistance to barley yellow dwarf virus (BYDV) in winter barley. *Plant Breeding*, 114: 417–420.
- Martynková R., Ovesná J., Kučera L. (1997): Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars with standard Gli/Glu alleles using PCR and leaf tissue as a direct template. *Genet. a Šlecht.*, 33: 251–260.
- Paltridge N. G., Collins N. C., Bendahmane A., Symons R. H. (1998): Development of YLM, a codominant PCR marker closely linked to the Yd2 gene for resistance to barley yellow dwarf disease. *Theor. Appl. Genet.*, 96: 1170–1177.
- Pereira A. M. N., Lister R. M. (1989): Variations in virus content among individual leaves of cereal plants infected with barley yellow dwarf virus. *Phytopathology*, 79: 1348–1353.
- Rasmusson D. C., Schaller C. W. (1959): The inheritance of resistance in barley to the yellow-dwarf virus. *Agron. J.*, 51: 661–664.
- Saghai-Marooif M. A., Bijyashev R. M., Yang G. P., Zhang Q., Allard R. W. (1994): Extraordinary polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 8014–8018.
- Schaller C., Chim C. I. (1969): Registration of Atlas 68 barley. *Crop Sci.*, 9: 521.
- Schaller C., Qualset C. O. (1980): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus. In: *Proc. Third Int. Wheat Conf.*, Madrid, Spain; Univ. of Nebraska Agric. Exper. Stat. Public. MP, 41: 528–541.
- Singh R. P., Burnett P. A., Albarrán M., Rajaram S. (1993): Bdv1: A gene for tolerance to barley yellow dwarf virus in bread wheats. *Crop Sci.*, 33: 231–234.
- Šíp V., Vacke J., Chrpová J., Škorpič M. (1997): Genetická diverzita a dědičnost rezistence k viru žluté zakrslosti ječmene u ječmene jarního (Genetic diversity and mode of inheri-

tance of resistance to barley yellow dwarf virus in spring barley). Genet. a Šlecht., 33: 261–279.

Vacke J., Šíp V., Škorpík M. (1997): Reakce vybraných odrůd a novošlechtění ječmene jarního na infekci virem žluté zakrslosti ječmene (Response of selected spring barley varie-

ties and advanced breeding lines to the infection with barley yellow dwarf virus). Genet. a Šlecht., 33: 33–44.

Received for publication on February 17, 1999

Contact Address:

RNDr. Jaroslava Ovesná, Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2/33 02 24 24, fax: +420 2 33 02 22 86, e-mail: ovesna@hb.vurv.cz

RECENZE

PRACTICAL HERBAGE SEEDCROP MANAGEMENT

Jacqueline Rowarth (ed.)

Lincoln University Press with Whitireia Publishing and Daphne Brassel Associates Ltd, 1998.

Publikací o semenářství pícnin je stále nedostatek. Platí to zejména v současnosti, kdy pícniny – trávy, jeteloviny, případně byliny jiných čeledí, neplní již zdaleka pouze funkci objemné píce, ale stávají se jedním z účinných prostředků ochrany a konzervace půdy i zlepšení prostředí kolem nás. Stále jsou do pěstování zaváděny nové druhy, mění se spektrum odrůd a s ohledem na různorodost druhů zařazovaných do pícnin je technologie výroby jejich semen velmi rozdílná.

Publikaci, kterou uspořádala a na řadě kapitol se podílela J. Rowarth, vysokoškolská pedagožka z novozélandské univerzity v Canterbury, jistě přivítají všichni pícnináři, zejména však ti, kteří se zabývají semenářstvím. Brožovaná kniha o 243 stránkách (cena 40 NZD) rozebírá zásady výroby semen u 11 druhů (rodů) trav (sveřep, psineček, pohánka hřebenitá, kostřava červená, *Paspalum dilatatum*, lesknice, jilek, kostřava rákosovitá, ovšík vyvýšený, bojínek luční a medyněk vlnatý), dále u 11 druhů (rodů) jetelovin (jednoleté vojtěšky, jetel kavkazský, čičorka pestrá, štírovník, lupina, jetel luční, ptačí noha, kopyšník, vikev, jetel plazivý a jetel pros-

třední) a 5 bylin a keřů (čekanka obecná, jitrocel kopinatý, krvavec toten, řebříček obecný a čilimník).

Kniha pochází z dílny novozélandských autorů, specialistů na jednotlivé druhy, a některá agrotechnická doporučení (např. doba setí, technologie sklizně atd.) jsou pro středoevropského pěstitele nepřijatelná, ale na druhé straně je zde možno najít hodně zajímavých, aplikovatelných (agrotechnika, ochrana) i provokujících (výše výsevku, úroveň dosahované sklizně) poznatků. Semenářství pícnin má na Novém Zélandě více než osmdesátiletou tradici, semena pícnin jsou v současnosti vyráběna na ploše 35 000 ha (z toho 75 % tvoří jilek vytrvalý), roční produkce dosahuje kolem 25 000 tun semen, přičemž polovina tohoto množství je exportována. Výsledky a zkušenosti z úzké spolupráce mezi výzkumníky, pěstiteli, zpracovateli i prodejci jsou uloženy v této publikaci. Kniha sice příliš neoplývá barevnými obrázky, grafy a tabulkami, ale je napsána a uspořádána jasně a srozumitelně jak pro praktického farmáře, tak pro studenta, pracovníka výzkumu i vysokoškolského pedagoga.

Ing. Bohumír Čagaš, CSc.

RESPONSE OF WINTER WHEAT VARIETIES TO THE LEAF RUST INFECTION

REAKCE ODRŮD PŠENICE OZIMÉ NA INFEKCI RŽÍ PŠENIČNOU

L. Věchet

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

ABSTRACT: Responses of ten winter wheat varieties infected by *Puccinia recondita* var. *tritici* the race 61SaBa were tested in small plot-trials. Disease severity was visually estimated as percent leaf area diseased in three sampling dates (SD). The parameter used in data analysis was the cumulative proportion of leaf area diseased (CPLAD). The disease development in 1996 on susceptible variety was earlier (SD1 – SD2) than in heterogeneous and moderately resistant varieties (SD2 – SD3). In 1998 the disease development was reverse in the same clusters. Some from tested varieties (Runal, Siria, Vlada, Boval) stayed in the same cluster in both years. Moderately resistant varieties were Vlada and Boval, the varieties Siria, Runal were heterogeneous always. Between the dendrograms from both years there were differences in distance linkage. It was corresponding to an extent of the CPLAD. In 1996 it was very broad but in 1998 this extent was more narrow.

Keywords: winter wheat; leaf rust; disease severity; cluster analysis

ABSTRAKT: V maloparcelkových pokusech byla testována reakce deseti odrůd pšenice ozimé infikované *Puccinia recondita* var. *tritici*, rasa 61 SaBa. Závažnost choroby byla odhadována jako procento ochořelé listové plochy ve třech intervalech. Parametrem použitým pro analýzu dat byl kumulativní podíl ochořelé listové plochy (CPLAD). Vývoj choroby v roce 1996 na náchylné odrůdě byl časnější (SD1 – SD2) než na odrůdách různorodých a středně rezistentních (SD2 – SD3). V roce 1998 byl vývoj choroby v těch samých shlucích opačný. Některé testované odrůdy (Runal, Siria, Vlada, Boval) zůstávaly po oba roky ve stejných shlucích. Různorodé reakce měly odrůdy Runal a Siria, odrůdy Vlada a Boval byly středně rezistentní. Mezi dendrogramy z obou let byly ve vzdálenosti zapojení rozdíly, což odpovídá rozsahu CPLAD, který byl v roce 1996 velmi široký, ale v roce 1998 byl užší.

Klíčová slova: pšenice ozimá; rez pšeničná; závažnost choroby; shluková analýza

INTRODUCTION

Leaf rust together with potentially dangerous yellow rust is economically the most important rust attacking wheat varieties in the Czech Republic in present time. In latest years leaf rust acquired an importance in West Europe, where the main role plays yellow rust. Higher occurrence of leaf rust were presumably influenced by the highest temperatures in summer months in last years but changes in populations of that rust can participate also (Bartoš *et al.* 1992).

Aim of the experiment was to find out susceptibility of winter wheat varieties to the most spread race of the leaf rust, similarity of variety reaction to the disease in climatic different two years and the influence of climatic changes on the proportion disease severity in individual sampling dates and on the total disease severity.

MATERIAL AND METHODS

Leaf rust was studied in small plot trials on 10 winter wheat varieties in two years 1996 and 1998. Each

variety was sown in three rows vertically to lengthwise row of susceptible variety Michigan Amber. This spreader was infected with injection syringe by water suspension of urediospores of *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f.sp. *tritici*, the race UN3-61SaBa which is the dominant race of leaf rust in the Czech Republic (Bartoš *et al.*, 1992). Infection was carried out several times of following dates: 1996 – 23.04.; 6.05; 21.05.; 1998 – 27.04; 30.04. Evaluation of leaf rust was performed in both years three times, after Zadoks *et al.* (1974) growth stage. There were evaluated 15 plants in each variety, all live leaves on a plant, in three replications. Disease severity was expressed as percent leaf area diseased (Peterson *et al.*, 1948). The parameter used in data analysis was the cumulative proportion of leaf area diseased – CPLAD (Věchet, Kocourek, 1987; Brière *et al.*, 1994). The cluster analysis (the program STATISTICA) was used to group winter wheat varieties based on CPLAD. We divided the clusters according to the disease severity into three groups according to host response (Roelfs, 1984): moderately resistant (MR); heterogeneous (H); susceptible (S). The results

from cluster analysis are shown in a dendrogram. There are expressed a share of a disease severity in each sampling dates on the total one. From weather factors average daily temperature in weakly intervals and number of days with maximum temperature above 25 °C were used.

RESULTS

The disease severity was estimated in three sampling dates (SD1 – SD3) in similar growth stages (Table I).

The dendrogram from the 1996 small plot trials (Fig. 1) cut on the level 100 divided tested varieties into three groups. The cluster C3 is created by one susceptible variety Arina only. The cluster C2 is formed by seven heterogeneous varieties. In this group we can distinguish the subgroup of varieties with higher level of the disease severity (Rexia, Siria, Asta), the subgroup with middle level of the disease severity (Hereward, Runal) and the subgroup with lower of one. The cluster C1 is represented by two moderate resistant varieties (Boval, Vlada). In this group the variety Boval has much higher value of the disease severity than the variety Vlada.

The dendrogram of the cluster analysis for the 1998 CPLAD cut on the level 15 shows tested varieties ar-

ranged into three clusters (Fig. 2). The cluster C3 represents two susceptible varieties Hereward and Asta. The cluster C2 is created by three heterogeneous varieties (Arina, Runal, Siria). From those varieties Arina has higher values of the disease severity, the variety Siria has lower values than the variety Runal. The cluster C1 involves five moderate resistant varieties (Rexia, Alka, Forno, Vlada, Boval). In this group the varieties Rexia and Alka have more higher values of the disease severity while the varieties Forno, Vlada and Boval have much lower of one. Linking distance in the dendrogram from 1996 a 1998 are different.

Alka have more higher values of the disease severity while the varieties Forno, Vlada and Boval have much of one. Linking distance in the dendrogram form 1996 and 1998 are different.

Disease progress curves for different clusters were established by calculating mean CPLAD for each sampling date (Fig. 3). In 1996 the susceptible variety has the most disease increase from SD1 to SD2 but the heterogeneous (C2) and moderately resistant (C1) varieties have the most disease increase later, from SD2 to SD3. In 1998 it is on the contrary.

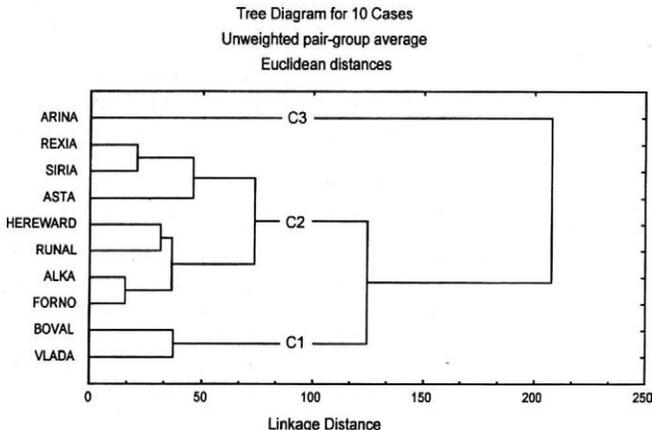
The susceptible varieties have the most disease increase from SD2 to SD3 but heterogeneous and moderately resistant varieties have the most disease increase formerly from SD1 to SD2.

From tested varieties (Table II) some of them (Runal, Vlada and Boval) had the same response to the used leaf rust. But the other varieties had different responses in both years. The varieties Hereward and Asta were more susceptible in 1998 than in 1996. On the contrary the varieties Alka, Forno and Rexia were more susceptible in 1996 than in 1998. Big differences in response to leaf rust were in the varieties Arina, Hereward, Asta. The variety Arina reacted more susceptible in 1996 than in 1998 and Hereward, Asta on the contrary.

In the Czech varieties the genes of resistance to *Puccinia recondita* and pedigree of all varieties are presented (Table III).

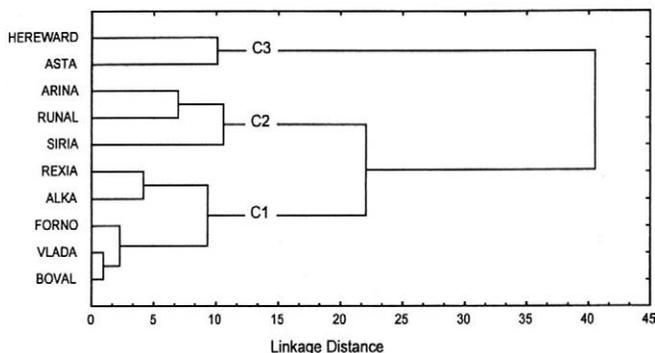
I. The sampling dates (SD) and corresponding averaged growth stages according to Zadoks (ZGS) in the 1996 and 1998 small plot trials

Sampling date		ZGS	
1996	SD1	12.06.	59
	SD2	27.06.	65
	SD3	18.07.	75
1998	SD1	22.06.	65
	SD2	02.07.	73
	SD3	13.07.	75



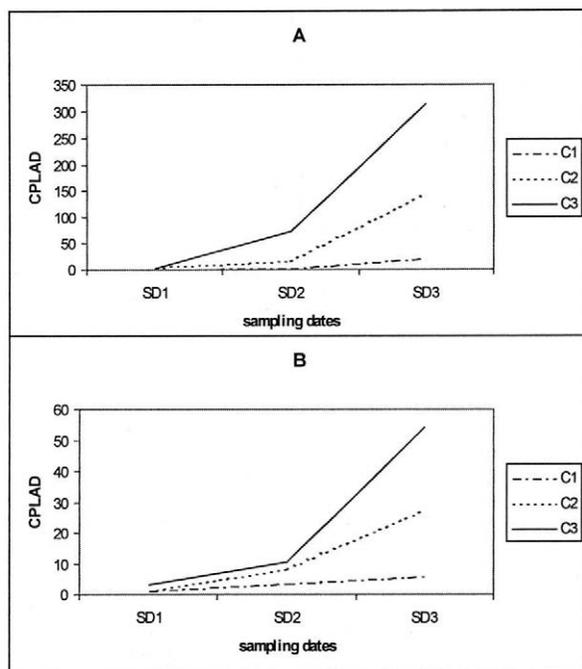
I. The dendrogram of the CPLAD showing three distinct cluster groupings in 10 winter wheat varieties to *P. recondita*, the race 61SaBa (1996)

Tree Diagram for 10 Cases
Unweighted pair-group average
Euclidean distances



2. The dendrogram of the CPLAD showing three distinct cluster groupings of resistance in 10 winter wheat varieties to *P. recondita*, the race 61SaBa (1998)

3. Mean disease progress curves of *P. recondita* the race 61SaBa for winter wheat varieties included in different clusters identified by cluster analysis with CPLAD in the 1996 (A) and 1998 (B) field trials



Seven from these varieties are tested in the scope of COST 817 WG1 in several countries. The results from these tests (Table IV) show that the variety Arina was always susceptible, the variety Hereward fluctuated from resistant to susceptible, the variety Runal was mostly susceptible but in some cases heterogeneous or moderately resistant, the variety Forno was predominantly resistant but sometimes moderately resistant, heterogeneous or susceptible. The variety Siria was mostly moderately susceptible sometimes moderately resistant or susceptible, the variety Boval was largely moderately resistant or resistant sometimes susceptible or moderately susceptible and the variety Vlada was mostly re-

sistant or moderately resistant in any cases susceptible but in three cases susceptible.

From weather factors were considered average daily temperature (calculated from minimum and maximum temperatures) and number of days with maximum temperature above 25 °C (Table V). The average daily temperature for the whole observation (from 1.05. to 20.07.) was higher about 1.43 °C in 1998 than in 1996. Number of days with maximum temperature above 15 °C in 1998 for the whole period was higher about 7 days and more days with this temperature were especially in the beginning of the infection in the period from 0.1.05. to 31.05. The highest progress of the disease was in 1996

II. Response of winter wheat varieties according to disease reaction into individual clusters (1996, 1998)

	1996	1998
Arina	S	H
Hereward	H	S
Runal	H	H
Asta	H	S
Alka	H	MR
Forno	H	MR
Siria	H	H
Vlada	MR	MR
Boval	MR	MR
Rexia	H	MR

MR – middle resistant, H – heterogeneous, S – susceptible

IV. Results from winter wheat nursery for adult plant resistance to leaf rust. Test COST 817 (1996–1998)

Variety	Origin	Reaction
Arina	Switzerland	S
Hereward	United Kingdom	R – S
Runal	Switzerland	S (MR, H, S)
Forno	Switzerland	R (MR, MS, S)
Siria	Czech Republic	MS (MR, S)
Boval	Switzerland	R – MR (S, MS)
Vlada	Czech Republic	R – MR (S)

S – susceptible, MS – moderately susceptible, H – heterogeneous, MR – moderately resistant, R – resistant

from SD2 to SD3 that is from 27.06. to 18.07. If we add to the first date a probably length of latent period 14 days, we see that the period from 11.06. to 20.07 was more warm than the previous one. Similarly in 1998 the highest development of the disease was from SD1 to SD2 already and all period which had influenced development of the disease significantly was from 01.06. to 10.07. In this period, it was warmer too than in the previous period.

DISCUSSION

Using of the cluster analysis of the parameter cumulative proportion of leaf area diseased for grouping winter wheat varieties with similar characteristics of resistance to *Puccinia recondita*, the race 61SaBa, was convenient. Varieties in groups had such disease characteristics but they are different from varieties in other clusters in dependence on where the cluster was cut. The multivariate statistical procedures, such as the cluster analysis, were used by Jeger (1980), Lebeda, Jendřůlek (1988) and Anderson *et al.* (1990). That analysis requires two variables at least, in our case CPLAD in three sampling dates, was used for grouping.

III. Genes of resistance of tested winter wheat varieties to leaf rust and their pedigree

Variety	Lr	Pedigree
Alka	+	Mercia x Hana
Arina		Moisson x Zenith
Boval		Tano x Carbio x Hoesser 48
Forno		NR72837 x Kormoran
Hereward		
Rexia	+	SO-5086 x Viginta
Runal		
Siria	1, 13	Arminda x Maris Marksman x Regina
Vlada	+, +	Mironovskaya 808 x (Kaštická osinatá x <i>T. timopheevi</i> x Harrachweizen) x (Harrachweizen x San Pastore x Kavkaz)

V. The average daily temperature (ADT) and number of days with maximum daily temperature above 25 °C (ND) in ten or eleven daily intervals

Period	1996		1998	
	ADT	ND	ADT	ND
01.05.–10.05.	11.16	0	13.90	3
11.05.–20.05.	13.28	0	14.70	2
21.05.–31.05.	13.31	1	15.80	3
01.06.–10.06.	19.13	6	19.40	6
11.06.–20.06.	15.21	3	14.30	0
21.06.–30.06.	15.20	0	18.60	3
01.06.–10.07.	15.21	1	14.90	0
11.06.–20.07.	15.40	2	17.70	3
Average sum	14.73	13	16.16	20

The cluster analysis divided tested varieties into three clusters. In the moderately resistant cluster were placed two or three varieties in both years. In the heterogeneous cluster were located seven varieties in 1996 but three variety in 1998. The susceptible cluster involved one or two varieties. The variety Arina was susceptible in 1996 and appeared as susceptible in the test COST 817 too. The variety Hereward susceptible in 1998 was in international COST test in some cases susceptible but in other cases the variety was resistant. It seems that a reaction of the variety Hereward can be different according to local conditions. The development of the disease in 1996 on the susceptible variety was sharp in the earlier sampling date than in the moderate and moderately resistant varieties. In 1998 the disease development was reverse. An influence on this different disease progress could have been caused by different weather conditions mainly temperature. Moderately resistant varieties were Vlada (has two not designated genes of resistance) and the variety Boval (has not determined any gene of resistance). Bartoš *et al.* (1992) indicated that variety Vlada was immune in the growth stage of the first two leaves in laboratory conditions. The varieties Siria (has Lr1 and Lr13 gene) and Runal were

always heterogeneous. In 1996 the variety Siria together with the variety Rexia had more disease severity than the other moderate varieties in the cluster they had considerable linkage distance than remaining varieties.

Some varieties (Runal, Siria, Vlada, Boval) stayed in the same cluster in 1996 and 1998 year. But the other varieties (Arina, Rexia, Asta, Hereward, Alka, Forno) moved to next cluster. For example the variety Rexia (has one unknown gene of resistance) moved from the top of the heterogeneous cluster in 1996 to the top of the moderately resistant cluster. None tested variety migrate to the reverse cluster for example from the susceptible to the moderately resistant cluster. Reasons for moving of varieties among single clusters can be several. The first reason can be higher share of the disease in the second sampling date in 1998 and subsequent lower share of the disease in the third sampling date on the total disease severity. It means that values of the second sampling date had too large weight in a relation to other sampling dates. To reduce the weight of the second sampling date would be possible by adding additional sampling date for example before growth stage 61 after Zadoks because between the first and the second sampling date took place to the highest increase of the disease. Also Brière *et al.* (1994) indicated two possible solutions to the problem of movement of lines between clusters. The first would be to have an additional sampling date. This would be to reduce the weight of the first sampling date in the cluster analysis. Secondly, more weight could be attributed to the PFLAD on the last sampling date. Another reason can be different requirement to high temperature which can manifest either by sensitivity or resistance also (Browder, Eversmeyer, 1987). In our case the number of days with maximum temperature, over 25 °C created in 1998 one quarter from observed period and it could influence manifestation of some genes. Also Dyck and Johnson (1983) ascertained the importance of temperature during genetic studies to *P. recondita*.

We can see extensive differences in distance linkage for each dendrogram in both years. Distances among varieties with similar disease severity were in 1998 more small and on the contrary these ones were much wide in 1996. Corresponding to this is an extent of the CPLAD in 1996 which was very broad but in 1998 this one was more narrow.

In conclusion, the cluster analysis is the suitable method for arrangement of cultivars according to cer-

tain properties. For decreasing weight value would be more favourable considerably observation than three. An influence of temperature can be significant in part for a development of the disease and also for a plant resistance to a disease.

REFERENCES

- Anderson W. F., Beute J. C., Wynne J. C., Wongkaew S. (1990): Statistical procedures for the assessment of resistance in a multiple foliar disease complex of peanut. *Phytopathology*, 80: 1451–1459.
- Bartoš P., Stuchlíková E., Hanušová R. (1992): Physiologic specialization of wheat leaf rust [*Puccinia persistens* Plow. var. *triticea* (Eriks) Urban et Marková] in Czechoslovakia in the years 1987–1990. *Genet. a Šlecht.*, 28: 103–119.
- Brière S. C., Kushalappa A. C., Mather D. E. (1994): Screening for partial resistance to an isolate of crown rust (*Puccinia coronata* f.sp. *avenae*) race 264 in oat cultivars and breeding lines. *Can. J. Plant Pathol.*, 16: 49–55.
- Browder L. E., Eversmeyer M. G. (1987): Influence of temperature on development of *Puccinia recondita* with *Triticum aestivum* Suwon 85'. *Phytopathology*, 77: 423–425.
- Dyck P. L., Johnson R. (1983): Temperature sensitivity of genes for resistance in wheat to *Puccinia recondita*. *Can. J. Plant Pathol.*, 5: 229–234.
- Jeger M. J. (1980): Multivariate models of components of partial resistance. *Protect. Ecol.*, 2: 265–269.
- Lebeda A., Jendřůlek T. (1988): Application of methods of multivariate analysis in comparative epidemiology and research into field resistance. *Z. Pfl.-Kranh. Pfl.-Schutz*, 95: 495–505.
- Peterson R. F., Campbell A. B., Hannah A. E. (1948): A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Can. J. Res. Soc.*, C26: 496–500.
- Roelfs A. P. (1984): Race specificity and methods of study. In: Roelfs A. P., Bushnell, W. R. (eds.): *The Cereal Rust. Vol. I. Origins, Specificity, Structure and Physiology*. Orlando, Academic Press: 131–164.
- Věchet L., Kocourek F. (1987): The effect of the time of treatment on the occurrence of *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* and on the damage it causes to spring barley. *Sbor. ÚVTIZ – Ochr. Rostl.*, 23:117–124.
- Zadoks J. C., Chang T. T., Konzak C. F. (1974): A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res.*, 14: 415–421.

Received for publication on May 5, 1999

Contact Address:

Ing. Lubomír Věchet, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2/33 02 23 61, fax: +420 2/33 02 22 86

4. MEZINÁRODNÍ KONFERENCE O SEMENÁŘSTVÍ TRAV A JETELOVIN

„Semenářství pícein je klíčovým faktorem jak pro zvýšení produkce, tak pro zlepšení kvality prostředí“ – bylo ústřední motto v pořadí již čtvrté mezinárodní konference o semenářství pícin. Setkání, které si již vydobyla postavení v kalendáři významných semenářských konferencí, se tentokrát konalo v historických prostorách jedné z nejstarších evropských univerzit, v italské Perugii ve dnech 23.–27. května 1999.

V průběhu prvních dvou dnů konference zaznělo 19 odborných příspěvků rozdělených do pěti sekcí. V první sekci, nazvané „Všeobecné a místní zkušenosti“, referovali F. Lorenzetti a D. Rosellini o semenářské produkci pícin se zvláštním zřetelem k podmínkám středozemní Evropy. D. Loch využil své studijní cesty v rámci Churchillovy nadace, aby informoval o uplatňování šlechtitelských práv v procesu šlechtění pícin, a G. W. Evers shrnul zkušenosti se semenářstvím inkarnátu v severovýchodním Texasu. Jaké jsou pěstební možnosti jílku mnohokvětého jednoletého, italského a jílku vytrvalého pro semenářské účely v Kanadě, informoval B. Coulman. Referát na aktuální téma o organickém semenářství bojínku lučního ve směsi s jetelí přednesl za T. S. Aamlida R. Hilestad.

Ve druhé sekci „Genetika šlechtění pícin“ hovořil Y. Savidan o struktuře endospermu u apomiktických travních druhů, dále A. H. Marshall o možnostech zvýšení semenářského výnosu jetele plazivého pomocí mezidruhové hybridizace a v závěrečném příspěvku N. A. Provorov referoval o fixaci vzdušného dusíku, jako o klíčovém faktoru semenářství pícin v rámci trvale udržitelného zemědělství.

V sekci „Travníkové trávy“ srovnával P. Croce vegetativní a generativní způsob zakládání travníku u druhů rodů *Cynodon* a *Zoysia*, B. Boelt hovořila o vztahu velikosti odnoží na podzim a množství fertilních stébel u travníkových typů lipnice luční, kostřavy červené a jílku vytrvalého.

V rámci tematického celku „Endofytní a patogenní houby“ shrnula H. Hahn dosud známé metody používané při detekci endofytů v travách, E. Piano hovořil o výsledcích studia endofytních hub v Itálii, M. J. Bar-

beti referoval o houbových a virových onemocněních, které limitují výnos jednoletých jetelelovin a B. Cagaš shrnul dosavadní poznatky o stabilitě odolnosti lipnice luční vůči námeli.

V páté sekci „Jednoleté leguminózy – Dusíkaté hnojení“ informoval B. J. Nutt o možnostech sklizně pícních leguminóz středomořského typu konvenční mechanizací, G. Pacucci o agrotechnických zásadách pěstování vikve seté na semeno v jižní Itálii, A. Younsi o vztahu mezi fenologickou charakteristikou a semenářskou produkcí druhu *Scorpiurus muricatus*. Nad vztahem dusíkatého hnojení a skutečným využitím dusíku u semenářských kultur jílku se zamýšlela J. S. Rowarth a jednání tematického celku uzavřel R. Gislum referátem o vlivu podzimní aplikace dusíku u kostřavy rákosovitě a kostřavy červené pěstované na semeno.

Čtyřicet sedm posterů vystavených v ambitech areálu kostela sv. Petra, který je součástí univerzity, bylo rovněž rozděleno do tematických celků:

- ošetření a vnější vlivy
- genetika a šlechtění
- fyziologie
- choroby, škůdci a plevele
- symbiotické a mutualistické vztahy
- charakteristika původních a šlechtěných materiálů.

Prohlídka polních pokusů univerzity v Perugii a návštěva u firem CONASE a Ceccato Sementi Group demonstrovala vysokou úroveň výzkumu, šlechtění pícin, agrotechniky i zpracování semenářské sklizně v hlavní italské pěstitelské oblasti – v Pádské nížině.

Jednáni konference, které se zúčastnilo přes 200 specialistů z pěti kontinentů, opět potvrdila univerzální využití pícin na straně jedné a jejich měnící se roli na straně druhé a upozornila na zvláštnosti a záluždnosti ve výrobě semen jednotlivých druhů trav a jetelelovin. Organizační výbor IHSRPG (Mezinárodní skupina pro výzkum semenářství pícin) byl doplněn o nové členy a určil místa a předběžné termíny dalších jednání po roce 2000.

Ing. Bohumír Cagaš, CSc.

STUDIUM VARIABILITY INDOLYLGLUKOSINOLÁTŮ V SEMENI OZIMÉ ŘEPKY (*BRASSICA NAPUS* L.)^{*}

STUDY OF VARIABILITY OF INDOLYLGLUCOSINOLATES IN WINTER RAPE (*BRASSICA NAPUS* L.) SEEDS

O. Kolovrat, M. Judlová, J. Havel

Oseva Pro, Ltd., Research Institute of Oilseed Crops, Opava, Czech Republic

ABSTRACT: The aim of this work was to obtain the initial winter rapeseed lines with the different level of individual indolylglucosinolates for breeding and research purposes. The spectrum of glucosinolates in the seeds was determined using a high pressure liquid chromatography (HPLC) method based on standard ISO 9167-1:1992(E). Breeding lines of different origin (Table I) were tested. These lines were repeatedly self-pollinated and selected for the low content of the whole glucosinolates. Progoitrin, gluconapin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicinapin, glucobrassicin, gluconasturtiin, 4-methoxyglucobrassicin and neoglucobrassicin were detected at quantities higher than 0.1%, glucoalyssin, glucoraphanin, gluconapoleiferin, epiprogoitrin and glucoiberin were identified as traces – quantities lower than 0.1% (Table II). For these glucosinolates which appeared at higher quantity the variability was determined (Table III) and correlation coefficients (Table IV) were calculated. The highly statistically significant correlations were detected within the indolylglucosinolate group, the aralkylglucosinolate nasturtiin and minority alkenylglucosinolate glucobrassicinapin are bound correlatively with the indolylglucosinolates. The main alkenylglucosinolates progoitrin and gluconapin were not correlated with other glucosinolates. The obtained results indicate that the content of the whole indolylglucosinolate group can be changed easier than the content of individual glucosinolates.

Keywords: winter rapeseed; breeding lines; HPLC; glucosinolate spectrum; variability; correlation

ABSTRAKT: U šlechtitelských materiálů ozimé řepky bylo stanoveno spektrum glukosinolatů v semenech pomocí metody vysokotlaké kapalinové chromatografie (HPLC). V množství větším než 0,1% byly nalezeny progoitrin, gluconapin, 4-hydroxyglucobrassicin, glucobrassicinapin, glucobrassicin, gluconasturtiin, 4-metoxylglucobrassicin a neoglucobrassicin, ve stopovém množství (identifikované množství menší než 0,1 %) pak glucoalyssin, glucoraphanin, gluconapoleiferin, epiprogoitrin a glucoiberin. U glukosinolatů vyskytujících se ve větším množství byla zhodnocena variabilita a byly spočítány korelační závislosti. Indolylglukosinoláty jsou statisticky vysoce významně provázány mezi sebou, s indolylglukosinoláty je korelačně spojen aromatický glukosinolat gluconasturtiin a minoritní alkenylglukosinolat glucobrassicinapin. Hlavní alkenylglukosinoláty progoitrin a gluconapin jsou nezávislé na ostatních.

Klíčová slova: ozimá řepka; linie; HPLC; glukosinoláty; variabilita; korelační koeficienty

ÚVOD

Indolylglukosinoláty jsou skupinou glukosinolatů, která nabyla na významu po vyšlechtění odrůd řepky s 00 kvalitou. Jak uvádějí Voškeruša (1993), Clossais-Besnard, Larher (1991) a další autoři, pokles obsahu celkových glukosinolatů u 00 odrůd řepky je způsoben hlavně poklesem obsahu jednotlivých alkenylglukosinolatů, zejména progoitrinu a gluconapinu. Obsah indolylglukosinolatů zůstal prakticky nezměněn, proto se jejich relativní podíl v obsahu celkových glukosinolatů výrazně zvýšil. Indolylglukosinoláty se od alkenylglukosinolatů výrazně liší a zdá se, že mohou mít velmi zajímavé vlastnosti. Zatímco u alkenylglukosinolatů,

zvláště progoitrinu, byl v mnoha pracích přesvědčivě prokázán výrazný antinutriční efekt (Fábry *et al.*, 1992 a další), u indolylglukosinolatů tento efekt prokázán nebyl. Bodnaryk (1991) sledoval změny obsahu glukosinolatů u rostlin poškozených žírem dřepčiků. Koncentrace indolylglukosinolatů glucobrassicinu a 4-hydroxyglucobrassicinu se u poškozených klíčnicích rostlin zvýšila více než třikrát, což zřejmě souvisí s procesem hojení ran. Koncentrace alifatických a aromatických glukosinolatů zůstala prakticky beze změny. Birch *et al.* (1992) sledovali změny obsahu glukosinolatů u rostlin poškozených žírem larev *Delia floralis*. U poškozených rostlin se dva- až čtyřikrát zvýšil obsah indolylglukosinolatů, zatímco obsah alkenylglukosinolatů zůstal prakticky ne-

* Práce byla uskutečněna za finanční podpory Ministerstva zemědělství České republiky (projekt č. EP 6043).

změněn. Je proto pravděpodobné, že indolyglukosinoláty se určitým způsobem podílejí na obranyschopnosti řepky proti škůdcům. Naproti tomu vliv na odolnost rostlin řepky proti některým chorobám má obsah celkových glukosinolátů (Giamoustaris, Mithen, 1997).

Cílem práce bylo zjistit variabilitu indolyglukosinolátů v semeni ozimé řepky a možnosti jejího využití ve šlechtění pro tvorbu linií s odlišným obsahem jednotlivých indolyglukosinolátů. Existence takovýchto linií je předpokladem výzkumu úlohy indolyglukosinolátů v rostlině a eventuálního šlechtění nových odrůd s odlišnou kvalitou.

MATERIÁL A METODY

Analýzy byly provedeny u šlechtitelského materiálu ozimé řepky v různém stupni rozpracovanosti. Sledované linie pocházejí výhradně z kombinačního křížení, původ linií je uveden v tab. I. Kritériem pro výběr rodičovských partnerů jsou příznivé kvalitativní ukazatele a vhodné hospodářské vlastnosti. Základním modelem pro křížení je úplné dialektní křížení včetně reciprokých kombinací. V každé generaci po křížení bylo potomstvo samosprašeno v izolaci a byla použita rekurentní selekce na nízký obsah celkových glukosinolátů. Hodnoceny byly linie v generacích F₅ až F₇, které lze již považovat za poměrně stabilní. Pouze pro srovnání bylo zařazeno omezené množství genotypů generace F₂. U všech použitých genotypů byl obsah celkových glukosinolátů screeningově ověřen metodou NIRS a linie s příliš vysokým obsahem celkových GSL byly vyloučeny, protože jejich využití ve šlechtění se nepředpokládá. Byla vyhodnocena variabilita obsahu jednotlivých glukosinolátů a byly vypočítány korelační závislosti.

Použitá metoda analýzy na obsah jednotlivých glukosinolátů byla vypracována na základě mezinárodní normy ISO 9167-1:1992(E). Pracovní postup vycházel z extrakce glukosinolátů metanolem, následovalo čištění, enzymatická desulfatace a stanovení obsahu desulfoglukosinolátů metodou HPLC na koloně s reverzní fází za použití gradientové eluce a detekce v UV oblasti.

Vlastní chromatografické analýzy byly provedeny na kapalinovém chromatografu firmy Spectra-Physics typ SP 8100 XR s detektorem SP 8440 XR UV/VIS a in-

tegrátorem SP 4200. K dělení byla použita chromatografická kolona LiChrosphere RP 8 (5 µm, 15 cm x 4,6 mm), jako mobilní fáze voda (eluent A) a 20% roztok acetonitrilu ve vodě (eluent B) podle tohoto programu:

- po dobu 1 minuty bylo použito 100 % eluentu A,
- dalších 20 minut byl aplikován lineární gradient, až bylo na jeho konci dosaženo 0 % eluentu A a 100 % eluentu B,
- 100 % eluentu B bylo dále použito po dobu 7 minut,
- dalších 5 minut byl aplikován lineární eluční gradient k dosažení 100 % eluentu A a 0 % eluentu B,
- k dosažení rovnováhy bylo použito 100 % eluentu A po dobu 7 minut.

Průtok mobilní fáze činil 1 ml/min při teplotě chromatografické kolony 30 °C, nástřik vzorku byl proveden pomocí dávkovací smyčky o objemu 50 µl, detekce sledovaných desulfoglukosinolátů proběhla při vlnové délce 229 nm. Jako vnitřní standard byl použit sinigrin.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V tab. II je uveden přehled identifikovaných glukosinolátů v semeni ozimé řepky. Dosažené výsledky analýz semen jednotlivých rostlin jsou uvedeny v tab. III. Pořadí glukosinolátů v tabulce odpovídá pořadí píků na chromatogramech. Z indolových glukosinolátů u ozimé řepky se v největším množství vyskytuje 4-hydroxyglucobrassicin a dále bylo zjištěno větší množství glucobrassicinu. Velké rozpětí mezi minimálními a maximálními hodnotami je dokladem značné variability obsahu jednotlivých glukosinolátů u sledovaných generací.

Korelační koeficienty vypočtené mezi jednotlivými glukosinoláty jsou uvedeny v tab. IV. U skupiny indolyglukosinolátů byla zjištěna pozitivní a statisticky vysoce významná korelace, což ukazuje na značnou provázanost jednotlivých indolyglukosinolátů mezi sebou. Na skupině indolyglukosinolátů je kladně a statisticky vysoce významně závislý jediný zjištěný glukosinolát s aromatickou skupinou – gluconasturtiin. Z alkenylglukosinolátů je na indolových a aromatických glukosinolátech závislý pouze glucobrassicinapin, který je u řepky zastoupen jen v malém množství. Hlavní zástupci alkenylglukosinolátů – progointrin a gluconapin –

I. Původ analyzovaných linií – Origin of analysed lines

Generace ¹	Rodiče ²
F ₂	NPZ 012, Navajo, Aztec, Olsen, AG 406, DP 94-8, NSL 94-12
F ₅	H 265/65, H 265/10, H 258/9, H 266/33, H 248/5, H 424/15, H 425/1
F ₆ /1	223/1, Licantara, 215/13, 230/7, Arabella, OP-038
F ₆ /2	B 001, Sv 004, Svalöfs Tor, Arabella, OP-038
F ₆ /3	H 265/65, H 265/10, H 258/9, H 266/33, H 248/5, H 424/15, H 425/1, 332/3
F ₇	Sv 02326 x Wesroona, Sv 02326 x Duplo, Sv 02326 x Sv 02279, Sv 02326 x Sv 02262, B 001 x Svalöfs Tor

Vysvětlivky: Šlechtitelské linie původem z Výzkumného ústavu olejin v Opavě jsou označeny pouze číslem

Comments: Breeding lines of domestic origin are designated with numbers only

¹generation, ²parents

II. Přehled glukosinolatů identifikovaných v semenech ozimé řepky – Survey of glucosinolates identified in winter rape seeds

Systematický název ¹	Triviální název ²	Zkratka ³
Alifatické glukosinoláty ⁴		
3-methylsulfinylpropyl	glucoiberin	IBE +
3-butenyl	gluconapin	GNA ++
2(R)-hydroxy-3-butenyl	progoitrin	PRO ++
2(S)-hydroxy-3-butenyl	epiprogoitrin	EPG +
4-methylsulfinylbutyl	glucoraphanin	RAP +
4-pentenyl	glucobrassicinapin	BNA ++
2-hydroxy-4-pentenyl	gluconapoleiferin	NAP +
5-methylsulfinylpentyl	glucoalyssin	ALS +
Indolové glukosinoláty ⁵		
3-indolylmethyl	glucobrassicin	BRA ++
A-methoxy-3-indolylmethyl	neoglucobrassicin	NBR ++
4-methoxy-3-indolylmethyl	4-methoxyglucobrassicin	MBR ++
4-hydroxy-3-indolylmethyl	4-hydroxyglucobrassicin	HBR ++
Aromatické glukosinoláty ⁶		
Phenylethyl	gluconasturtiin	NAS ++

+ – glukosinoláty identifikované v ozimé řepce nejvýše ve stopovém množství – glucosinolates identified in winter rapeseed as traces only

++ – glukosinoláty identifikované v množství větším než stopové – glucosinolates identified at significant quantity

¹systematic name, ²trivial name, ³abbreviation, ⁴aliphatic glucosinolates, ⁵indole glucosinolates, ⁶aralkyl glucosinolates

III. Obsah glukosinolatů v semenech šlechtitelských linií ozimé řepky – Glucosinolate content in seeds of winter rape

F ₂ - a = 28	PRO	GNA	HBR	BNA	BRA	NAS	MBR	NBR
Min.	1,3	0,7	3,3	0,4	0,5	0,5	0	stopy ²
Max.	7,6	12,2	11,1	2,0	2,9	3,3	0,5	
Průměr ¹	5,15	4,38	7,16	1,17	1,63	1,53	0,14	0,28
F ₅ - a = 28								
Min.	2,6	1,0	0,8	0,6	0,2	0,5	0	0,1
Max.	6,8	5,9	7,4	5,3	2,3	4,1	stopy	0,7
Průměr	4,34	3,09	4,02	2,65	0,74	2,21	0,00	0,40
F _{6/1} - n = 208								
Min.	1,2	1,1	0,8	0,2	stopy	stopy	stopy	stopy
Max.	9,5	10,1	12,9	6,3	3,8	7,1	0,5	1,7
Průměr	4,36	3,99	6,02	1,74	1,08	1,73	0,11	0,36
F _{6/2} - n = 78								
Min.	1,4	0,6	0,6	stopy	0,1	stopy	stopy	0
Max.	7,5	9,9	12,6	1,9	3,9	2,3	0,9	1,0
Průměr	4,07	2,097	4,85	0,89	1,01	0,64	0,18	0,18
F _{6/3} - n = 45								
Min.	1,7	1,4	0,4	0,5	0	0	0	0
Max.	8,7	7,3	10,8	6,1	3,9	3,5	1,9	1,1
Průměr	4,47	4,24	4,33	1,95	0,76	1,18	0,31	0,23
F ₇ - a = 54								
Min.	0,5	0,9	0	0,3	stopy	stopy	0	0
Max.	22,5	21,6	12,5	2,9	4,0	4,9	0,8	2,0
Průměr	3,75	2,71	5,54	1,16	1,35	1,26	0,12	0,27

Vysvětlivky:

Min. – minimální naměřená hodnota ve skupině linií (μmol GSL/l g sušiny semene)

Max. – maximální naměřená hodnota ve skupině linií (μmol GSL/l g sušiny semene)

stopy – identifikované množství glukosinolátu menší než 0,1 %

Comments:

Min. – minimal value obtained in the group of analysed lines (μmol GSL/l g of dry seed)

Max. – maximal value obtained in the group of analysed lines (mol GSL/l g of dry seed)

traces – identified glucosinolate quantity lower than 0.1%

¹mean, ²traces

IV. Korelační koeficienty mezi obsahy jednotlivých glukosinolatů – Correlation coefficients between the contents of individual glucosinolates

		PRO	GNA	HBR	BNA	BRA	NAS	MBR
NBR	F ₂	0,40*	0,3	0,42**	0,35*	0,49**	0,35*	0,03
	F ₅	0,34	0,05	0,86**	0,75**	0,27	0,89**	
	F _{6/1}	-0,03	-0,06	-0,04	0,60**	0,36**	0,68**	0,19**
	F _{6/2}	0,35**	0,30**	0,14	0,24*	0,01	0,39**	0,54**
	F _{6/3}	-0,04	0,07	0,08	0,30*	0,07	0,49**	0,62**
	F ₇	0,12	0,25*	-0,09	-0,01	-0,2	-0,1	0,62**
MBR	F ₂	0,39*	0,003	-0,24	0,07	-0,16	0,22	
	F ₅							
	F _{6/1}	0,002	-0,04	-0,04	0,19**	0,02	0,28**	
	F _{6/2}	-0,02	0,28**	0,28**	0,38**	0,24*	0,70**	
	F _{6/3}	-0,27	0,01	0,37**	0,56**	0,39**	0,81**	
	F ₇	-0,16	0,03	-0,37**	-0,17	-0,34**	-0,1	
NAS	F ₂	0,28	0,13	0,4*	0,39*	0,39*		
	F ₅	0,41*	0,05	0,89**	0,83**	0,48**		
	F _{6/1}	0,07	0,05	-0,11	0,69**	0,23**		
	F _{6/2}	-0,16	0,05	0,45**	0,46**	0,45**		
	F _{6/3}	0,32*	-0,03	0,50**	0,60**	0,37**		
	F ₇	0,51**	0,39**	0,37**	0,06	0,46**		
BRA	F ₂	0,21	0,50**	0,44**	0,60**			
	F ₅	0,21	0,13	0,55**	0,58**			
	F _{6/1}	-0,05	-0,05	0,30**	0,25**			
	F _{6/2}	-0,43**	-0,17	0,70**	0,46**			
	F _{6/3}	0,04	0,001	0,44**	0,34**			
	F ₇	0,17	-0,09	0,76**	-0,01			
BNA	F ₂	0,38*	0,28	0,45**				
	F ₅	0,55**	0,04	0,80**				
	F _{6/1}	0,1	0,08	0,08				
	F _{6/2}	0,03	-0,15	0,66**				
	F _{6/3}	-0,25	-0,1	0,60**				
	F ₇	0,18	0,04	0,39**				
HBR	F ₂	-0,08	0,28					
	F ₅	0,28	0,04					
	F _{6/1}	0,0004	0,08					
	F _{6/2}	-0,27*	-0,15					
	F _{6/3}	-0,31**	-0,1					
	F ₇	0,2	0,04					
GNA	F ₂	0,11						
	F ₅	0,72**						
	F _{6/1}	0,75**						
	F _{6/2}	0,60**						
	F _{6/3}	0,57**						
	F ₇	0,91**						

* koeficient statisticky průkazný ($P = 0,05$) – statistically significant coefficient ($P = 0,05$)

** koeficient statisticky vysoce průkazný ($P = 0,01$) – statistically highly significant coefficient ($P = 0,01$)

spolu jsou korelačně svázány, s jinými zjištěnými glukosinoláty nejsou v korelačním vztahu. Změny obsahu těchto dvou glukosinolatů prakticky nemají dopad na obsah ostatních glukosinolatů.

Clossais-Besnard a Larher (1991) sledovali obsah jednotlivých glukosinolatů v rostlině a semeni jarní řepky odrůd Chine (stará odrůda) a Drakkar (00 typ) v průběhu vývoje. Obsah jednotlivých glukosinolatů v se-

V. Obsah jednotlivých glukosinolatů v semenech odrůd řepky Drakkar a Chine (μmol/g odtučněné sušiny – Clossais-Besnard, Larher, 1991) – Contents of glucosinolates in the seeds of rape varieties Drakkar and Chine (μmol/g of dry meal – Clossais-Besnard, Larher, 1991)

Glukosinolat ¹	Chine	Drakkar
Progoitrin	22,0–27,95	3,94–10,27
Glucanapin	11,22–14,57	1,58–3,16
4-hydroxyglucobrassicin	2,95–6,79	1,92–6,45
Glucobrassicinapin	2,34–5,97	0–0,35
Glucobrassicin	0,42–0,81	0,83–1,27
Glucanasturtiin	1,35–1,82	0–0,26
4-methoxyglucobrassicin	0,17–0,32	0,17–0,41
Neoglucobrassicin	0–0,05	0–0,09

¹glucosinolate

menech (μmol/g odtučněné sušiny) je uveden v tab. V. Vyšší obsah glukosinolatů u odrůdy Chine je zapříčiněn především vysokým obsahem alkenylglukosinolatů, obsah indolylglukosinolatů u obou odrůd je podobný. Ke stejnému závěru dospěli i Bilborrow *et al.* (1993) při srovnání obsahu jednotlivých glukosinolatů v jedno- a dvounulových odrůdách ozimé řepky. Ve shodě s předchozími autory také zjistili, že z indolylglukosinolatů jsou nejvíce zastoupeny 4-hydroxyglucobrassicin a glucobrassicin. Zhao *et al.* (1994) sledovali obsah jednotlivých glukosinolatů u odrůd ozimé řepky Bienvenu (0) a Cobra (00). V semenech byl u obou odrůd nejvíce zastoupen progoitrin. Koncentrace indolových glukosinolatů byla u obou typů přibližně stejná. K obdobným závěrům také dospěli Wielebski (1997), Wu, Yuan (1991) a Kudla (1997). Výsledky analýz uvedené v této práci jsou s údaji uvedených autorů v dobré shodě. Je možné, že na zjištěné vysoké variabilitě indolylglukosinolatů se výrazně podílí i geneticky podmíněná složka, nebylo to ale možné ověřit, protože v každé generaci byl analyzován materiál pocházející z odlišných křížení.

Voškeruša (1993), Bilborrow *et al.* (1993) a Clossais-Besnard, Larher (1991) shodně uvádějí, že snižování obsahu celkových glukosinolatů se děje výhradně cestou snižování obsahu alkenylglukosinolatů. Tato zjištění jsou ve shodě s vypočtenými korelačními koeficienty, kdy byla prokázána nezávislost mezi hlavními zástupci alkenyl- a indolylglukosinolatů. Kudla (1997) rovněž uvádí statisticky neprůkazné korelace mezi alkenyl- a indolylglukosinoláty. Silná korelační provázanost jednotlivých indolylglukosinolatů mezi sebou indikuje, že zřejmě bude mnohem snazší šlechtitelsky ovlivnit tuto skupinu jako celek než jednotlivé izolované glukosinoláty.

Obsah celkových indolylglukosinolatů není ve srovnání s alkenylglukosinoláty tak významný, aby bylo prioritním cílem šlechtění snížení jejich obsahu. Vlastnosti těchto látek nejsou dosud zcela prozkoumány – kromě jejich spojení s obranyschopností rostliny jsou náznaky i dalších příznivých vlastností, jako je např. antikarcinogenní účinek. Linie s rozdílným obsahem jednotlivých indolylglukosinolatů proto mohou být velmi významným přínosem pro výzkum a šlechtění.

LITERATURA

- Bilborrow P. E. *et al.* (1993): Glucosinolate changes in developing pods of single and double low varieties of autumn-sown oilseed rape (*B. napus*). *Ann. Appl. Biol.*, 122: 135–143.
- Birch A. E. N. *et al.* (1992): Glucosinolate responses of swede, kale, forage and oilseed rape to root damage by turnip root fly (*Delia floralis*) larvae. *J. Sci. Food Agric.*, 60: 1–9.
- Bodnaryk P. R. (1991): Effects of wounding on glucosinolates in the cotyledons of oilseed rape and mustard. *Phytochemistry*, 31 (8): 2671–2677.
- Clossais-Besnard N., Larher F. (1991): Physiological role of glucosinolates in *Brassica napus*. Concentration and distribution pattern of glucosinolates among plant organs during a complete life cycle. *J. Sci. Food Agric.*, 56: 25–38.
- Fábry A. *et al.* (1992): Olejiny. MZeČR.
- Giamoustaris A., Mithen R. (1997): Glucosinolates and disease resistance in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*). *Plant Pathol.*, 46, 271–275.
- Kudla M. (1997): Problem of glucosinolates in oilseed rape breeding for quality. *Rosliny oleiste, XVIII*: 119–134.
- Mezinárodní norma ISO 9167-1:1992(E). Rapeseed – Determination of glucosinolates content, Part 1: Methods using high performance liquid chromatography.
- Voškeruša J. (1993): Podíl jednotlivých alkenylglukosinolatů v glukosinolatové složce řepkového semene. *Rostl. Výr.*, 39: 401–409.
- Wielebski F. (1997): Influence of increasing sulphur doses on glucosinolate composition in seeds of two winter oilseed rape cultivars. *Rosliny oleiste, XVIII*: 179–186.
- Wu M., Yuan J. (1991): Separation and purification of glucosinolate components and study of the characteristics of glucosinolates in chinese rapeseed with HPLC. *Bulletin GCIRC*: 834–836.
- Zhao F. *et al.* (1994): Influence of nitrogen and sulphur on the glucosinolate profile on rapeseed (*Brassica napus*). *J. Sci. Food Agric.*, 64, 295–304.

Došlo 26. 1. 1999

Kontaktní adresa:

Ing. Oldřich Kolovrat, Oseva PRO, s. r. o., o. z. Výzkumný ústav olejin Opava, Purkyňova 6, 746 01 Opava, Česká republika, tel.: 0653/62 41 60, 62 42 80, fax: 0653/62 43 88, e-mail: VUOL@pvtnet.cz

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

Current Contents

na disketách

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

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

Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:

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

Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce
– vytištění rešerše – 1,50 Kč za 1 stranu A4
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus
– poštovné + režijní poplatek 15 %

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

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

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

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520, fax: 02/24 25 39 38

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

PRESENT STATE AND FUTURE TASKS OF THE RESEARCH ON BARLEY RESISTANCE TO BARLEY YELLOW DWARF VIRUS IN THE CZECH REPUBLIC*

SOUČASNÝ STAV A ZAMĚŘENÍ VÝZKUMU REZISTENCE JEČMENE
K VIRU ŽLTÉ ZAKRSLOSTI V ČESKÉ REPUBLICĚ

V. Šíp, J. Chrpová, J. Vacke, J. Ovesná

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

ABSTRACT: Infection with barley yellow dwarf virus (BYDV) is a serious threat to the cultivation of barley in many parts of the world. The use of germplasm resistant to BYDV is generally regarded as the most effective means of controlling damage caused by this pathogen. Effective sources of resistance have been detected in both the spring and winter barley cultivars, but pyramiding resistance genes are necessary for increasing the resistance level. Studies of genetic diversity of resistance and effects of genetic background on gene expression are important from breeding aspects. There is now at disposal PCR diagnostic marker of BYDV resistance gene Yd2, used in RICEP Prague successfully in spring barley. It is however necessary to develop markers for resistance genes detected in winter barley and markers of genes conferring moderate resistance in the registered cultivars Malvaz and Atribut. Combining major gene Yd2 and minor genes, detected in modern barley cultivars, appears to be the most prospective way to reach success in breeding barley for BYDV resistance under the conditions of the Czech Republic.

Keywords: barley; barley yellow dwarf virus; resistance genes; molecular markers

ABSTRAKT: Potřeba detekce účinných genů rezistence k viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV) vychází z vysoké hospodářské škodlivosti tohoto patogena. Uplatnění molekulárních markerů genů urychlí šlechtitelský proces a je nezbytné také z důvodu značné pracovní i finanční náročnosti testů rezistence. K dispozici je diagnostický marker genu rezistence Yd2, jehož využitelnost ve šlechtění byla u nás potvrzena u jarních forem. Bude však třeba odvodit markery umožňující detekci genů rezistence u mírně rezistentních genotypů ozimého ječmene a markery genů podmiňujících mírnou rezistenci, zjištěnou u některých současných odrůd jarního ječmene. Perspektivní cestou k dosažení požadované úrovně rezistence v českém šlechtění jarního ječmene zřejmě je kombinace major genu Yd2 s minor geny přítomnými v mírně odolných současných odrůdách (Malvaz, Atribut). K závažným úkolům výzkumu nadále patří studium genetické diversity v rezistenci a vlivu genetického pozadí na expresi detekovaných genů.

Klíčová slova: ječmen; virus žluté zakrslosti ječmene; geny rezistence; molekulární markery

The infection caused by barley yellow dwarf virus (BYDV) is a serious disease in many parts of the world, including Central Europe. BYDV is luteovirus, transmitted persistently by cereal aphids. The important vectors are *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* and *Metopolophium dirhodum*. The virus has several strains with different properties but PAV strain has the greatest im-

portance in the Czech region (Vacke, 1988). Virus was identified for the first time in 1951 in the USA. Since the beginning of the sixties the occurrence of this virus has been observed in the Czech Republic (Vacke, 1964). During the past 10–15 years very strong and at some time even epidemic spreading has been recorded in many regions (Vacke, 1991). It is possible to expect such

* Research on BYDV resistance in RICEP Prague-Ruzyně was supported by the Ministry of Agriculture (Project No. EP6413) and GACR (Project No. 521/97/0749).

a tendency in the near future as well. BYDV causes damage mainly to barley and oats but wheat, maize and grasses are partially attacked, too. Yield losses could reach up to 20–30% and in the case of strong invasion the crop could be completely destroyed. Infections at the beginning of vegetation period (stage of second-third leaf) are particularly dangerous and may cause, according to Pike (1990), yield losses in barley ranging from 14.8 to 93.2%. More frequent in the Central European regions are, however, infections at later stages causing 10–30% losses (Vacke, 1991). The symptoms of infection are leaf discolorations, strong plant dwarfism, inhibition of root system development, reduction of tillering, heading delay and reduction of grain number and grain weight. In connection with a lower percentage of first quality grains, also some malting quality characters are negatively influenced (Vacke *et al.*, 1997b). After the early infection of susceptible barley plants, fertility is absent. Another adverse effect of BYDV infection in cereals is increased predisposition of an infected plant to infestation with other diseases (*Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Septoria* spp. and others).

The use of germplasm resistant to BYDV is generally regarded as the most effective means of controlling damage caused by this pathogen. According to the field infection tests with Czech and Slovak spring barley cultivars and advanced breeding lines, performed in RICP, Prague-Ruzyně in the 1992–1997 period, most cultivars were susceptible or highly susceptible to BYDV infection (symptom scores: 6.9–9.0; on 0–9 scale – Schaller, Qualset, 1980) with grain yield reductions ranging from 70–100% (Vacke *et al.*, 1997a). Among the tested registered spring barley cultivars only Malvaz and Atribut showed moderate resistance (symptom scores on average: 5.1–5.2). Similarly like in spring barley, the majority of registered winter barley cultivars were found susceptible to BYDV infection. The cultivars Kamil, Kromir, Kromoz, Marinka, Marna and Monako were very susceptible (symptom scores: 9) and infected plants of these cultivars failed to head either completely or partially, and failed to produce any grain yield. Mild resistance was recorded only in the cultivar Sibra (symptom scores: 5) (Vacke *et al.*, 1998).

As the high resistance has not been detected in the cultivated (registered) barley cultivars, testing of wide germplasm for resistance to BYDV was necessary to carry out and collections of BYDV resistance sources, mainly from CIMMYT and ICARDA, were included into tests. The highest resistance level (symptom scores: 2.8–4.5) was detected in the following spring barley materials: CORRIS, UC 76252/NK71, SUTTER, GIZA 121/PUE, and BREA'S'/BEN, that were analyzed genetically with the aim to obtain information about the mode of inheritance of BYDV resistance. In winter barley the resistance at a similar level like in Sibra was detected in the cultivar Perry. Newly also winter barley materials coming from cooperating institutions in Germany (Habekuss, 1995) and Italy (Fiorenzuola d'Arda)

were tested and some of them were found as highly resistant to the examined PAV strain of BYDV. Cooperation enables to test the response of selected materials to different BYDV strains under different conditions.

Suneson (1955) identified a recessive resistance gene in the cultivar Rojo, denominated as *yd1*, which, however, has not been exploited in barley breeding due to its low effect on BYDV resistance. Until now, the resistance to BYDV based on a semidominant *Yd2* resistance gene, detected by Schaller and Qualset (1963) in the very early barley cultivars of Ethiopian origin, has been effectively used (Qualset, 1989). This gene is tightly linked with the genes that control spike density (15.9cM), spike colour (14.5cM) and resistance to *Rhynchosporium secalis* (15.9cM). In 1996, Collins *et al.* detected that *Yd2* gene is localized on the long arm of chromosome 3H near the centromere and found that *Yd2* perfectly co-segregated with the RFLP loci *Xwg889* and *Xylp*. Paltridge *et al.* (1998) developed codominant PCR diagnostic marker (YLM), converted from AFLP marker, which was obtained using two thousand doubled haploid lines of Proctor x Shannon cross and verified on several more cultivars. Recently, Ovesná *et al.* (1999) verified the possibility of the use of PCR diagnostic marker YLM in breeding spring barley for resistance to BYDV and analyses of F3 plants of the Atlas68 (*Yd2* gene)/Jaspis cross revealed that this codominant marker, able to distinguish homozygous and heterozygous condition, may be a valuable tool for identification of resistant materials also on an individual plant basis, which is difficult in field infection tests, highly influenced by environmental factors and other genes that affect plant development and appearance. Until now, however, we have not obtained any similar results in winter barley. Further molecular studies are necessary. In the *Yd2* locus allelic variability can be expected. According to the results of Chalhoub *et al.* (1995), recessive resistance gene in the cultivar Chikurin Ibaraki 1 is tightly linked or allelic with *Yd2*.

The presence of *Yd2* gene has been detected in several spring and winter barley cultivars: Atlas 68, Abate, CI2376 (Schaller, 1983), UC476 (Schaller *et al.*, 1990), Corris, Coracle, CM 67, CM 72, Franklin, Nomin, Prato, Shannon, Shyri, Sutter, UC 337, UC 566, UC 603, Venus, Vixen and Wysor (Burnett *et al.*, 1995). A single major gene *Yd2* was responsible for the resistance to BYDV in Brea'S'/Ben (Šíp *et al.*, 1997) and with the use of PCR diagnostic marker YLM also the highly resistant CIMMYT line Giza 121/Pue appeared to carry this gene, similarly as Atlas 68 and Brea'S'/Ben (Ovesná *et al.*, 1999). *Yd2* signal was not detected in the moderately resistant Czech spring barley cultivars Malvaz and Atribut (which is in accordance with results of genetical analyses) and in the winter barley cultivars Perry and Sibra. Segregation analyses in the generation F3 showed that major gene different from *Yd2* is likely to confer resistance to BYDV in Perry. Also genetical analyses of crosses with the cultivar Sibra indicate a different genetic basis of resistance in this

cultivar. Segregation analyses of the response to BYDV infection in F3 lines of the crosses between Malvaz and susceptible cultivars Akcent and Jaspis, supplemented by quantitative ELISA assay of BYDV in leaf extracts, showed that at least two genes of minor effects were responsible for the resistance of Malvaz (Šíp *et al.*, 1997). The intercrossing of moderately resistant cultivars Malvaz and Atribut did not result in the increase of resistance level but combining major (Yd2) and minor genes appeared to be the most prospective way to reach success in breeding spring barley for BYDV resistance (similarly Qualset, 1983). Minor genes from Swedish and Norwegian landraces, besides Yd2 gene, were exploited in Sweden (Weibull, 1993).

Detection of resistance genes different from Yd2 is important for resistance breeding because it enables pyramiding resistance genes. Though introduction of Yd2 gene is generally regarded as highly beneficial (also in our tests – Šíp *et al.*, 1997), the effects of this gene in different genetic backgrounds may be different (Qualset, 1983). Makkouk and Ghulam (1994) found that the genetic background may mainly influence the rate of virus spreading within a plant. The effectiveness of this gene may be reduced in material with a long growth cycle such as winter-habit genotypes (Jones, Catherall, 1970). Comeau and Jedlinski (1990) noted that when introduced into cultivated varieties, Yd2 appears to be associated with negative traits such as excessive plant height and limited yield with poor quality seed. Nevertheless, resistant cultivars have been released in various parts of the world (Larkin *et al.*, 1991), indicating that the negative association can be overcome by selection. Delogu *et al.* (1995) have succeeded in development of new winter barley genotypes that incorporate both Yd2 resistance and superior agronomic traits for areas where BYDV is endemic. St-Pierre *et al.* (1998) postulated that improvement of yield stability will result from basic gene reactions to biotic and abiotic stresses. Specific selection for BYDV resistance and drought resistance seems more and more possible.

Also the response of Yd2 gene carriers to different BYDV strains and isolates that differ in pathogenicity should be studied. Herrera and Plumb (1991) showed that the Yd2 gene was very effective in preventing damage caused by MAV- and PAV-like isolates but conferred little or no benefit when an RPV-like isolate caused infection. Interactions between PAV-like isolates of BYDV and barley genotypes were detected by Chalhoub *et al.* (1994). In Australia Banks *et al.* (1992) found Yd2 resistance effective against 2 of 3 examined BYDV-RPV isolates.

Owing to the fact that Yd2 gene has not yet been introduced to high yielding materials suitable for the conditions of the Czech Republic, it is necessary to apply a recurrent selection scheme with repeated backcrossing to modern cultivars. Foroughi-Wehr and Wenzel (1990) showed that for breeding programmes that include wild or unrelated genotypes, recurrent selection alternating with several haploid steps is the most effi-

cient way to reach success. With the use of molecular marker of Yd2 gene the breeding process could be substantially shortened, without destroying the plant (Ford *et al.*, 1998; Paltridge *et al.*, 1998; Ovesná *et al.*, 1999). To obtain the highest resistance level, it was found particularly advantageous to cross unrelated donors of Yd2 gene with the modern cultivars showing moderate resistance (Šíp *et al.*, 1997) and the selection could be more effective if loci for the involved resistance genes were identified. As minor genes are likely to be responsible for this resistance, it would be necessary to choose an approach common for quantitative traits (QTL). QTL markers segregate, however, according to Mendel laws and they are not dependent on environmental conditions. Mapping of QTL's was enabled in the last 10 years by the marker systems like RFLP, RAPD, AFLP and microsatellites, and it is also possible to prepare desirable plant populations (Graner *et al.*, 1994; Vos *et al.*, 1995; Powell *et al.*, 1996; Struss, Plieske, 1998). Mapping of QTL's in barley is now performed in many laboratories, concentrated on various characters, like malting quality characters, resistance to diseases and so on (Kasha *et al.*, 1995; Tinker *et al.*, 1996; Han *et al.*, 1997; Lee, Penner, 1997; Mather *et al.*, 1997; Thomas *et al.*, 1998; Toojinda *et al.*, 1998). Identification of gene loci responsible for resistance of Atribut and Malvaz, using populations of randomly selected inbred lines, is our future objective. Another objective is the development of molecular markers of genes detected in winter barley cultivars Perry and Sibra. Marker-assisted breeding for BYDV resistance is substantiated also by lower costs of analyses in comparison with field infection tests.

REFERENCES

- Banks P. M., Waterhouse P. M., Larkin P. J. (1992): Pathogenicity of three RPV isolates of barley yellow dwarf virus on barley, wheat and wheat alien addition lines. *Ann. Appl. Biol.*, 121: 305–314.
- Burnett P. A., Comeau A., Qualset C. O. (1995): Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf virus. In: D'Arcy C. J., Burnett P. A. (eds.): *Barley Yellow Dwarf – 40 Years of Progress*. St. Paul, Minnesota, Canada, APS Press: 321–343.
- Catherall P. L., Hayes J. D. (1966): Assessment of varietal reaction and breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. *Euphytica*, 15: 39–51.
- Chalhoub B. A., Sarrafi A., Lapierre H. D. (1995): Partial resistance in the barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivar 'Chikuri Ibaraki 1' to two PAV-like isolates of barley yellow dwarf virus: allelic variability at the Yd2 gene locus. *Plant Breeding*, 114: 303–307.
- Chalhoub B. A., Sarrafi A., Beuve M. A., Lapierre H. D. (1994): Differential interactions between PAV-like isolates of barley yellow dwarf virus and barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *J. Phytopathology*, 142: 189–198.
- Collins N. C., Paltridge N. G., Ford C. M., Symons R. H. (1996): The Yd2 gene for barley yellow dwarf virus resistan-

- ce maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theor. Appl. Genet.*, **92**: 858–864.
- Comeau A., Jedlinski H. (1990): Successful breeding for barley yellow dwarf resistance or tolerance: a systematic approach related to other agronomic characteristics. In: Burnett P. A. (ed.): *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. Mexico, CIMMYT: 441–451.
- Comeau A., St. Pierre C. A. (1982): Trials on the resistance of cereals to barley yellow dwarf virus (BYDV). Report no. 4. Res. Stat. Agric. Canada, Sainte-Foy, Quebec, Canada. 132 p.
- Delogu G., Cattivelli L., Snidaro M., Stanca A. M. (1995): The Yd2 gene and enhanced resistance to barley yellow dwarf virus (BYDV) in winter barley. *Plant Breeding*, **114**: 417–420.
- Ford C. M., Paltridge N. G., Rathjen J. P., Moritz R. L., Simpson R. J., Symons R. H. (1998): Rapid and informative assays for Yd2, the barley yellow dwarf virus resistance gene, based on the nucleotide sequence of a closely linked gene. *Mol. Breeding*, **4**: 23–31.
- Foroughi-Wehr B., Wenzel G. (1990): Recurrent selection alternating with haploid steps, a rapid breeding procedure for combining agronomic traits in inbreeders. *Theor. Appl. Genet.*, **80**: 564–568.
- Graner A., Bauer E., Kellermann A., Kirchner S., Muraya J. K., Jahoor A., Wenzel G. (1994): Progress of RFLP map construction in winter barley. *Barley Genet. Newsl.*, **23**: 53–59.
- Habekuss A. (1995): Results of ten year selection of winter barley for tolerance to barley yellow dwarf virus. In: Proc. Int. Symp., 12–16 June, 1995, Aschersleben, Germany: 99–103.
- Han F., Romagosa I., Ullrich S. E., Jones B. L., Hayes P. M., Wesenberg D. M. (1997): Molecular marker-assisted selection for malting quality traits in barley. *Mol. Breeding*, **3**: 427–437.
- Herrera G. M., Plumb R. T. (1991): The effects of MAV-, PAV- and RPV-like isolates of BYDV on spring and winter barley cultivars. *Acta Phytopath. et Entomol. Hungar.*, **26**: 41–45.
- Jones A. T., Catherall P. L. (1970): The relationship between growth rate and the expression of tolerance to barley yellow dwarf virus in barley. *Ann. Appl. Biol.*, **65**: 137–145.
- Kasha K. J., Kleinhofs A., Kilian M., Saghai Maroof G. J., Scoles P. M., Hayes F. Q., Chen X., Xia X. Z., Li R. M., Biyashev D., Hoffman L., Dahleen T. K., Blake B. G., Rosnagel B. J., Jefferson P. L., Thomas D. E., Falk A., Laroche W., Kim S. J., Molnar A., Sorrells M. E. (1995): The North American barley map on the cross HT and its comparison to the map on cross SM. In: Tsunewaki K. (ed.): *The Plant Genome and Plastome: Their Structure and Evolution*. Tokyo, Kodansha Scientific Ltd.: 73–88.
- Larkin P. M., Young M. J., Gerlach W. L., Waterhouse P. M. (1991): The Yd2 resistance to BYDV is effective in barley plants but not in their leaf protoplasts. *Ann. Appl. Biol.*, **118**: 115–125.
- Lee S. J., Penner G. A. (1997): The conversion of RFLP markers to allele specific amplicons linked to QTLs governing malting quality in barley. *Mol. Breeding*, **3**: 457–462.
- Makkouk K. M., Ghulam W. (1994): Resistance of barley genotypes with Yd2 gene to the movement of barley yellow dwarf virus. *Rachis*, 1992, publ. 1994, **11**: 1–2, 81–83.
- Mather D. E., Tinker N. A., Laberge D. E., Edney D., Jones B. L., Rosnagel B. G., Briggs K. G., Irvine R. B., Falk D. E., Kasha K. J. (1997): Regions of the genome that affect grain and malt quality in a North American two-row barley cross. *Crop Sci.*, **37**: 544–554.
- Ovesná J., Šíp V., Vacke J., Kučera L. (1999): Evaluation of resistance to BYDV with the use of PCR marker linked to Yd2 gene in comparison with the results of field infection tests in spring barley. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, **35**: 37–41.
- Paltridge N. G., Collins N. C., Bendahmane A., Symons R. H. (1998): Development of YLM, a codominant PCR marker closely linked to the Yd2 gene for resistance to barley yellow dwarf disease. *Theor. Appl. Genet.*, **96**: 1170–1177.
- Pike K. S. (1990): A review of barley yellow dwarf virus grain yield losses. In: Burnett P. A. (ed.): *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*, Mexico, CIMMYT: 368–382.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. (1996): The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breeding*, **2**: 225–238.
- Qualset C. O. (1983): Evaluation and breeding methods for barley yellow dwarf resistance. *Barley Yellow Dwarf*. In: Proc. Workshop, Mexico, CIMMYT: 72–80.
- Qualset C. O. (1989): Developing host plant resistance to barley yellow dwarf virus: An effective control strategy. Proc. Workshop organized by ICARDA and IDRC, November 19–21: 115–129.
- Rasmuson D. C., Schaller C. W. (1959): The inheritance of resistance in barley to the yellow dwarf virus. *Agron. J.*, **51**: 661–664.
- Schaller C. W. (1983): The genetics of resistance to barley yellow dwarf virus in barley. In: *Barley Yellow Dwarf*, Mexico, CIMMYT: 60–71.
- Schaller C. W., Qualset C. O. (1963): Sources of resistance to the yellow dwarf virus in barley. *Crop. Sci.*, **3**: 342–344.
- Schaller C. W., Qualset C. O. (1980): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus. In: Proc. Third Int. Wheat Conf., Madrid, Spain, University of Nebraska Agric. Experiment. Station, Public. MP 41: 528–541.
- Schaller C. W., Jackson L. F., Smith M. J., Prato L. (1990): Registration of 'UC 476' barley. *Crop Sci.*, **30**: 1154.
- St-Pierre, C. A., Rioux S., Comeau A. (1998): Yield stability of wheat through genetic resistance to biotic and abiotic stresses. In: Proc. 9th Int. Wheat Genetics Symp., Saskatoon, Saskatchewan, Canada, 2–7 August 1998: 49–52.
- Struss D., Plieske J. (1998): The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor. Appl. Genet.*, **97**: 115–120.
- Suneson C. A. (1955): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus in barley. *Agronomy J.*, **47**: 283.
- Šíp V., Vacke J., Chrpová J., Škorpík M. (1997): Genetická diverzita a dědičnost rezistence k viru žluté zakrslosti ječmene u ječmene jarního (Genetic diversity and mode of inheritance of resistance to BYDV in barley). *Genet. a Šlecht.*, **33**: 261–279.
- Thomas W. T. B., Baird E., Fuller J. D., Lawrence P., Young G. R., Russell J., Ramsay L., Waugh R., Powell W. (1998): Identification of a QTL decreasing yield in barley linked to Mlo powdery mildew resistance. *Mol. Breeding*, **4**: 381–393.

- Tinker N. A., Mather D. E., Rossnagel B. G., Kasha K. J., Kleinhofs A., Hayes P. M., Falk D. E., Ferguson T., Shugar L. P., Legge W. G., Irvine R. B., Choo T. M., Briggs K. G., Ullrich S. E., Franckowiak J. D., Blake T. K., Graf R.J., Dofing S. M., Saghai Maroof M. A., Scoles G. J., Hoffman D., Dahleen L. S., Kilian A., Chen F., Biyashev R. M., Kudrna D. A., Steffenson B. J. (1996): Regions of the genome that affect agronomic performance in two-row barley. *Crop Sci.*, 36: 1053–1062.
- Toojinda T., Baird E., Booth A., Broers L., Hayes P., Powell W., Thomas W., Vivar H., Young G. (1998): Introgression of quantitative trait loci (QTLs) determining stripe rust resistance in barley: an example of marker-assisted line development. *Theor. Appl. Genet.*, 96: 123–131.
- Vacke J. (1964): Barley yellow dwarf virus in Czechoslovakia. *Rostl. Vyr.*, 10: 859–868.
- Vacke J. (1988): Reakce některých odrůd ozimé pšenice a ozimého ječmene na infekci virem žluté zakrslosti ječmene. Final Report: Výzkum a diagnóza rostlinných virů a chorob příbuzné etiologie, ochrana hospodářsky významných zemědělských plodin: 30–33.
- Vacke J. (1991): Výskyt virů na obilovinách a jejich škodlivost. In: Proc. Sem. Aktuální problémy ochrany polních plodin, Praha: 100–109.
- Vacke J., Šíp V., Škorpík M. (1997a): Reakce vybraných odrůd a novošlechtění ječmene jarního na infekci virem žluté zakrslosti ječmene (Response of selected spring barley varieties and advanced breeding lines to the infection with barley yellow dwarf virus). *Genet a Šlecht.*, 33: 33–44.
- Vacke J. Šíp V., Škorpík M. (1998): 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). *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 34: 27–29.
- Vacke J., Růžička F., Šíp V., Škorpík M. (1997b): Effect of barley yellow dwarf virus on some qualitative criteria of malting barley. *Ann. Rep., RICP, Prague-Ruzyně*: 55–56.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Rijans M., Van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995): AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acid Res.*, 23: 397–410.
- Weibull J. (1993): Utilization of minor genes for resistance to barley yellow dwarf virus in barley. *Nord. Jordbr.-Forsk.*, 75: 23–24.

Received for publication on May 19, 1999

Contact Address:

Ing. Václav Šíp, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2/33 02 23 65, fax: +420 2/33 02 22 86, e-mail: sip@hb.vurv.cz

Upozornění pro autory vědeckých časopisů

Z důvodu rychlejšího a kvalitnějšího zpracování grafických příloh (grafů, schémat apod.) příspěvků zasílaných do redakce Vás žádáme o jejich dodání kromě tištěné formy i na disketách.

Pérovky mohou být zpracovány jako předloha pro skenování nebo mohou být dodány též jako bitmapa ve formátu ***.TIF** (600 DPI). Pro skenování by grafy neměly obsahovat šedivé plochy. Místo šedi se mohou použít různé typy černobílého šrafování.

Jestliže jsou **grafy vytvořeny v programu EXCEL**, je potřeba je dodat uložené v tomto programu (nestačí grafy naimportované do programu WORD).

Obrázky **nezasílejte** ve formátu **Harvard Graphics**, nýbrž vyexportované do některého z výše uvedených formátů.

NOVÉ ODRŮDY – NEW VARIETIES

Hrách setý Zekon

Registrován: Česká republika, 1999, Slovenská republika, 1999

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

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

Rodokmen: (SUM x LU – 0040) x EMERALD

LU – 0040 je křížencem dvou lužanských novošlechtění.

Metoda šlechtění – rodokmenová: První křížení bylo provedeno v roce 1985. Individuální výběry rostlin se opakují každoročně od generace F₂. Potomstva vybraných rostlin se vysévají na plochu 2,5–3 m² v řidším sponu (cca 40 semen na m²). Pokud je materiál relativně vyrovnaný, zahajují se od generace F₄ výnosové zkoušky ve dvou opakováních po 10 m². V dalších generacích se zvyšuje počet opakování na tři. Při homogenizaci vybraných potomstev, která trvá obvykle tři až čtyři roky, se vyřazují odlišné linie a podle potřeby se zařazují reselectione rostlin ze zkoušek výkonu. Výnosové zkoušky se postupně rozšiřují od tří až na šest lokalit. Selektce na rezistenci ke komplexu kořenových a krčkových chorob, které jsou u hrachu nejdůležitější, probíhá již od generace F₁ výsevem do zamořené půdy. Skleníkové provokační testy na komplex fuzarióze se provádí opakovaně od generace F₆. Ve firmních zkouškách byly provedeny testy na odolnost k jednotlivým rasám *Fusarium oxysporum f. sp. pisi*. U všech vybraných výnosových zkoušek byly provedeny testy na obsah N-látek, škrobu a antinutričních látek (TIA). Do registračních zkoušek ÚKZUZ v ČR a ÚKSUP ve SR bylo novošlechtění přihlášeno v roce 1996 a v obou zemích registrováno v roce 1999 (v F₁₃) pod názvem Zekon.

Odolnost k chorobám: Je rezistentní k *F. oxysporum f. sp. pisi* rasa 1 a 2 a má velmi dobrou polní odolnost ke komplexu kořenových a krčkových chorob, obecné strupovitosti a peronospoře. Střední odolnost má k bakteriózám, padlí a virózám.

Jakost: Má dobrý soubor technologických vlastností, zejména velmi dobrou vyrovnanost barvy semen i stejnoměrnost vaření. Doba vaření je středně dlouhá a obsah N-látek v semeni je průměrný (23,3 %). Pro obsah antinutričních látek se upřesňuje stupnice hodnocení ve spolupráci s francouzskými laboratořemi a je charakterizována inhibiční aktivitou vůči trypsinu TIA (tj. množství mg čistého trypsinu, které je aktivováno 1 g vzorku – Smith *et al.*, 1980). Odrůda Zekon má obsah antinutričních látek podle dosavadního hodnocení nízký (5,7 TIA mg/100 g) oproti průměru standardních odrůd (6,7 mg TIA/100 g sušiny šrotu).

Výnos zrna: Ve všech pěstebních oblastech je výnos zrna i výnos N-látek nadprůměrný.

Ostatná vlastnosti: Odrůda patří mezi bezlisté typy a řadí se mezi nejlepší i z hlediska odolnosti k poléhání. Semeno je zelené, drobnější, s HTS mezi 240–260 g. Dobou zrání je polopozdní.

Pea variety Zekon

Registered: Czech Republic, 1999, Slovak Republic, 1999

Breeder's rights: SELGEN, a.s., Prague, Czech Republic

Breeder and maintainer: SELGEN, a.s., Lužany Breeding Station

Pedigree: (SUM x LU – 0040) x EMERALD

LU – 0040 is a cross of two experimental lines produced at Lužany

Breeding method – pedigree: The first crossing was carried out in 1985. Individual selections of plants were repeated from F₂ generation every year. Progenies of selected plants were sown on plots 2.5–3 m² in size at a greater spacing (ca. 40 seeds per m²). If the material was relatively homogeneous, yield tests at two replications of 10 m² each started in F₄ generation. The number of replications was increased to three in the next generations. Distinct lines were eliminated in the course of selected progeny homogenization, usually taking 3–4 years, and plant reselections from performance tests were included if necessary. The number of localities with performance tests gradually increased to three up to six. Selection for the complex of root and crown diseases, most important in pea, was carried out from F₁ generation by sowing into infested soil. Greenhouse provocation tests for fusarioses were repeated from F₆ generation. Tests of resistance to the particular races of *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* were performed in firm tests. Tests for the content of proteins, starch and antinutritive components (TIA) were carried out in all performance tests used. Applications for registration tests of this new-bred variety carried out by ÚKZUZ in the CR and ÚKSUP in the SR were filed in 1996; it was registered in both countries in 1999 (in F₁₃) under the name Zekon.

Resistance to diseases: It is resistant to *F. oxysporum f. sp. pisi*, races 1 and 2, and its field resistance to the complex of root and crown diseases, common scab and peronospora is very good. It shows medium resistance to bacteriosis, mildew and viroses.

Quality: A set of its technological properties is good, particularly uniform color of seeds and homogeneous cooking. Cooking time is medium long, protein content in seed is at an average level (23.3%). Evaluation scale for the content of antinutritive components is improved in cooperation with French laboratories, and its trypsin inhibitory activity TIA is characteristic (i.e. an amount of pure trypsin in mg activated with 1 g of sample – Smith *et al.*, 1980). Zekon variety has a low content of antinutritive components (5.7 TIA mg/100 g) according to the present scale if compared with an average value of standard varieties (6.7 mg TIA/100 g coarse meal dry matter).

Yield of seed and yield of proteins is above average in all production areas.

Other characteristics: It is a semileaf type, and it is one of the best varieties by its lodging resistance. Seeds are green, smaller in size, with a 1,000 seed weight 240–260 g. It is semi-late by its time of ripening.

Hrách setý Gotik

Registrován: Česká republika, 1999

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

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

Rodokmen: CONSORT x LU – 28 B

LU – 28 B = (LU-Kr 2 x ULADOVSKIJ 303) x JUPITER

Metoda šlechtění – rodokmenová: Stejná jako u odrůdy Zekon. Křížení bylo provedeno v roce 1987. Do registračních zkoušek bylo novošlechtění přihlášeno pod označením SG-L676 v roce 1996 a zapsáno mezi registrované odrůdy na jaře 1999 pod jménem Gotik v generaci F₁₂.

Odolnost k chorobám: Je rezistentní k *Fusarium oxysporum f.s. pisi*, rasy 1, 2, 6. K obecné strupovitosti hrachu a peronospoře má velmi dobrou polní odolnost a střední polní odolnost má k virózám, bakteriózám a k padlí.

Jakost: Odrůda má dobré technologické vlastnosti zrna – zejména vyrovnanost barvy, dobrou bobtnavost i stejnoměrnost vaření. Obsah N-látek v zrně je průměrný (23,2 %). Obsah antrinitričních látek je vyhovující – 9,7 mg TIA/100 g sušiny šrotu.

Výnos zrna: Ve všech pěstebních oblastech má vysoký výnos zrna i dusíkatých látek.

Ostatní vlastnosti: Odrůda má redukovanou listovou plochu (bezlistý, semileaf typ). Vzrůstností patří mezi nejvyšší v sortimentu a lodyha je asi o 10 cm delší než u odrůdy Bohatýr, ale její odolnost k poléhání je velmi dobrá. Semeno je žluté, kulovito-oválné až vejčité, větší (HTS 270–280 g). Dobou zralostí patří do skupiny polopozdních odrůd.

Pea variety Gotik

Registered: Czech Republic, 1999

Breeder's rights: SELGEN, a.s., Prague, Czech Republic

Breeder and maintainer: SELGEN, a.s., Lužany Breeding Station

Pedigree: CONSORT x LU – 28 B

LU – 28 B = (LU-Kr x ULADOVSKIJ 303) x JUPITER

Breeding method – pedigree: As described in Zekon variety. Crossing was carried out in 1987. An application for registration tests of this new bred variety designated SG-L676 was filed in 1996 and it was certified in F₁₂ generation in spring 1999 under the name Gotik.

Resistance to diseases: It is resistant to *Fusarium oxysporum f.s. pisi*, races 1, 2, 6. Its field resistance to common scab of pea and peronospora is very good, its resistance to viroses, bacterioses and mildew is at a medium level.

Quality: Good technological properties of seed – particularly uniform color of seeds, good swelling and homogeneous cooking. Protein content in seeds is at an average level (23.2%). The content of antinutritive components is satisfactory – 9.7 mg TIA/100 g coarse meal dry matter.

Seed yield: High yields of seed and proteins in all production areas.

Other characteristics: The variety has a reduced leaf area (semileaf type). It is one of the tallest varieties in a pea collection by its growth habit, the stem is by about 10 cm longer than in Bohatýr variety, but its lodging resistance is very good. The seed is yellow, round oval or egg-shaped, larger in size (TSW 270–280 g). It is semi-late by its time of ripening.

Ing. Josef Kreuzman

SELGEN, a. s., Šlechtitelská stanice Lužany, 334 54 Lužany

Tel.: 019/798 24 28, fax: 019/798 24 25

Ječmen ozimý Luran

Registrován: Česká republika, 1998

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

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

Rodokmen: Okal x Lunet

Metoda šlechtění – rodokmenová: Rok křížení 1986. Od generace F₂ byla hodnocena polní odolnost k listovým chorobám, poléhání, a zimovzdornost a regenerační schopnost. Byly zahájeny i klasové výběry. První předběžné zkoušky výnosu proběhly v generaci F₅, ve které také při reSelekci jednoho štěpícího potomstva byla vybrána výrazně morfologicky odlišná linie. Od generace F₆ byla průběžně z této linie vedena samostatně každoročně opakovaná klasová potomstva. V generacích F₇ až F₉ byly zahájeny zkoušky výkonu, postupně ve více opakováních a na více lokalitách. V F₉ byly linie z této populace zkoušeny

na pěti lokalitách ve čtyřech opakováních. Udržovací šlechtění bylo zahájeno od F₇. Kromě testů mrazuvzdornosti, stanovení obsahu bílkovin byla testována i specifická odolnost k padlí travnímu a žluté zakrslosti ječmene (BYDV). V F₁₀ byla vybraná linie přihlášena do prvního roku státních odrůdových zkoušek. Současně byly provedeny podrobné testy mrazuvzdornosti ve VÚRV Praha-Ruzyně, testy na odolnost k viru žluté mozaiky ječmene (BaYMV) v Německu, elektroforetická analýza hordeinů na ŠS Stupice a v F₁₂ elektroforéza hordeinů a esteráz ve VÚRV Praha-Ruzyně. Tyto analýzy u linií udržovacího šlechtění prokázaly, že z hlediska spektra hordeinů a esteráz je toto novošlechtění jednonoliniíovou odrůdou. Ve státních zkouškách byl materiál zkoušen pod označením SG-L 725 a po tříletém zkoušení v generaci F₁₂ byl zaregistrován v roce 1998 v ČR pod názvem Luran. Registrační zkoušky v Rakousku a Maďarsku nebyly úspěšné. Velmi dobré výsledky však Luran dosahuje v SOZ na Ukrajině a na Slovensku (předpoklad registrace v roce 1999). Ve firemních zkouškách je v současné době zařazen v Německu, Francii, Anglii a Irsku. Odrůda Luran byla vybrána ze stejné kombinace křížení jako odrůda Luxor, která byla registrována již v roce 1996.

Odolnost k chorobám: Dobrá polní odolnost k padlí travnímu (*Erysiphe graminis*) je spojená s geny MI-Bw a MI-Ra, rovněž odolnost k rhynchosporiové skvrnitosti (*Rhynchosporium secalis*) je dobrá. Významně byla zlepšena polní odolnost ke rzi ječné (*Puccinia hordei*) a hnědé skvrnitosti (*Pyrenophora teres*). Odrůda není odolná k virózám BaYMV ani BaYDV. Odolnost k plísni sněžné (*Fusarium nivale*) je jen průměrná.

Kvalitativní ukazatele: Krmná šestiřadá odrůda s vyšší HTZ, vysokým podílem předního zrna, dobrou stravitelností energie i dusíkatých látek při průměrném obsahu 62–64 % škrobu a 10–13 % NL v sušině.

Výnosy zrna: Dosahuje velmi vysoké výnosy zrna s velmi dobrou ročníkovou i stanovištní stabilitou ve všech oblastech pěstování ozimého ječmene. V tříletém průměru SOZ v ČR dosáhl výnosu 106,4 % na průměr standardních odrůd. Nejlépe se jeho předností uplatňuje v intenzivnějších polohách bramborářské oblasti a v oblasti řepářské.

Ostatní vlastnosti: Poloraný intenzivní typ víceřadého krmného ozimého ječmene se středně vysokým stéblem, s dobrou odolností k vyzimování, dobrou regenerační schopností, vysokou intenzitou jarního obrůstání a s dobrou odolností k poléhání a podrůstání. Pěstování po obilovině snáší, nejvyšších výnosů a nejlepší kvality zrna dosahuje po luskovinách.

Winter barley LURAN

Registered: Czech Republic, 1998

Breeder's rights: SELGEN, a.s., Prague, Czech Republic

Breeder and maintainer: SELGEN, a.s., Lužany Breeding Station

Pedigree: Okal x Lunet

Breeding method – pedigree: Year of crossing 1986. Since generation F₂ we started ear selection. The F₂ populations were selected for field resistance to foliar diseases, lodging, winterhardness and regeneration ability. In F₅ we started first preliminary yield trials (1 x 10 m²). Between reselections in F₅ segregating progenies we obtained one line morphologically distinctive. Since F₆ generation repeated ear selections from this line were cultivated separately. Yield trials were evaluated from F₇ to F₉ progressively on more locations and with more replications. In F₉ lines from this population were tested on 5 locations and in 4 replications. The maintenance breeding started in F₇. The selection in these generations were aimed for protein percentage, winterhardness, specific resistance to mildew and resistance to Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV). Precise frost resistance tests were carried out in the Institute of Plant Production in Prague-Ruzyně, tests on resistance to Barley Yellow Mosaic Virus (BYMV) in Germany and electrophoretic analysis at the Plant Breeding Station in Stupice. Electrophoresis of hordeins and the esterases was performed at the Experimental Institute of Plant Production in Prague-Ruzyně (in F₁₂). According to this analyses this variety is single-line. In Official Trials of Czech Republic the breeding line SG-L725 was tested in years 1996–1998 and it was registered as variety Luran in F₁₂. Official Trials in Austria and Hungary were not successful. Luran has very promising results in Official Trials in the Ukraine and in Slovakia. Luran is also tested in preliminary trials in Germany, France, England and Ireland. Variety Luran was selected from the same cross as variety Luxor registered in 1996.

Disease resistance: Medium field resistance to mildew (*Erysiphe graminis*) is connected with genes MI-Bw and MI-Ra. Resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*) is also good. There is a notable improvement in field resistance to brown-rust (*Puccinia hordei*) and net blotch (*Pyrenophora teres*). The variety is not resistant to BaYMV or BaYDV. Resistance to snow-mould (*Fusarium nivale*) is only average.

Quality: Luran is a 6-rows fodder variety with higher TKW, high proportion of grain above 2.5 mm sieve, good digestible energy and of protein with an average content of 62–64% starch and 10–13% nitrogenous substances in dry matter.

Grain yield: The yields of grain were very high with very good year-to year stability in all winter barley farming regions. In the 3-year average of Official Trials in the Czech Republic it yielded 106.4 % over the standard varieties. It is suitable for more intensive areas, mainly in potato and sugar beet-growing regions.

Other characteristics: Luran is medium-early, intensive-type, multi-row fodder winter barley, it has a medium high stem, good winter-resistance and regeneration ability. Luran has a high intensity of vernal overgrowth and good lodging resistance. It tolerates cultivation after cereals, best crops and best grain quality are obtained after leguminous crops.

Ing. Pavel Mařík

SELGEN, a. s., Šlechtitelská stanice Lužany, 334 54 Lužany

Tel.: 019/798 24 28, fax: 019/798 24 25

Brambor Samanta

Registrována: Česká republika, 1999

Šlechtitelská práva: Selekt Pacov, a. s., Česká republika

Šlechtitel a udržovatel: Selekt Pacov, a. s.

Rodokmen: Sante x Zlata

Metoda šlechtění: Individuální klonový výběr z hybridní populace. Po nakřížení a vypěstování semenné generace bylo potomstvo vedeno dva roky v ramšových generacích. V těchto generacích byly během vegetace i po sklizni vyloučeny typy výrazně neodpovídající šlechtitelskému záměru. V následných vegetativně množených generacích bylo po dobu pěti let sledováno potomstvo každého jedince, vybraného v pohlavní generaci, individuálně. Selektce byla prováděna na základě hodnocení odolnosti k virovým, houbovým a bakteriálním chorobám, výkonnosti a kvalitativních ukazatelů. Vybraný kříženec HR 37/35 byl zkoušen ve státních registračních zkouškách v letech 1996–1998 a v roce 1999 registrován jako odrůda Samanta. Během zkoušení v registračních zkouškách bylo paralelně založeno udržovací šlechtění tohoto křížence. Bylo vybráno a ozdraveno několik klonů, které byly pomocí tkáňových kultur a následným pěstováním rostlin z meristému v izolátu rozmnoženy a dále hodnoceny. Získaná sadba vybraných klonů se stala základem pro výrobu základní sady.

Odolnost k chorobám: Odrůda je odolná k hádátku bramborovému, rase Ro 1, a částečně náchylná k rakovině brambor patotypu D 1. Má vyšší odolnost proti plísní bramborové v nati i na hlízách. Vykazuje vysokou polní rezistenci k virovým chorobám, vysokou odolnost k obecné strupovitosti a kořenomorce bramborové.

Jakost: Hlízy jsou kulovité až krátce oválné, mírně zploštělé s mělkými očky. Dužnina má plošně vyrovnanou světle žlutou barvu. Slupka je žlutohnědá, hlízy jsou tvarově i velikostně vyrovnané. Škrobnatost 14,5 %, varný typ B/A. Odrůda Samanta je velmi vhodná pro přímý konzum. Během celého skladovacího období si zachovává velmi dobrou chuť.

Výnos hlíz: V průběhu registračních zkoušek (1996–1998) dosáhla odrůda Samanta tříletého průměrného výnosu 54 t/ha.

Ostatní vlastnosti: Samanta je polopozdní odrůda s pomalejším počátečním růstem, vysokým vzpřímeným stonkem a sytě zeleným listem. Nekvete, všechna poupata opadávají.

Potato Samanta

Registered: Czech Republic, 1999

Breeder's rights: Selekt Pacov, a.s., Czech Republic

Breeder and maintainer: Selekt Pacov, a.s.

Pedigree: Sante x Zlata

Breeding method: Individual clone selection from hybrid population. After crossing and after seed generation was produced, progenies were grown in bulk sample generations for two years. The types expressively not complying with the breeding aim were excluded in the latter generations during the growing season and after harvest. The progeny of each individual, selected in sexual generation, was studied on an individual basis for five years in successive vegetatively propagated generations. Selection was carried out by means of evaluation of resistance to viral, fungal and bacterial diseases, performance and qualitative traits. A selected cross HR 37/35 was tested in state registration tests in 1996–1998, and it was registered as Samanta variety in 1999. Maintenance breeding of this cross was parallelly established during registration tests. Several clones were selected and sanitized that were propagated by tissue cultures and subsequent growing of plants from isolate meristems and evaluated. Seed tubers obtained in this way was used for the production of basic seed.

Resistance to diseases: The variety is resistant to potato root eelworm, race Ro 1, and partly susceptible to black wart of potato of pathotype D 1. It shows higher resistance to late blight of potato both in tops and tubers. Its field resistance to viral diseases is at a high level, its resistance to common scab and black scab of potatoes is also high.

Quality: Tubers are spherical to short oval in shape, slightly flat, with shallow buds. Pulp is light yellow in color, the coloration is uniform in section. Skin is yellow-brown in color, the shape and size of tubers are homogeneous. Starch content 14.5%, cooking type B/A. Samanta variety is very good for direct consumption. Very good taste is maintained during the whole storage period.

Tuber yield: Three-year average yield of Samanta variety was 54 t/ha during registration tests (1996–1998).

Other characteristics: Samanta is a semi-late variety with less vigorous initial growth, tall upright stem and deep green leaves. It does not bloom, all buds are shed.

Ing. Jiří Mo hl

Selekt Pacov, a. s., Starodvorská 352, 395 01 Pacov

Tel.: 0042 0365/44 20 71, fax: 0042 0365/44 26 66, e-mail: selekta@cb.bohem-net.cz

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem (včetně klíčových slov).

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

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

Rozsah vědeckých prací nesmí přesáhnout 15 strojopisných stran včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava rukopisu: formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhůzů na řádku, mezi řádky dvojité mezery. K rukopisu je třeba přiložit disketu s prací pořízenou na PC a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoli druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratkou nepoužívat.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhůzů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Musí obsahovat klíčová slova. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována, a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

Výsledky – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura by měla sestávat hlavně z lektorovaných periodik. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSC, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

Rukopis nebude redakcí přijat k evidenci, nebude-li po formální stránce odpovídat pokynům pro autory.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary (including key words).

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed 15 typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout: quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript. A PC diskette should be provided with the paper and graphical documentation. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the subject and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise basic numerical data including statistical data. It must contain key words. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The section **References** should preferably contain reviewed periodicals. The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number or e-mail.

The manuscript will not be accepted to be filed by the editorial office if its formal layout does not comply with the instructions for authors.

CONTENTS

Ovesná J., Šíp V., Vacke J., Kučera L.: Evaluation of resistance to BYDV with the use of PCR marker linked to Yd2 gene in comparison with the results of field infection tests in spring barley (in English)	37
Věchet L.: Response of winter wheat varieties to the leaf rust infection (in English).....	43
Kolovrat O., Judlová M., Havel J.: Study of variability of indolylglucosinolates in winter rape (<i>Brassica napus</i> L.) seeds (in Czech).....	49
 INFORMATION – STUDIES – REPORTS	
Šíp V., Chrpová J., Vacke J., Ovesná J.: Present state and future tasks of the research on barley resistance to barley yellow dwarf virus in the Czech Republic (in English).....	55
 NEW VARIETIES	
Kreuzman J.: Pea variety Zekon.....	61
Pea variety Gotik.....	62
Mařík P.: Winter barley Luran.....	63
Mohl J.: Potato Samanta.....	64

OBSAH

Ovesná J., Šíp V., Vacke J., Kučera L.: Hodnocení odolnosti k BYDV pomocí PCR markeru spojeného s genem Yd2 ve srovnání s výsledky polních testů u jarního ječmene.....	37
Věchet L.: Reakce odrůd pšenice ozimé na infekci rzí pšeničnou.....	43
Kolovrat O., Judlová M., Havel J.: Studium variability indolylglucosinolátů v semeni ozimé řepky (<i>Brassica napus</i> L.).....	49
 INFORMACE – STUDIE – ZPRÁVY	
Šíp V., Chrpová J., Vacke J., Ovesná J.: Současný stav a zaměření výzkumu rezistence ječmene k viru žluté zakrslosti v České republice.....	55
 NOVÉ ODRŮDY	
Kreuzman J.: Hrách setý Zekon.....	61
Hrách setý Gotik.....	62
Mařík P.: Ječmen ozimý Luran.....	62
Mohl J.: Brambor Samanta.....	64
 RECENZE	
Cagaš B.: Jacqueline Rowarth (ed.) – Practical Herbage Seedcrop Management.....	42
 Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA	
Cagaš B.: 4. mezinárodní konference o semenářství trav a jetelovin.....	48