

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
České Budějovice**



**ŠLECHTĚNÍ ROSTLIN
(OBECNÁ ČÁST)**

Prof. Ing. Josef Graman, CSc.

Dr. Ing. Vladislav Čurn

České Budějovice

1998

Učební text představuje základní studijní literaturu pro předmět Šlechtění rostlin – obecnou část. Je určen pro studenty Zemědělské fakulty studijního oboru všeobecně zemědělského s fytotechnickým zaměřením, kteří si zvolili ke studiu výše uvedený předmět.

Učební text je i pro ostatní zájemce, kteří se chtějí seznámit se základy tvorby odrůd z hlediska jejich genetické skladby, požadavků na znaky a vlastnosti a užitnou hodnotu odrůd, včetně metod a postupů jejich vyšlechtění.

Autoři se snažili do textu zahrnout dostupné nejnovější poznatky z uvedené oblasti, včetně legislativy registrace nových odrůd. Obsah textu je rozdělen do 8 ucelených kapitol. Zásady a metody udržovacího šlechtění registrovaných odrůd jsou uvedeny v učebních textech pro předmět Semenářství, které byly vydány na ZF JU v roce 1996.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| 1. ÚVOD DO PŘEDMĚTU..... | 1 |
| 1.1. VÝZNAM A ÚKOLY ŠLECHTĚNÍ..... | 2 |
| 1.2. HOSPODÁŘSKÝ EFEKT ŠLECHTĚNÍ..... | 3 |
| 1.3. HISTORIE A TRADICE ŠLECHTĚNÍ..... | 3 |
| 2. BIOLOGICKÉ A FYZIOLOGICKÉ ZÁKLADY ŠLECHTĚNÍ | 6 |
| 2.1. VÝZNAM DĚDIČNOSTI A PROMĚNLIVOSTI VE ŠLECHTĚNÍ..... | 6 |
| <i>Využití zásad kvantitativní genetiky ve šlechtění.....</i> | <i>7</i> |
| 2.2. ZÁKONITOSTI RŮSTU A VÝVOJE VE ŠLECHTĚNÍ | 7 |
| 2.3. ZPŮSOBY ROZMNOŽOVÁNÍ ROSTLIN A GENETICKÉ SOUVISLOSTI REPRODUKCE..... | 7 |
| 2.4. PŮVOD KULTURNÍCH PLODIN, GENOVÁ CENTRA KULTURNÍCH PLODIN..... | 9 |
| <i>Genová centra kulturních plodin</i> | <i>10</i> |
| 2.5. BOTANICKÁ A ŠLECHTITELSKÁ KLASIFIKACE ROSTLIN | 12 |
| 2.6. GENETICKÁ DIVERZITA A JEJÍ OCHRANA | 13 |
| 3. ODRŮDA - VÝSLEDEK ŠLECHTĚNÍ..... | 14 |
| 3.1. ODRŮDY Z HLEDISKA JEJICH VZNIKU A GENETICKÉ SKLADBY | 15 |
| 3.2. ODRŮDA - INTENZIFIKAČNÍ FAKTOR..... | 20 |
| 3.3. PLASTICITA ODRŮDY | 21 |
| 3.4. IDEOTYP ODRŮDY A SCHÉMA VYŠLECHTĚNÍ ODRŮDY | 22 |
| 4. ŠLECHTITELSKÉ CÍLE..... | 22 |
| 4.1. ŠLECHTĚNÍ NA PRODUKČNÍ SCHOPNOST (VÝNOS) A JEJÍ STABILITU | 24 |
| 4.2. ŠLECHTĚNÍ NA KVALITU (JAKOST) HLAVNÍHO PRODUKTU..... | 25 |
| 4.3. ŠLECHTĚNÍ NA DÉLKU VEGETAČNÍ DOBY | 26 |
| 4.4. ŠLECHTĚNÍ NA ODOLNOST VŮČI NEPŘÍZNIVÝM VLIVŮM (STRESŮM)..... | 27 |
| 4.4.1. <i>Šlechtění na odolnost vůči chladu, mrazu a zimě</i> | <i>27</i> |
| 4.4.2. <i>Šlechtění na odolnost vůči suchu (suchovzdornost).....</i> | <i>29</i> |
| 4.4.3. <i>Šlechtění na odolnost vůči biotickým vlivům (chorobám a škůdcům).....</i> | <i>29</i> |
| 4.4.3.1. <i>Šlechtění na odolnost k chorobám</i> | <i>29</i> |
| 4.4.3.2. <i>Šlechtění na odolnost vůči škůdcům</i> | <i>34</i> |
| 4.5. ŠLECHTĚNÍ NA VHODNOST K MECHANIZOVANÉ TECHNOLOGII PĚSTOVÁNÍ..... | 35 |
| 4.5.1. <i>Šlechtění na nepoléhavost.....</i> | <i>35</i> |
| 4.5.2. <i>Šlechtění na odolnost k výdrolu a vypadávání semen.....</i> | <i>36</i> |
| 4.5.3. <i>Šlechtění na odolnost proti porůstání zrn (porůstavosti).....</i> | <i>36</i> |
| 4.5.5. <i>Šlechtění na stejnoměrné a současné dozrávání.....</i> | <i>37</i> |
| 4.6. SPECIÁLNÍ ŠLECHTITELSKÉ CÍLE | 37 |
| 4.6.1. <i>Šlechtění odrůd pro low-input systém.....</i> | <i>37</i> |
| 4.6.2. <i>Šlechtění na efektivní využívání živin a na zvýšenou fixaci N.....</i> | <i>37</i> |
| 4.6.3. <i>Šlechtění na toleranci k herbicidům.....</i> | <i>37</i> |

| | |
|---|-----------|
| 4.6.4. Šlechtění na toleranci k toxicitě nízkého pH půdy a k toxicitě těžkých kovů..... | 38 |
| 5. ŠLECHTITELSKÉ METODY | 39 |
| 5.1. VÝBĚR | 39 |
| 5.1.1. Charakteristika výběru..... | 40 |
| 5.1.2. Dělení výběru..... | 41 |
| 5.1.2.1. Přírodní výběr..... | 42 |
| 5.1.2.2. Umělý výběr | 42 |
| 5.1.3. Technika výběru..... | 51 |
| 5.2. KRÍŽENÍ | 51 |
| 5.2.1. Vnitrodruhové křížení | 52 |
| 5.2.1.1. Výběr rodičovských komponent | 52 |
| 5.2.1.2. Technika křížení..... | 53 |
| 5.2.1.3. Metody křížení..... | 54 |
| 5.2.2. Vzdálené křížení..... | 60 |
| 5.2.2.1. Zvláštnosti vzdáleného křížení | 60 |
| 5.2.2.2. Některé výsledky vzdáleného křížení..... | 62 |
| 5.3. HETEROZNÍ ŠLECHTĚNÍ..... | 63 |
| 5.3.1. Historie a genetický výklad heteroze | 64 |
| 5.3.2. Praktický význam heteroze, možnosti využití | 64 |
| 5.3.2.1. Šlechtění F_1 hybridů..... | 65 |
| 5.3.2.2. Šlechtění syntetických populací | 77 |
| 5.4. MUTAČNÍ A POLYPLOIDNÍ ŠLECHTĚNÍ..... | 79 |
| 5.4.1. Mutační šlechtění..... | 79 |
| 5.4.1.1. Metody indukce mutací..... | 79 |
| 5.4.1.2. Uplatnění a detekce mutací..... | 80 |
| 5.4.1.3. Mutagenese na úrovni explantátových kultur | 81 |
| 5.4.1.4. Praktické výsledky mutačního šlechtění..... | 81 |
| 5.4.2. Polyploidní šlechtění..... | 83 |
| 5.4.2.1. Šlechtitelské využití polyploidie | 83 |
| 5.4.2.2. Důsledky polyploidie: | 84 |
| 5.4.2.3. Indukce a detekce polyploidie..... | 85 |
| 5.4.2.4. Praktické využití polyploidie..... | 87 |
| 5.4.2.5. Využití aneuploidie a haploidie ve šlechtění rostlin | 87 |
| 5.5. NEKONVENČNÍ METODY ŠLECHTĚNÍ | 89 |
| 5.5.1. Nekonvenční metody a postupy využitelné ve šlechtění | 89 |
| 5.5.2. Cíle a perspektivy šlechtění polních plodin ve vztahu k nekonvenčním metodám | 93 |
| 5.5.3. Metody a biotechnologické postupy využívané ve šlechtění..... | 95 |
| 5.5.4. Kryoprezervace rostlinného materiálu. | 97 |
| 6. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY | 99 |
| 6.1. POSLÁNÍ ŠLECHTITELSKÝCH VÝBĚROVÝCH POSTUPŮ..... | 99 |

| | |
|--|------------|
| 6.2. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY PO KŘÍŽENÍ..... | 99 |
| 6.2.1. Šlechtitelské výběrové postupy pro samosprašné rostliny | 102 |
| 6.2.2. Šlechtitelské výběrové postupy ve šlechtění cizosprašných rostlin | 105 |
| 6.2.3. Šlechtitelský výběrový postup pro vegetativně množené rostliny..... | 109 |
| 6.3. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY PRO ŠLECHTĚNÍ HYBRIDNÍCH ODRŮD | 112 |
| 6.3.1. Šlechtění odrůd typu hybridů F_1 | 112 |
| 6.3.2. Šlechtění syntetických populací | 117 |
| 7. TECHNIKA A MECHANIZACE ŠLECHTITELSKÉ PRÁCE..... | 120 |
| 7.1. DRUHY ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLEK | 120 |
| 7.2. ZÁSADY ZAKLÁDÁNÍ A SKLIZNĚ ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLEK A POKUSŮ..... | 121 |
| 7.3. DOKUMENTACE VE ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLKÁCH A POKUSECH..... | 123 |
| 8. ODRŮDOVÉ ZKUŠEBNICTVÍ | 124 |
| 8.1. HISTORIE ZKOUŠENÍ ODRŮD..... | 124 |
| 8.2. ORGANIZACE A ZAJIŠTĚNÍ ODRŮDOVÝCH ZKOUŠEK | 126 |
| 8.3. PRÁVNÍ PŘEDPISY VE VZTAHU K ODRŮDÁM A K ODRŮDOVÉMU ZKUŠEBNICTVÍ..... | 127 |
| POUŽITÁ LITERATURA..... | 132 |

1. ÚVOD DO PŘEDMĚTU

Šlechtění rostlin je cílevědomá lidská činnost zabývající se vytvářením (šlechtěním) nových odrůd zemědělských, okrasných i lesních plodin, případně zlepšováním již stávajících odrůd. Šlechtění rovněž zahrnuje udržování a rozmnožování odrůd povolených a doporučených k pěstování, tzn. odrůd, které svými znaky produkce, kvality a dalšími hospodářsky významnými vlastnostmi splňují požadavky uživatelů.

Teoretickým základem šlechtění je genetika. Šlechtění využívá poznatků genetiky k utváření rostlin potřebám člověka. Proto *E. Bauer* označuje šlechtění za aplikovanou genetiku. Podle názoru *Keislinga* je šlechtění naukou o dědičném zlepšování plodin.

CHLOUPEK (1995) uvádí, že do dob Mendelových bylo šlechtění jen uměním a dokládá to i tím, že ještě *Ch. Darwin* svou knihu nazval "Umění šlechtit". Je třeba přijmout názor významného ruského genetika a šlechtitele *N.I. Vavilova*, podle něhož je šlechtění umění a věda současně.

Šlechtění je speciální **vědní obor**, který využívá a navazuje na poznatky řady dalších vědních disciplin (botaniky, fyziologie rostlin, biochemie, genetiky a cytogenetiky, biometrie, pěstování rostlin, ochrany rostlin a dalších), ale také staví na poznatcích vlastní disciplíny. V moderním šlechtění se uplatňují poznatky biologických věd a biologických technik, metod *in vitro*, metod genových manipulací apod.). Výsledky šlechtění lze do jisté míry předvídat.

Šlechtění z biologického hlediska je cílevědomý **evoluční proces** (mikroevoluční) řízený člověkem, který nakonec vede ke vzniku nových odrůd (kultivarů).

Podstata šlechtění spočívá ve výběru (selekcí) odlišných genotypů, ale dědičně přizpůsobených půdním a klimatickým podmínkám, odolných nepříznivým biotickým a abiotickým vlivům a vyhovujících požadavkům uživatelů. Vyšlechtěné genotypy (odrůdy) umožnily zvýšení výnosů a kvality produktů, rozšíření ploch pěstování vzhledem k rozdílné ranosti a vyšší zimovzdornosti a odolnosti k chorobám a škůdcům. Zlepšila se vhodnost k mechanizované sklizni zvýšenou nepoléhavostí, zvýšenou odolností proti vypadávání zrn, nepukavostí lusků a pod.

Šlechtitelský proces zahrnuje tzv. *novošlechtění*, jehož hlavní náplní je tvorba nových odrůd a *udržovací šlechtění*, které pečuje o udržení genotypu a úroveň charakteristiky vyšlechtěné odrůdy a současně o její rozmnožování.

Vyšlechtění nové odrůdy je záležitost dlouhodobá, neboť trvá zpravidla více než 10 let, u víceletých plodin také až 20 let. Vyšlechtění nové odrůdy je práce náročná, která vyžaduje vytrvalost, trpělivost a plnou oddanost. Vyžaduje také dobré odborné teoretické vědomosti a praktické zkušenosti. Šlechtitel musí kriticky posoudit rozsáhlý výchozí šlechtitelský materiál, řadu alternativních metod šlechtění, musí mít schopnost vytvořit účinnou a výkonnou strategii šlechtění.

V čem spočívá *odlišnost šlechtění od pěstování* rostlin:

- šlechtitel své úsilí zaměřuje na vnitřní, dědičné faktory a předpoklady pro vytvoření optimálních kombinací vhodných znaků a vlastností rostlin (odrůdy). Vytváří biologický materiál (genotyp),
- pěstitel zaměřuje své úsilí na přípravu optimálních podmínek pro pěstování příslušné plodiny (odrůdy), na přípravu vhodného pěstitelského prostředí (od výběru pozemku až po ochranu a sklizeň porostu), které je potřebné pro plnou realizaci genetického základu odrůdy.

Vztah šlechtění a pěstování rostlin vyplývá ze vztahu známého z genetiky: genotyp + podmínky prostředí = fenotyp. Je třeba dodat, že úspěšný šlechtitel musí být i dobrým pěstitel.

1.1. VÝZNAM A ÚKOLY ŠLECHTĚNÍ

Význam a úkoly šlechtění lze posuzovat ze 2 hledisek:

a) z hlediska praktického:

Význam a úkoly šlechtění z hlediska praktického souvisejí s hlavním posláním zemědělské výroby, které spočívá v zajišťování produkce potravin pro lidskou populaci.

V této souvislosti je vhodné se zmínit o ocenění úspěšného šlechtitelského úsilí prof. *Borlauga* v Mexiku, který v roce 1970 obdržel Nobelovu cenu míru za řešení tzv. zelené revoluce. Vyšlechtěné výkonné odrůdy pšenice pomohly vyřešit problém hladu v Mexiku, Indii, Pákistánu aj.

Pro domácí podmínky platí, že zvyšovat produkci nelze rozšiřováním ploch pěstovaných plodin. Proto šlechtění plodin musí **tvorit nové odrůdy**, výkonné a se zvýšenou jakostí hlavního produktu, odrůdy odolné k chorobám a škůdcům a dalším stresům a vhodné pro mechanizovanou technologii pěstování.

Šlechtění přispívá k **intenzifikaci a k rentabilitě** rostlinné výroby a tím i celé zemědělské výroby. Tvorbou vhodného biologického materiálu a maximálním využíváním jeho biologických, růstových a produkčních schopností ovlivňuje ekonomiku pěstování plodiny i zpracování suroviny. Výkonná odrůda (např. hybridní s vyšší produkcí o 20-30 %) snižuje nákladovost na jednotku produkce. Odolné odrůdy k chorobám snižují vstupní náklady nepoužíváním pesticidů a současně přispívají k ochraně životního prostředí a k řešení ekologických problémů.

Každý pokrokový stát věnuje šlechtění rostlin potřebnou pozornost, neboť je **lacinou investicí**. Význam odrůdy, jakožto produktu šlechtění, neustále vzrůstá. Sebelepší odrůda však nemůže přinést očekávaný efekt, pokud nevzbudí zájem a nenajde uplatnění v zemědělské praxi. V této souvislosti nastupuje významná úloha marketingu včetně předvádění odrůd a dokazování jejich předností např. na pokusných parcelách.

b) z hlediska teoretického:

Význam šlechtění z hlediska teoretického lze spatřovat v obohacování flory Země o nové genotypy, ať už jde o nové kultivary - odrůdy (variety, mutanty) nebo hybridy či nové druhy, resp. mezdruhové a mezirodové křížence (triticale, *Festulolium* apod.) a v přírodě se dosud nevyskytovaly. Šlechtění tím přispívá k evoluci, resp. k mikroevoluci organického světa.

V souvislosti s přechodem na tržní hospodářství a s jeho rozvojem, v souvislosti s privatizací šlechtitelských a semenářských pracovišť vyvstala před systémem šlechtění ČR celá řada náročných úkolů. Především jde o **vytváření předpokladů** pro intenzivní šlechtění vysocehodnotných odrůd, což vyžaduje potřebné investice a rekonstrukce, vybavení pracovišť výkonnou secí a sklizňovou technikou, moderní přístrojovou a laboratorní technikou, výpočetní technikou apod.

Je žádoucí **rozvoj teoretického zázemí**, tj. rozvoj genetického a šlechtitelského výzkumu, včetně sběru, uchování, studia i výměny genových zdrojů, rozvoje činnosti genové banky, vývin nových progresivních metod šlechtění apod.

Vyvstal požadavek na **rozvoj mezinárodní spolupráce** a s řadou šlechtitelských a semenářských firem a společností výměnou zkušeností a poznatků, výměnou a prozkoušováním šlechtitelského materiálu, v některých případech i spoluúčastí ve vlastnictví firmy. Široce se rozvíjí uplatňování zahraničních odrůd v nabídce sortimentu, řada domácích firem zastupuje firmy zahraniční a recipročně zahraniční firmy a společnosti zastupují české šlechtitelské firmy. Tento systém umožňuje uplatňování domácích odrůd v zahraničí.

S rozvojem mezinárodní spolupráce a mezinárodního obchodu s odrůdami a s osivou, včetně očekávaného vstupu ČR do EU, byla přijata příslušná **legislativní opatření** formou zákona o ochraně odrůd (zákon č. 132/1989 Sb.) a zákona o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin (zákon č. 92/1996 Sb.).

Při uplatňování zásad tržního přístupu ve šlechtění a v semenářství vyvstala nutnost budování **šlechtitelsko - semenářské vertikály** (zajišťující propojenost úseků novošlechtění - udržování a množení odrůd - prodej osiva, sadby),

s cílem zabezpečovat realizaci výsledků šlechtění a množení a současně úhradu vynaložených nákladů formou licenčních poplatků, což vytváří předpoklady pro ekonomickou samostatnost šlechtitelských firem.

1.2. HOSPODÁŘSKÝ EFEKT ŠLECHTĚNÍ

Hospodářský efekt úspěšného šlechtění se většinou dokazuje pozitivním trendem ve výnosové řadě plodin za delší časový úsek. V Evropě v roce 1850 se výnos obilovin pohyboval kolem 1,5 t z ha, o 70 let později byl již kolem 20 t, v letech 1945-50 se průměrný výnos pohyboval mezi 2,4 - 3 t, v letech 1980-85 a v současnosti kolem 4-5 t.ha⁻¹ a více. Špičkové výnosy se blíží 7-8 t.ha⁻¹. Na zvyšování výnosů se také významně podílí i úroveň agrotechniky včetně výživy, ochrany apod., na šlechtění připadá jen určitý díl.

Učebnicovým příkladem pozitivního vlivu šlechtění je cukrová řepa. Až do poloviny 18. stol. byla produkce cukru odkázána hlavně na cukrovou třtinu. Roku 1767 objevil berlínský chemik *Margraf* cukr v řepě a jeho žák *Achard* prováděl pokusy s pěstováním řepy a získáváním cukru z řepy. Výrobu cukru z řepy začal v roce 1802 ve Slezsku, zlepšil bílou krmnou řepu, později zvanou slezskou. V této době obsah sacharózy činil jen 6 %, v roce 1858 již přes 10 % a v roce 1908 již 18 %. Šlechtění cukrové řepy prakticky začalo v polovině 19. stol a během 100 let se ztrojnásobil obsah sacharózy. Zvýšením obsahu sacharózy se zvyšovala i produkce cukru.

Dalším šlechtitelským úspěchem bylo vyšlechtění „sladké“ lupiny. Německému šlechtiteli *von Sengbuschovi* (1929) se podařilo pomocí rychlé metody stanovení hořkých látek (alkaloidů) z 1,5 mil. semen nalézt 5 bezalkaloidních semen, které daly základ novým odrůdám. Lze nalézt ještě řadu dalších příkladů úspěšného šlechtění např. vyšlechtění odrůd soji a hybridů kukuřice pro chladnější oblasti, odrůd řepky olejné s minimálním obsahem kyseliny erukové a glukosinolátů, dále úspěchy v oblasti zlepšování jakosti a zvyšování odolnosti k nepříznivým vlivům a k chorobám apod.

1.3. HISTORIE A TRADICE ŠLECHTĚNÍ

Šlechtění rostlin je téměř tak staré jako samo pěstování rostlin. V historickém vývoji šlechtění lze vyčlenit několik vývojových etap.

S první etapou souvisí **domestikace** rostlin, která má začátek ve starší době kamenné (neolitu) v údolí řeky Tigridu, v Mexiku i jinde. S přechodem od kočovného způsobu života k usdlému počali lidé pěstovat rostliny v blízkosti svých příbytků, které jim skýtali užitek. Zpočátku byly pěstovány hlavně ječmen, pšenice, pak proso, v Asii rýže, na západní polokouli kukuřice, pak následovaly luskoviny, zeleniny, len a podstatně později okopaniny, olejníky a ovoce. Ještě později pak květiny a v posledních 2-3 tisíci letech pak píce, oves a žito. Některé dnešní kulturní plodiny byly původně plevellem. *Plinius a Columella* a jiní starověcí myslitelé doporučovali vybírat zrna z největších klasů (klasový výběr). Obdobně v byzantské zemědělské encyklopedii z 10. stol. se doporučuje vybírat semena pěkná, velká, tvrdá a hladká, která mohou dát nejvyšší výnos

(CHLOUPEK, 1995). Stupeň civilizace určité země je vždy v úzkém vztahu ke zkulturnování planých forem a k jejich postupnému zlepšování (prošlechtování).

Další etapu lze označit za etapu **primitivního šlechtění**, která se vyznačuje tvorbou nových a lepších forem než byly přirozené populace. S migrujícími národy se dostávaly plodiny do jiných oblastí a do jiných přírodních podmínek. Při vzniku populací rostlin se uplatňoval hlavně **přírodní** výběr a **instinktivní** neuvědomělý výběr člověka.

Člověk svým primitivním zásahem pomohl zvýrazňovat a urychlovat vývojový proces. Vznikaly rostliny a formy pro něho užitečné. Postupně byly k dispozici formy odlišné od původních planých předků, vznikla větší variabilita.

Člověk zjišťoval určité shody mezi mateřskou rostlinou a jejím potomstvem, nejlepší plody a semena nezkonsumoval, ale uložil a zasel a rozmnožoval. Jeho počínání postupně se stávalo systematicky opakovaným zásahem a vedlo tak k **záměrnému** výběru na empirickém podkladě, který však postrádal biologických a vědeckých podkladů. Postupně tak vznikaly krajové (místní) odrůdy s uplatněním zásahů v nejjednodušší formě tzv. **hromadného výběru**. Toto období končilo prakticky na přelomu 18. a 19. století.

Významným jevem využitelným v procesu šlechtění byl objev pohlavnosti rostlin *R. J. Camerarium* (1694) a pozdější zjištění možnosti záměrného přenosu pylu. Pohlavní orgány rostlin popsal i *K. Linné* a rostlinný systém opíral právě o morfologii květních orgánů. Je známo, že *J. G. Kölreuter* (1760) jako první vytvořil i mezidruhové křížence tabáku. Upozornil tak na význam hybridizace, podobně později i *Ch. Darwin* a další badatelé. Jejich práce znamenaly revoluci v přírodních vědách a staly se základem poznávání evolučního procesu. *Ch. Darwin* podrobně sledoval práci šlechtitelů a získané poznatky přispěly k formování teorie evoluce přírodním výběrem (ROD, 1982).

Druhá polovina 18. stol. se vyznačovala průmyslovou a s ní související i vědeckou revolucí. S přibývajícím poznatkami z biologie (objev buňky, později i chromozomů, první poznatky z dědičnosti) nastupuje postupně etapa **záměrného, cílevědomého šlechtění**. Za zakladatele šlechtění rostlin je považován *T. A. Knight* (1759-1838), který po vzoru šlechtitelů hospodářských zvířat začal používat hybridizaci k cílevědomému šlechtění, nejdříve u ovocných stromů, později i u jiných kulturních plodin. K rozvoji teorie šlechtění přispěli i *J. B. Lamarck* a *Ch. Darwin* (1809-1882) s teorií vývoje a proměnlivosti druhů. V roce 1865 publikoval *J. G. Mendel* světoznámé *Versuche über Pflanzehybriden*. Dílo *Ch. Darwina* a *J. G. Mendela* mělo výrazný vliv na rozvoj praktického šlechtění. Francouzský šlechtitel řepy *L. L. Vilmorin* (1816-1860) postupně zavedl pokrokovější **individuální výběr** rostlin a zdůrazňoval, že šlechtitelská hodnota rostliny se nemůže posuzovat jen podle individuálního vzhledu a hodnoty, ale na základě jejího potomstva. Zavedení individuálního výběru znamená počátek moderního šlechtění.

Mezníkem ve vývoji šlechtění rostlin je rok 1900, kdy byly *De Vriesem*, *Corrensem* a *Tchermakem* nezávisle na sobě znovuobjeveny Mendelovy zákony dědičnosti. Prokázalo se tak, že pouze křížením (hybridizací) lze dosáhnout nové kombinace znaků, tedy novou genetickou variabilitu. Následovalo zavádění cílevědomého křížení do šlechtění mnoha rostlin. Cílevědomé šlechtění na teoretických základech se v Evropě rozvíjelo hlavně v Anglii, ve Francii a v Německu. Od této doby získalo šlechtění vědecký základ. Používané krajové odrůdy byly tak doplňovány odrůdami šlechtěnými.

Nové poznatky z biologie a také z praktického šlechtění umožnily přechod na zač. 20. stol. do etapy **vědeckého šlechtění**. Rozšiřování výchozího šlechtitelského materiálu sbírkami planých forem, uchovávání a studium světového sortimentu po vzoru *N.I.*

Vavilova a objevy nových šlechtitelských metod (mutační a polyploidní šlechtění, heteroze), umožnily rychlý vzestup šlechtitelské práce. Rychlý rozvoj nastal zejména po 2. světové válce (v USA i v době války). Šlechtění plodin dosáhlo v dalších letech vysoké úrovně po vědecké, ale i po technické stránce. Od 80. let. a v současnosti je snaha zavádět do šlechtění rostlin nejnovější poznatky z oblasti technik tkáňových kultur, z oblasti molekulární biologie a genových manipulací apod. Výsledkem úsilí jsou nové odrůdy velmi výkonné, s vysokými hodnotami jakosti a odolnosti a také v mnoha případech velmi specializované.

Rozvoj šlechtění v **domácích podmínkách** se datuje po r. 1800. Centrem šlechtitelských snah byla Morava, (šlechtění jemnovlnných ovcí s rozvojem textilního průmyslu, *Ch. C. André* zdůrazňoval vědeckost této práce, seznamoval s průkopnickým šlechtěním v Anglii, zasloužil se o vybudování stanice pro šlechtění vinné révy, kongres středoevropských zemědělců a lesníků v r. 1840 v Brně, kde se otázkám hybridizace a šlechtění věnovala velká pozornost). Významnou roli měl opat starobrněnského kláštera *C. F. Napp*, pozdější Mendelův představený. Nejznámějším šlechtitelem v té době byl *Em. Proskowetz* (1849-1944) na Hané v Kvasicích, který z krajové odrůdy získané od rolníka z Holešova vyšlechtil zpočátku hromadným klasovým výběrem, později (od r. 1885) individuálním výběrem nejlepších linií odrůdu Hanácký Pedigree. Ta dala základ odrůdám hanáckého sladovnického ječmene nejen u nás, ale i odrůdám v Německu a ve Švédsku, její osivo se vyváželo do mnoha zemí Evropy, sev. Afriky a Přední Asie. Motivem rozvoje praktického šlechtění byly obchodní zájmy, osivo dobrých nových odrůd se prodávalo lépe a za vyšší cenu. Z počátku se zkoušely a prodávaly cizí odrůdy, ale již v polovině 19. stol. u nás bylo 19 pokusných stanic, které zkoušely odrůdy domácího šlechtění (CHLOUPEK, 1995).

Cukrovou a krmnou řepu šlechtili *Wohanka* ve Hostivicích a *Zapotil* ve Věrušicích a v Úholičkách, na Moravě *Proskowetz* v Kvasicích, od zač. 20. stol. pak *Bartoš* a *Stehlík*. Ječmen šlechtili *Nolč*, *Adamec*, *Macalík*, *Vaňha* aj. Majitelem šlechtitelské firmy v Chlumci n. C. byl *A. Dreger*, který šlechtil odrůdy pšenice, žita, ječmen, ovsa, bobu, máku a jetele, většinou individuálním výběrem z krajových odrůd. Prvním šlechtitelem ovoce byl *E. Proche* (1822-1908). *K. Dvorský* vynikl šlechtěním Pražské brukve, rod *Pourův* odrůdami zelí, atd.

Vznikla řada šlechtitelských stanic, např. firma *Sativa* (1915), Slapy u Tábora a *Keřkov* (1921) pro šlechtění brambor aj. Od r. 1914 byl vedoucím stanice v Lednici prof. *F. Frimmel* (pokračovatel práce prof. *Tchermaka*) a zabýval se šlechtěním zeleniny a tabáku, byl průkopníkem heterozního šlechtění. Značný vliv na rozvoj šlechtění měly Ústavy pro zušlechťování rostlin při Vysokých školách zemědělských v Praze (prof. *Munzar*) a v Brně (prof. *Kočnar*). Prudký rozvoj šlechtění nastal po 1. svět. válce.

V r. 1945 byl na území Čs. republiky 45 šlechtitelských stanic, z nichž většina po r. 1948 byla znárodněna. V dalším období procházely řadou reorganizací až nakonec byly začleněny pod VHJ OSEVA pro oblast šlechtění polních plodin a SEMPRA pro oblast šlechtění zelenin, květin a ovocných a okrasných dřevin. Organizace zabezpečovaly šlechtění nových odrůd, udržovací šlechtění, výrobu osiv a jejich finální úpravu, včetně prodeje uživatelům, začleňovaly i příslušnou vědeckovýzkumnou základnu i se širším posláním pro oblast rostlinné výroby. V zahraničním obchodu s osivy měl výsadní postavení KOOSPOL. Přes nejednoduchou situaci v oblasti šlechtění v daném období se přesto zachovala poměrně dobrá úroveň šlechtění mnoha plodin díky respektování osobní motivace šlechtitelů na výsledcích šlechtění.

Legislativní stránka šlechtění a semenářství má u nás také velmi dobrou tradici. Již v r. 1921 přijala Československá republika zákon č. 128 o uznávání původnosti odrůd a uznávání osiva a sadby a zkoušení odrůd.

K podstatným změnám dochází v roce 1990, kdy přechod na principy tržní ekonomiky od bývalého "plánovitého hospodářství" měl za následek zásadní změnu situace v oblasti šlechtění a semenářství.

OSEVA i SEMPRA se postupně rozdělovala na řadu samostatných podniků, některé se ještě v procesu privatizace dál dělily. V dané oblasti začala působit řada subjektů, zpočátku i státních podniků, později subjektů na soukromopodnikatelské bázi (a.s. a s.r.o.).

K organizaci a podpoře vzájemné spolupráce a k obhajobě zájmů v oblasti šlechtění a semenářství na úseku obchodu, ochrany odrůd a rozvoje šlechtitelské a semenářské činnosti vytvořily šlechtitelské a semenářské firmy v roce 1990 zájmové sdružení Českomoravskou asociaci šlechtitelů a semenářů, šlechtitelé vytvořily Českomoravský svaz šlechtitelů (ČMAŠS). Asociace je nevýdělečnou organizací a její cíle jsou naplňovány prostřednictvím šlechtitelské komory, semenářské komory, 10 plodinových sekcí a pracovních skupin. Asociace je členkou Mezinárodní federace obchodu s osivem (FIS) a Mezinárodní asociace šlechtitelů rostlin (ASSINSEL).

2. BIOLOGICKÉ A FYZIOLOGICKÉ ZÁKLADY ŠLECHTĚNÍ

V biologických základem šlechtění je nutné spatřovat teoretickou základnu pro vědecky podloženou predikci, indukci, detekci a selekci požadovaných nových genotypů kulturních rostlin. Vychází z poslání šlechtění, tj. z projekce šlechtitelského ideotypu na výkonný fenotyp splňující morfologické, fyziologické, biochemické, výnosové a kvalitativní kritéria při požadované stabilitě, homogenitě a adaptaci na variabilní podmínky prostředí.

2.1. VÝZNAM DĚDIČNOSTI A PROMĚNLIVOSTI VE ŠLECHTĚNÍ

Genetika jako nauka o dědičnosti a proměnlivosti je teoretickým základem vědecky podložené šlechtitelské činnosti. Úspěšná šlechtitelská práce předpokládá znalost genetiky jako takové a rovněž předpokládá hlubokou znalost speciální genetiky šlechtěné plodiny - tj. genetické založení a dědičnost významných znaků a vlastností, míru genetické a epigenetické variability, genové zdroje.

Celková fenotypová diverzita znaků a vlastností daného jedince či souboru jedinců je podložena genotypem a ovlivňována prostředím. Variabilita (proměnlivost) vyvolaná podmínkami vnitřního i vnějšího prostředí se označuje jako negenetická (modifikační) variabilita. Hodnota daných znaků a vlastností je modifikována v rámci normy reakce příslušného genotypu na podmínky prostředí. Prostředí má také vliv na sílu realizace znaku (expresivita) a na četnost manifestace daného znaku či vlastnosti v populaci (penetranci). Variabilita je hodnocena na základě statistické analýzy rozsáhlých populací šlechtitelského materiálu.

Cílem šlechtitelské práce je zlepšování nebo dokonce tvorba nových genotypů. Tuto činnost umožňuje jen variabilita genetická, kdy rozdílné hodnoty znaků a vlastností jsou podmíněny odlišnostmi genetických základů. Genetickou variabilitu lze členit na přirozenou a uměle vyvolanou. Přirozená variabilita u šlechtěných plodin však většinou nesplňuje předpoklady pro přímé využívání. Z tohoto důvodu je genetická variabilita různými metodami a technikami rozšiřována (křížení, mutace), tak aby byla využitelná v procesu šlechtění.

Využití zásad kvantitativní genetiky ve šlechtění

Významný podíl hospodářsky významných znaků je kvantitativního charakteru. Genetika kvantitativních znaků pak může napomoci k řešení obtížných šlechtitelských otázek v procesu praktického šlechtění. Kvantitativní znaky jsou z pohledu genetiky kontrolovány více nebo mnoha minor-geny (polygeny, geny malého účinku). Variabilita hodnot příslušného kvantitativního znaku má pak kontinuální proměnlivost, v případě pouze aditivních účinků polygenů s charakterem normálního rozdělení. Štěpící generace nemá jasně ohraničené fenotypové třídy, genotyp jedince je nutné zjišťovat na základě genetické analýzy a statistického zpracování dat.

U kvantitativních znaků se setkáváme s termínem dědivosti znaku - heritabilitou daného znaku. Heritabilita (dědivost) je vlastně mírou podílu genetické variability na variabilitě celkové (fenotypové). Hodnota heritability je relativní, není stálá a je závislá na míře genetické příbuznosti rodičů. Heritabilita znaku se objevuje jako významný faktor při stanovení, resp. predikce genetického zisku na základě selekce ze štěpící populace.

Vzhledem ke složitosti problematiky zlepšování úrovně kvantitativních znaků a vlastností je snaha o výraznější využití moderních technik analýzy rostlinného genomu pro mapování kvantitativních lokusů a možnosti výběru optimálních genotypových kombinací na základě markerové analýzy již v raných šlechtitelských generacích.

Problematika genetiky kvantitativních znaků a metod studia polymorfismu na úrovni DNA a proteinů je náplní skript Speciální genetiky rostlin a Molekulární biologie genu.

2.2. ZÁKONITOSTI RŮSTU A VÝVOJE VE ŠLECHTĚNÍ

Pro šlechtění jsou významné ty oblasti z fyziologie rostlin, které mají těsný vztah k tvorbě výnosu biomasy, semen a k tvorbě obsahových látek - tj. oblast fotosyntézy, vodního režimu, výživy, problematika fyziologických základů tolerance/resistence abiotickým a biotickým stresům.

Důležitá je i oblast růstu a vývoje, jejich genetické podložení a jejich vzájemné vztahy, které v konečném důsledku ovlivňují a určují délku vývojového cyklu (ontogenezi). Z oblasti růstu je ve šlechtění využíván nástup a průběh fenologických fází. Praktického významu mají fenofáze snadno zjiřitelné, viditelné a typické pro danou plodinu.

Z oblasti vývoje jsou významná 2 období - tepelné (jarovizační) a světelné. Průběh vývoje rostliny je mnohdy poměrně složitě určován vnitřními faktory (dědičnými základy) a vlastní průběh je pak regulován na základě interakce příslušných genů k některým podmínkám prostředí (teplota, délka dne, vlnové složení světla, hladina fytohormonů). Reakce na délku dne je významná pro určení ranosti genotypu a šlechtění na délku vegetační doby. Při znalostech požadavků daného genotypu na podmínky jarovizace a délky světelného dne je možné pěstovat rostliny v umělých podmínkách, získat více generací během jednoho roku a zkrátit tak šlechtitelský proces (BOHÁČ, 1967).

2.3. ZPŮSOBY ROZMNOŽOVÁNÍ ROSTLIN A GENETICKÉ SOUVISLOSTI REPRODUKCE

Znalost způsobu rozmnožování a biologie kvetení rostlin je ze šlechtitelského hlediska významná jak pro volbu vhodné šlechtitelské metody a výběrového postupu, tak i pro vlastní techniku šlechtitelské práce, tedy pro volbu vhodné šlechtitelské strategie.

U krytosemenných rostlin se vyskytují 2 základní způsoby rozmnožování:

nepohlavní (vegetativní) a pohlavní (generativní).

U kulturních rostlin se setkáváme se 2 způsoby nepohlavního, vegetativního rozmnožování:

a/ Méně častý je výhradně nepohlavní způsob rozmnožování (**amixis**) bez možnosti generativní reprodukce. Amixis je definována jako způsob nepohlavního rozmnožování organismů, při němž nový jedinec vzniká z mateřského jedince bez oplození a tvorby gamet (vlastní rozmnožování vegetativní a výtrusné). Ze šlechtitelského a zemědělského hlediska je významné vegetativní rozmnožování, kdy nová rostlina vzniká z jednoho rozmnožovacího základu (hlíza, cibule, oddenek, kořenový šlahoun, roub, řízek....) Příkladem plodiny množící se striktně vegetativně může být česnek a některé druhy banánovníků. Většina vegetativně se rozmnožujících rostlin má ale zachovanou schopnost generativní, pohlavní reprodukce (**amfimixis**). Toto je významné z genetického hlediska, protože nově vzniklé genotypy na základě generativního křížení mohou být udržovány a rozmnožovány vegetativně. Vegetativní množení v daném případě je možné pomocí rozmnožovacích orgánů - cibulí, hlíz, šlahounů, oddenků, pacibulek, řízků, roubů. Příkladem mohou být brambory, jahodník, ovocné dřeviny, okrasné rostliny množené pomocí řízků, cibulek, hlíz (růže, orchideje).

b/ Další možností rozmnožování rostlin je právě nepohlavní rozmnožování (**apomixis**). Na definici apomixe je řada názorů, jedna z definic za apomixi pokládá ty formy rozmnožování, které jsou podle vnějšího vzhledu podobné pohlavnímu rozmnožování, ale bez procesu oplození, někdy při absenci meiózy a její záměně za mitózu. Apomiktické rozmnožování je fylogeneticky mladší, odvozené od amfimixe a tyto dva způsoby reprodukce jsou spolu velmi těsně spojeny. Apomixis může být stálým způsobem rozmnožování, jevem dědičným nebo se vyskytuje v závislosti na ekologických faktorech jako jev nahodilý a nedědičný. Při apomiktickém způsobu rozmnožování vzniká embryo ze specializované pohlavní buňky (**partenogeneze**) - bez oplození za účasti vajíčka (gynogeneze) nebo pylového zrna (androgeneze). Vznik embrya z jiných buněk samičího gametofytu (ne z vaječné buňky) je označován jako **apogametrie**, vývin gametofytu z diploidní buňky sporofytu je označován jako **aposporie** a **embryonií** (nucelární nebo integumentální) je označovány tvorba embrya vně zárodečného vaku (KOVÁČIK a kol., 1983).

Při pohlavním rozmnožování je ze šlechtitelského pohledu významná znalost biologie kvetení, tj. znalost květních poměrů, uspořádání květů vnitřní i vnější, dynamika kvetení, opylovací poměry. Generativně množené hospodářsky významné rostlinné druhy lze klasifikovat podle několika hledisek:

a/ podle umístění pohlavních orgánů v rámci květu (druhy hermafroditní - oboupohlavné květy, jednodomé květy), či v rámci rostliny (jednodomé rostliny - kukuřice, tykvovité, dvoudomé rostliny - konopí, chmel).

b/ podle způsobu opylování na druhy samosprašné (autogamické - a to idiogamické nebo geitonogamické) a cizosprašné (allogamické). U obou těchto skupin je vytvořena řada mechanismů (morfologických, fyziologických i genetických) pro zajištění opylení vlastním pylem a naopak pro opylení pylem cizí rostliny. Mezi těmito dvěma skupinami existuje řada přechodů - existují druhy přechodné, fakultativně samosprašné a fakultativně cizosprašné.

c/ podle otevírání květů v době opylení (kleistogamické a chasmogamické druhy).

d/ u cizosprašných druhů podle způsobu přenosu pylu na druhy větrosrubečné (anemofilní) a hmyzosrubečné (entomofilní).

Samosprašnost či cizosprašnost nejsou striktně uzavřené kategorie, tato charakteristika není nikdy úplná a míra cizosprašení či samosprašení je ovlivňována řadou

faktoru, mezi než lze počítat genotyp rostliny, ekologické charakteristiky stanoviště, povětrnostní podmínky v době opylování, množství opylovačů a další. Charakteristickým zástupcem samosprašných rostlin je ječmen obecný (k opylení dochází v uzavřeném květu), na druhé straně mezi cizosprašné rostliny můžeme počítat řepu.

Při nepohlavním způsobu rozmnožování nový jedinec vzniká ze somatické buňky mateřského organismu - potomstvo je pak označováno jako **klon** a je geneticky naprosto identické s výchozí mateřskou rostlinou. Změna genotypu je možná pouze na základě somatických mutací (u druhů s paralelní možností generativního rozmnožování i křížením). Klon je množen přirozeně pomocí specifických rozmnožovacích orgánů nebo uměle např. dělením trsu, bulvy, množením z oček, roubů, řízků, regenerací z listů. Přirozené i umělé vegetativní rozmnožování má ve šlechtění řadu výhod - uchování genotypu bez jeho změny, namnožení heterozygotní formy bez štěpení, fixování heterozního efektu při vegetativním množení, množení sterilních jedinců (BOHÁČ a kol, 1990).

U krytosemenných rostlin generativně množných se setkáváme s dvojitým oplozením - zabezpečené splynutím generativního jádra pylové láčky s vaječnou buňkou mateřského organismu a splynutím vegetativního jádra pylové láčky s centrálním jádrem zárodečného vaku (vznik triploidního hybridního endospermu). Ze šlechtitelského pohledu je významný vznik různých úrovní ploidie a stavů hybridnosti pletiv v mateřské buňce, možnost extirpace embrya, množství a selektivita pylu při opylení.

2.4. PŮVOD KULTURNÍCH PLODIN, GENOVÁ CENTRA KULTURNÍCH PLODIN

Vznik kulturních druhů je výsledkem trvalého a dlouhodobého evolučního procesu, který je podmíněn genetickými mechanismy evoluce a usměrněnou lidskou činností (působení domestikace a šlechtění). Kulturní formy vznikly a i v současné době vznikají z původních planých předků. Dnes je ale mnohdy obtížné nalézt spojitost mezi dnešními kulturními a původními planými formami. Vyšší koncentrace vnitrodruhových forem, vyšší míra variability genové, morfologické i fyziologické v rámci daného druhu kulturní rostliny se považuje za místo jejího vzniku, za její genové centrum. V evolučním procesu docházelo k rozdělení výchozích druhů na izolované populace, intenzivnímu působení ekologických a genetických vlivů na tyto poměrně malé izolované populace. V důsledku tento proces vedl ke zvýraznění genetické odlišnosti daných populací, zejména centrálních a okrajových (periférních) populací a ke vzniku morfologicky a fyziologicky odlišných typů. Výraznější rozdíly jsou patrné z porovnání některých odlišností kulturních a planých druhů a forem.

Základem evoluce kulturních druhů je proměnlivost vyvolaná dědičnými vlivy (dědičná proměnlivost) a vlivy okolního prostředí (paragenetická - nedědičná proměnlivost). Dědičnou proměnlivost podmiňují procesy mutace, hybridizace, zesiluje ji izolace a velikost populace (drift, fluktuace, inzucht) a usměrňuje ji výběr (selekce) - přírodní výběr, ale také i „neuvědomělý“ umělý výběr primitivních zemědělců a záměrný výběr při současném šlechtění. Všechny tyto faktory spolupůsobí navzájem. Z evolučního, genetického a šlechtitelského hlediska jsou významné jen dědičné změny, kterou vedou k diferenciaci genotypů v rámci populace a druhu, ke vzniku nových životaschopných jedinců, v některých případech i druhů a rodů, většinou se složitějším a dokonalejším fenotypem.

Genová centra kulturních plodin

Centra původu kulturních plodin jsou geografické oblasti, ze kterých dané druhy pocházejí, jsou to místa jejich vzniku. V genových centrech převažují dominantní formy daného druhu (vzniklé na základě mutací a selekce), vyskytují se v nich i původní plané formy kulturního druhu a v periferních populacích se zvyšuje zastoupení recesivních forem. Genová centra jsou místem největšího soustředění genů, ale i nejvyšší variability daného druhu. Zásahu na vybudování koncepce genových center kulturních plodin (míst vzniku kulturních druhů), má *N. I. Vavilov*. Genová centra se dělí na primární (místo vzniku druhu, místo s největším počtem genetických forem a nejrozsáhlejší variabilitou) a sekundární (místa druhotného vzniku). Vavilov také předpokládal, že stupeň mnohotvárnosti daného druhu je také ukazatelem doby pěstování plodiny v dané oblasti. Centra původu druhů byla podle Vavilova současně i centra genetické proměnlivosti. Největší rozmanitost našel Vavilov v tropickém a subtropickém pásu v podhůří velkých pohoří. Tato pohoří byla vlastně i bariérou vedoucí k omezené migraci rostlin, lokální izolaci. Později se prokázalo, že ne vždy jsou centra s maximální úrovní genetické proměnlivosti centry vzniku kulturních rostlin (BOHÁČ a kol., 1990, CHLOUPEK, 1995).

Vavilov na základě svých poznatků vymezil 8 genových center:

I. Čínské centrum - ječmen víceřadý, nahý a bezosinatý, čirok, pohanka, sója, ředkev, konopí, hrušeň, jabloň, meruňka, fazol

II. Indické centrum - rýže, cukrová třtina, fazol, okurka, citrusy, palma kokosová, brukvovité rostliny, bavlník, banánovník

III. Středoasijské centrum - pšenice, hrách, čočka, bob, drobnozrnný fazol, len, meloun, ředkvička, cibule, špenát, meruňka, mandloň, hrušeň, jabloň, oliva, vinná réva, vlašský ořech

IV. Blízkovýchodní centrum - pšenice, žito, ječmen, cibule, salát, řepa salátová, zelí mrkev, len meloun, okurka, tykev, vajtěška, jetel perský, vičenec, vikev, lupina, vinná réva, hrušeň, třešeň, mandloň, smokvoň, vlašský ořech

V. Středomořské centrum - pšenice, ječmen, hrách, jetel alexandrijský, jetel inkarnát, vikev, len, hořčice, brukvovité plodiny, řepa, oliva

VI. Etiopské centrum - pšenice, ječmen, len, hrách, čočka, bob.

VII. Středoamerické centrum - fazol, dýně, paprika, kakaovník, bavlník, tabák

VIII. Jihoamerické centrum - brambor, kukuřice, fazol, rajče, dýně, bavlník, podzemnice, ananas, kakao.

Problematika genových center byla i nadále studována a v sedmdesátých letech *Žukovskij* vymezil 12 geografických genových center vzniku kulturních plodin:

I. Čína a Japonsko, II. Indonésie - JV Asie, III. Austrálie, IV. Indie, V. Střední Asie, VI. Přední Asie, VII - Středomoří, VIII. Afrika, IX. Evropa a Sibiř, X. Střední Amerika, XI. Jižní Amerika, XII. Severní Amerika.

Obr. 2.1.: Genová centra původu kulturních rostlin (HOFFMANN a kol., 1971)

Praktický význam genových center spočívá v možnosti využití existující rozsáhlé genetické diverzity ve šlechtitelské práci - při rezistentním šlechtění, možnost rozšíření genetické proměnlivosti šlechtitelského materiálu.

V období přelomu letopočtu byla již většina kulturních rostlin domestikována a často rozptýlena daleko od svých center vzniku. Proměnlivost druhů se ale vyvíjela dále, zejména osidlováním nových území a kontinentů.

Kulturní plodiny se dělí na primární (pšenice, hrách, čočka, mák , len), které člověk využíval sběrem ještě před jejich zavedením do kultury a na sekundární, které nejprve jen doprovázely primární druhy a pěstovat se začaly až později.

Podle původu lze kulturní druhy rostlin zařadit do 5 skupin:

- a/ není znám planý předek (kukuřice)
- b/ vyskytuje se v plané i kulturní formě, ale nejsou dostatečné důkazy o jejich příbuznosti (některé pšenice, ječmen, hrách)
- c/ planý předek je znám a existuje i v současnosti (rajče, jetel luční, vojtěška, lupina)
- d/ druhy hybridního charakteru, vzniklé na základě složité spontánní hybridizace rozdílných druhů a rodů, které se dnes zcela odlišují od kulturních druhů (některé Pšenice, kukuřice, tabák)
- e/ druhy zkulturněné nebo zkulturněované v posledním období (sudanská tráva, kozinec, sléz, řepka).

Pro důkaz původu některých kulturních druhů byly využity procesy resyntézy druhů, tj. cesta vzdálené hybridizace a amfidiploidizace uvažovaných rodičovských druhů s cílem umělého vytvoření kulturního druhu (pšenice obecná, řepka, švestka).

Analogickou cestou byly vyšlechtěny i nové v přírodě doposud neexistující druhy jako např. Triticale, pýro-pšeničné hybridy (ROD a kol., 1982, BOHÁČ a kol., 1990).

2.5. BOTANICKÁ A ŠLECHTITELSKÁ KLASIFIKACE ROSTLIN

Kulturní rostliny (tj. rostliny pěstované člověkem záměrně za určitým cílem) pocházejí z planých rostlin. Rodová a druhová příslušnost kulturních i nekulturních rostlin (jejich systematické zařazení) má pro šlechtění nesporný význam. Význam této klasifikace vystupuje do popředí při řešení šlechtitelských úkolů, kdy je nutné poznání příbuzenských vztahů daných kulturních a nekulturních forem při výběru rodičů ke křížení. Ve šlechtitelské práci se setkáváme s jednotkami botanické klasifikace (taxony), ale i se šlechtitelskými jednotkami, označujícími danou skupinu šlechtitelského materiálu.

Vzhledem k velkému množství vyšlechtěných odrůd u některých významných druhů rostlin se používají zvláštní systematické kategorie, které jsou odlišné od taxonomických jednotek při klasifikaci planých druhů - např. konvarieta, provarieta...

Z praktického hlediska je základním článkem celého klasifikačního systému druhová příslušnost dané plodiny (ROD a kol., 1982).

Vztah mezi taxonomickým botanickým členěním a šlechtitelským označením nejvýznamnějších kategorií je uveden v následujícím přehledu:

taxonomické jednotky:

říše (*regnum*)
podříše (*subregnum*)
kmen (*phylum*)
podkmen (*subphylum*)
oddělení (*divisio*)
pododdělení (*subdivisio*)
třída (*classis*)
podtřída (*subclassis*)
řád (*ordo*)
podřád (*subordo*)

šlechtitelské kategorie:

| | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| čeleď (<i>familia</i>) | čeleď |
| podčeleď (<i>subfamilia</i>) | |
| shluk (<i>tribus</i>) | |
| podshluk (<i>subtribus</i>) | |
| rod (<i>genus</i>) | rod |
| podrod (<i>subgenus</i>) | |
| sekce (<i>sectio</i>) | |
| podsekce (<i>subsectio</i>) | |
| řada (<i>series</i>) | |
| podřada (<i>subseries</i>) | |
| druh (<i>species</i>) | druh |
| poddruh (<i>subspecies</i>) | |
| odrůda (<i>varietas</i>) | varietà |
| pododrůda (<i>subvarietas</i>) | |
| forma (<i>forma</i>) | forma |
| subforma (<i>subforma</i>) | |
| | odrůda (<i>cultivar</i>) |

2.6. GENETICKÁ DIVERZITA A JEJÍ OCHRANA

Pojem **biodiverzita** (biologická diverzita) zahrnuje veškerou existující variabilitu živých organismů a ekologický komplex, který tyto organismy obývají. Biodiverzitu pak lze hodnotit na 3 úrovních:

- biodiverzita na úrovni ekosystému (druhy a jejich genotypy v daném areálu a všechny vazby a interakce mezi nimi navzájem a jejich reakce na prostředí)
- biodiverzita na úrovni druhu (mezidruhová a vnitrodruhová diverzita), počet krytosemenných rostlin (*Magnoliophyta*) je odhadován na cca 250000 druhů, počet rostlinných druhů využitelných pro zemědělství a lidskou výživu se odhaduje na 5-7 tisíc druhů. Více jak 90% lidské výživy však zabezpečuje méně než dvě desítky druhů.
- biodiverzita na genové úrovni - genetická (genová) diverzita - u zemědělsky využívaných druhů se vedle evoluce výrazně uplatnila i činnost člověka (DOTLAČIL, 1996).

Termín **genetická diverzita** označuje různorodost rostlinných rodů, druhů a forem na genové úrovni, genetická diverzita vznikla a stále vzniká mutacemi a rekombinacemi (spontánními i indukovanými, výrazně se u šlechtěných rostlin projevuje vliv člověka na míru genetické diverzity - její rozšiřování na straně jedné a zužování na straně druhé). Adaptace, které zahrnují přizpůsobování rozdílným podmínkám prostředí a dále pak náhodný genetický drift utváří rozložení genetické diverzity v daném čase a prostoru. Genetickou diverzitu lze posuzovat na úrovni genových rezervoárů (gene-pool), populací, jedinců, genomů, lokusů nebo na úrovni sekvence bází molekuly DNA.

Následky nedostatečné genetické diverzity lze spatřovat v genetické zranitelnosti, vedoucí ke ztrátám u většiny nebo u všech odrůd určité plodiny a rovněž v omezení genetického zisku u kvantitativních znaků, které je jen obtížně překonatelné.

Zranitelnost a negativní dopad velmi zúžené genetické diverzity lze dokumentovat na příkladu kukuřice, pšenice či citrusů: v souvislosti s masovým používáním T-typu cytoplasmatické pylové sterility v produkci hybridů kukuřice došlo počátkem 70. let v USA k výraznému snížení výnosů v důsledku rozšíření agresivního kmene *Helminthosporium maydis*. Jednostranné rozšíření odrůdy Bezostaja na Ukrajině a její vymrznutí v průběhu tuhé zimy vedlo ke ztrátám milionů tun zrna pšenice. Pěstování jen

několika odrůd citrusů na Floridě vedlo k rozšíření mutantního silně virulentního kmene *Xanthomonas campestris* a k následné epidemii a zničení 20 milionů citrusů (CHLOUPEK, 1995).

Čelit uvedeným následkům lze šlechtěním odrůd s větší genetickou odlišností a důsledným monitorováním chorob, škůdců a dalších stresorů ohrožujících produktivitu plodin.

K ochuzování a zužování genetické diverzity dochází v souvislosti s rozvojem moderního šlechtění počátkem 20. století vlivem pěstování vysoce výkonných, ale často poměrně blízce příbuzných odrůd zemědělských plodin. Neustálé zužování počtu pěstovaných druhů a odrůd a jejich plošné rozšiřování vedlo ke genetické erozi, částečné či úplné ztrátě krajových odrůd, zužování genetické diverzity.

Problematika ochrany genetické diverzity je jedním z globálních problémů a její praktické provádění je velmi problematické - příkladem ochrany biodiverzity jsou botanické zahrady, národní parky. Ochrana genetické diverzity *ex situ* je prováděna v genových bankách. Účelem a posláním těchto institucí je konzervace, klasifikace a výměna genetických zdrojů. Mnohdy sbírky genových bank minimalizují ztráty genetické variability. Genové banky v současné době ošetřují velké množství vzorků (v globálním měřítku asi 3 mil. položek) a tyto genové zdroje nejen uskladňují, ale i studují, popisují a vzorky poskytují zájemcům ve vnitrostátní i mezinárodní síti.

Z pohledu šlechtitelského lze genové zdroje kulturních plodin využitelné a potřebné pro šlechtění rozčlenit na 4 skupiny:

- a/ současné i minulé odrůdy (moderní)
- b/ krajové odrůdy
- c/ plané a plevelné příbuzné druhy (taxony) se stávajícím nebo potenciálním využitím ve šlechtění
- d/ experimentální šlechtitelský materiál (mutanti, linie, novošlechtění, testery)

Harlan a De Wet definovali koncept genových rezervoárů (gene-pools) z pohledu praktické šlechtitelské využitelnosti a botanické příbuznosti. Rostlinné druhy rozdělili z hlediska jejich potencionální využitelnosti na:

- primární genový rezervoár (gene-pool) - kulturní, plevelné a plané formy v rámci druhu, vzhledem k absenci bariér křížitelnosti je snadný přenos genů
- sekundární genový rezervoár - druhy křížitelné s danou plodinou s určitými obtížemi
- terciární genový rezervoár - druhy, z nichž je přenos genů mimořádně obtížný a vyžaduje speciální techniky (CHLOUPEK, 1995, DOTLAČIL, 1996).

Pokrok ve šlechtitelském výzkumu, v biotechnologiích a molekulární biologii nyní umožňuje překonat řadu překážek při výměně genetické informace mezi „nezkřížitelnými“ druhy a tím i otevírá zcela nové možnosti přenosu genetické informace mezi fylogeneticky nepříbuznými organismy. K dispozici jsou i efektivnější metody výběru donorů genů ve sbírkách genových zdrojů. Toto vše přispívá ke zvýšení potencionální hodnoty a využitelnosti genofondů ve šlechtění rostlin.

3. ODRŮDA - VÝSLEDEK ŠLECHTĚNÍ

Odrůdu podle mezinárodního kódu lze **definovat** jako soubor pěstovaných rostlin s jednotnými morfologickými znaky, jednotnými cytologickými, fyziologickými, biologickými a hospodářskými vlastnostmi, kterými se odlišuje od jiné odrůdy stejného

druhu plodiny (ROD a kol. 1982) Znaky a vlastnosti typické pro odrůdu jsou geneticky podmíněné a jejich genetický základ představuje určitý genotyp odrůdy. Znaky a vlastnosti odrůdy musí být zachovány při množení do dalších generací.

Odrůda je úředně registrována, množení odrůdy a obchodování s odrůdou se řídí platnými zákonnými předpisy.

Podle zákona o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných plodin (zákon č. 92/1996 Sb.) je odrůda soubor jedinců, náležící k jediné nejnižší kategorii botanického třídění, který je definovaný projevem znaků určitého genotypu nebo kombinace genotypů, odlišující se od jiných souborů rostlin projevem nejméně jedním z těchto znaků a je rozmnožovatelný beze změny.

Odrůda musí být:

- a) odlišitelná znaky a vlastnostmi od jiných odrůd daného druhu,
- b) uniformní, tzn. uvnitř odrůdy musí být rostliny do určité míry navzájem shodné (u samosprašných více než u cizosprašných),
- c) stálá ve znacích a vlastnostech v dalších generacích,
- d) souborem s požadovanou hospodářskou hodnotou, tzn. s vlastnostmi zdůvodňující vhodnost k pěstování.

Mezi odrůdami je většinou rozdíl dost patrný, ale v některých případech je podobnost značná.

Ve vztahu k **taxonomickému** (botanickému) třídění odrůda odpovídá většinou nejnižším systematickým (botanickým) jednotkám, tj. varietě, subvarietě a formě.

Odrůda má zpravidla **název** (slovní označení), který obdrží v procesu registrace (dříve povolovacího řízení) odrůdy. Pojmenování odrůd je starým zvykem. U zahraničních odrůd se ponechává název v původním znění.

Vedle pojmu odrůda se používá i pojem *kultivar* (z angl. cultivated variety, cv. ve zkratce). Český termín odrůda (anglicky *variety*, německy *die Sorte*) má těsnější vztah k agronomickému chápání, termín kultivar spíše pak k botanickému spojení a je vhodnější spíše jen pro vědecké a mezinárodní označení (GÁBORČÍK, 1983). Kultivarem lze totiž označit i další výsledky šlechtění, které nemusí být úředně registrovány, kupř. linie, mutant, šlechtitelský polotovar aj.

Odrůda svou hodnotou musí splňovat náročné požadavky uživatele a trhu. Odrůda je hospodářská i obchodní kategorie. Odrůda je významným výrobním prostředkem biologického charakteru se schopností svou hodnotu neustále obnovovat a tím udržovat na žádoucí úrovni po celou dobu její existence.

3.1. ODRŮDY Z HLEDISKA JEJICH VZNIKU A GENETICKÉ SKLADBY

Při dělení odrůd se uplatňují dvě hlediska:

1) hledisko *historického vzniku*, podle kterého lze dělit odrůdy na:

- krajové (místní)

Vznikly jako výsledek převládajícího vlivu přirozeného výběru přírodních podmínek určité oblasti za přispění pěstitele, např. dlouhodobým opakovaným přeséváním vybraného typu. Předností krajových odrůd je maximální přizpůsobení ekologickým a biotickým podmínkám oblasti. Nedostatkem je často nižší produkce a nižší jakost hlavního produktu.

Genetická struktura krajových odrůd je velmi složitá, jsou v podstatě populacemi

různých genotypů, které zabezpečují širokou genetickou základnu odrůdy, a ta pak podmiňuje velkou přizpůsobenost podmínkám oblasti a také vysokou stabilitu výnosů. Krajské odrůdy byly dříve výchozí pro získání vylepšených krajských odrůd. Pro své přednosti byly a ještě jsou často využívány jako genetické zdroje žádaných vlastností při šlechtění nových odrůd. V současné době je těchto odrůd již poskrovnu, u mnoha plodin jsou jen ve sbírkách genových bank.

- šlechtěné

Šlechtěné odrůdy jsou produktem cílevědomé šlechtitelské činnosti. Předností je často vysoká produkce i vysoká jakost produktu, mnohdy geneticky podmíněná odolnost k některé chorobě (rase choroby), někdy se jedná o odrůdy úzce specializované. Pro většinu šlechtěných odrůd je nevýhodou menší adaptabilita a stabilita výnosů, zejména u odrůd samosprašných druhů. Odrůdy jsou šlechtěny účinnými šlechtitelskými metodami a postupy, s kvalifikovanou kontrolou a prověrkou odolnosti k nepříznivým faktorům prostředí a s prověrkou vhodnosti k pěstování v určitých podmínkách.

Odrůda příslušné plodiny je výsledkem dlouholetého úsilí a náročné šlechtitelské práce. Registrované odrůdy musí v současnosti odpovídat požadavkům UPOV pro zákonnou ochranu odrůdy podle podmínek zákona č. 132/1989 Sb. (viz kapitulu 8.3.).

| typy odrůd | | |
|--------------------|--------------------|---------------------------------|
| heterogenní | liniová odrůda | populace syntetická populace |
| homogenní | klon linie | klon hybridní F ₁ |
| | homozygotní | heterozygotní |

Obr. 3.1.: Genetická struktura různých typů odrůd

2) hledisko *genetické skladby*, podle něhož lze odlišit několik typů odrůd:

-liniové

Vyskytují se u samosprašných druhů. Jde-li o generativní potomstvo rostliny samosprašného druhu a je-li homozygotní, lze soubor získaných jedinců označit za linii a vzniklou odrůdu za *odrůdu linii*.

Odrůda může být i směsí několika izogenních linií morfologicky shodných, ale rozdílných jen několika málo výraznými charakteristikami, např. odolností k chorobám, fyziologicky apod., pak se jedná o typ *liniové odrůdy* (víceliniové, směs linií). Uvádí se např., že odrůda ozimé pšenice Mironovská 808 se sestávala z 5 linií.

Odrůdy typu linie se vyznačují vysokou mírou homozygotnosti i homogenity (obr. 3.1.) a relativní stálostí znaků a vlastností. Jejich proměnlivost může vzniknout jen náhodným cizosprašením a nebo mutacemi. Také přimísení osiva jiné odrůdy naruší vyrovnanost ve znacích a vlastnostech odrůdy. U víceliniových odrůd může docházet i ke změnám v zastoupení linií v důsledku jejich konkurenčních vztahů.

U druhů s jistým podílem cizosprašnosti (fakultativně cizosprašných) vzniká již větší dynamika v genetické skladbě odrůdy a svou strukturou odrůdy spíše inklinují (podle % cizosprašení) k odrůdám typu populace.

- populace

Vyskytují u cizosprašných druhů. Odrůda je vždy směsí taxonomicky shodných, značně heterozygotních a geneticky rozdílně založených jedinců, přitom i morfologicky shodných (nebo minimálně rozdílných), které se mezi sebou neustále volně prokřížují. Odrůda populace je vlastně směsí rodin pozitivně vyselektovaných na základě požadavků šlechtitelského cíle. V souvislosti s jistým stupněm panmixie se složení odrůdy (při vyloučení mutací, migrace a selekce, inzuchtů nebo driftových jevů) udržuje v rovnovážném stavu. Nežádoucí a nekontrolované cizosprašení může složení odrůdy narušit.

- hybridní

Posláním hybridní odrůdy je využívat heterozního jevu v mnoha znacích a vlastnostech, který se projevuje se zpravidla vyšší životaschopností v první filiální (F_1) generaci. Nejvíce se projevuje u znaků geneticky polygenně založených (např. ve výnosu, vyšší odolnosti vůči stresovým faktorům), v menší míře, nebo vůbec se neprojevuje u znaků oligogenně založených.

Heteroze vzniká na základě odpovídající kombinační schopnosti (KS) dvou, případně více křížených rodičovských komponent. Odrůda tedy vzniká zcela záměrným a řízeným křížením (hybridizací) vybraných rodičovských komponentů.

Jsou dva typy hybridních odrůd:

- *hybrid generace F_1* , který vzniká křížením dvou nebo více rodičovských komponent, a to odrůd (meziodrůdový hybrid) nebo inbredních (inzuchtovaných) linií (meziliniový hybrid). Účelem hybridů je využívat maximální heterozní efekt, který je právě v první filiální generaci. Rozmnožováním do dalších generací heterozní efekt výrazně klesá a proto odrůdy tohoto typu nelze množit.

Meziliniové hybridy lze dále členit podle počtu křížených linií na dvouliniové (Sc – Single cross), tříliniové (Tc – triple cross) a čtyřliniové (Dc – double cross). Hybridy mohou být i odrůdoliniiové (Vlc – variety-line cross) a liniiodrůdové (Lvc – line-variety cross).

Jednoduchý dvouliniový hybrid ($A \times B$) se vyznačuje vysokým stupněm heterozygotnosti a genotypové homogenity, což zabezpečuje jednak vysoký stupeň uniformity v projevu znaku a také vysokou výkonnost. Tříliniový hybrid vzniká postupným křížením tří komponent ($A \times B$) \times C. Při vysokém stupni heterozygotnosti se vyznačuje určitou mírou genotypové heterogenity, s čímž souvisí i nižší uniformita. Dvojitý čtyřliniový hybrid vzniká postupným křížením dvou jednoduchých hybridů ($A \times B$) \times ($C \times D$). Vyznačuje se vysokým stupněm heterozygotnosti a poměrně vysokým stupněm genotypové heterogenity, nižší fenotypovou vyrovnaností, ale vyšší mírou adaptability a výnosové stability. Dvouliniové a tříliniové hybridy se vyskytují i v modifikované verzi (MSc, MTc), např. u kukuřice.

- *syntetická populace (odrůda)* je druhým typem hybridní odrůdy. Vzniká záměrnou skladbou a vzájemnou hybridizací většího počtu komponent (genotypů, linií, rodin, klonů). Panmiktické opylování (větrem, hmyzem) zajišťuje neustálé prokřížování komponent a tím i udržování vysokého stupně heterozygotnosti a udržování heterozního efektu na přijatelné úrovni i při rozmnožování.

Charakteristické pro hybridní odrůdy je vysoká heterozygotnost, rozdílný stupeň genotypové heterogenity.

Pro zvýšené využití heteroze se u mnohých plodin využívá geneticky podmíněné pylové sterility s možností obnovy fertility (CMS), např. pomocí Rf genů. Podle

HABĚTÍNKA (1997) je tvorba hybridních odrůd u řepky olejky orientována na využití CMS a sporofytické autoinkompatibility.

Hybridní odrůdy se vyskytují převážně u cizosprašných, ale také i u některých samosprašných druhů (příkl. rajče, paprika, tabák aj.). Počet hybridních odrůd neustále přibývá (zejména u zelenin), jak je zřejmé z obr. 3.2. a z údajů tabulky 3.1..

Obr. 3.2.: Počet registrovaných hybridních odrůd

- polyploidní

Polyploidní odrůda je soubor jedinců se zvýšeným počtem chromozomů (na $4n$, $3n$). Vyskytuje se více u cizosprašných druhů, a proto je geneticky shodná s odrůdou populací, vyskytující se i u vegetativně množených kulturních rostlin.

Vzniká selekcí polyploidních jedinců po předchozí polyploidizaci diploidních rostlin a je většinou tetraploidní (autotetraploidní). Polyploidní odrůda existuje jako hybridní typ (F_1 generace) po záměrném křížení diploidních jedinců s tetraploidními ($2n \times 4n$, nebo opačně $4n \times 2n$) a pak je tedy triploidní ($3n$). Vzhledem k lichému počtu chromozomů je sterilní a odrůdu nelze generativně množit.

| Druh zeleniny | Výskyt | | % F_1 odrůd v ČR v letech | | |
|-------------------|--------|----|-----------------------------|------|------|
| | svět | ČR | 1986 | 1993 | 1996 |
| Cibule | 50 | 20 | 21 | 21 | 58 |
| Brokolice | 25 | 5 | 0 | 66 | 62 |
| Brukev (kedluben) | 30 | 10 | 6 | 6 | 27 |

| | | | | | |
|-------------------|----|----|----|----|----|
| Řepa salátová | 10 | 2 | 0 | 0 | 22 |
| Celer | 10 | 1 | 0 | 0 | 9 |
| Kapusta hlávková | 45 | 15 | 11 | 52 | 75 |
| Kapusta růžičková | 25 | 20 | 83 | 88 | 94 |
| Květák | 30 | 8 | 0 | 13 | 39 |
| Mrkev | 20 | 9 | 0 | 23 | 50 |
| Okurky | 40 | 25 | 68 | 89 | 96 |
| Paprika | 30 | 10 | 4 | 4 | 45 |
| Rajče | 50 | 25 | 39 | 44 | 65 |
| Pekingské zelí | 25 | 20 | 50 | 50 | 90 |
| Tykev | 50 | 25 | 26 | 50 | 50 |
| Zelí hlávkové | 45 | 20 | 51 | 72 | 83 |

Tab. 3.1.: Přehled druhů zelenin s výskytem hybridních odrůd (HABĚTÍNEK, 1997)

- klon

Vyskytuje se jen u vegetativně množených druhů. Jedná se o potomstvo jedné nebo více rostlin (pak jde o směs klonů) vegetativně pomnožených. Vyznačuje se shodným genotypem a tedy i fenotypovou vyrovnaností ve znacích a vlastnostech. Geneticky může být buď homozygotní nebo heterozygotní podle genotypu výchozí rostliny. Genetická stavba zůstává neměnná, změnu genotypu může přivodit jen mutace. Mechanickým přimísením jiné odlišné odrůdy vzniká směs klonů (nejde o genotypovou změnu). Odrůda typu klon může uchovávat i heterozní efekt vzniklý v F_1 po zkřížení rodičů (příkl. brambory).

U některých plodin, zejména u cizosprašných druhů, se vyskytují odrůdy různých typů, kupř. u řepky jsou odrůdy linie, ale i populace i hybridní odrůdy. U cukrovky a krmné řepy jsou odrůdy populace i odrůdy hybridní (F_1 generace), u žita odrůdy populace i hybridní apod. Přehled různých typů odrůd uvádí tabulka 3.2.

| Druh | Počet odrůd typu | | | | |
|-------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------------------------|--------|
| | Populace | Syntetická odrůda | Polyploidní odrůda | Hybridní odrůda F_1 resp. její typ | Celkem |
| Žito seté | 2 | | 1 (4n) | 3 | 6 |
| Kukuřice setá | | | | 64 Sc, 46 Tc, 6 Dc | 116 |
| Čirok zrnový | | | | 2 | 2 |
| Pohanka obecná | 2 | | | | 2 |
| Vikev huňatá | 3 | | | | 3 |
| Jetel luční | 5 | | 11 (4n) | | 19 |
| Jetel plazivý | 9 | | | | 9 |
| Vojtěška setá | 12 | 4 | | | 16 |
| Slunečnice | | | | 20 | 20 |
| Cukrovka | | | 42 (3n) | 11 Sc, 42 Tc | 53 |
| Krmná řepa | 3 | | 12 | 12 Sc, 3 Vc, 1 H | 81 |
| Bojínek luční | 1 | | 2 (6n) | | 3 |
| Jílek mn. jednod. | 1 | | 4 (4n) | | 5 |
| Jílek mn. italský | 2 | | 3 (4n) | | 5 |

| | | | | | |
|----------------------|----|---|--------|--|----|
| Jílek hybridní | | | 1 (4n) | | 1 |
| Jílek mn. x k. luční | | | 1 (4n) | | 1 |
| Jílek mn. x k.rák. | 3 | | | | 3 |
| Jílek vytrvalý | | | 2 (4n) | | 16 |
| Kostrava luční | 5 | | | | 5 |
| Kostrava červená | 12 | | | | 12 |
| Lipnice luční | 10 | | | | 10 |
| Ovsík vyvýšený | 2 | | | | 2 |
| Psineček výběžkatý | 1 | | | | 1 |
| Srha říznačka | 7 | 1 | 1 (4n) | | 9 |
| Trojštět žlutavý | 3 | | | | 3 |
| Kostrava luční | 5 | | | | 5 |

Tab. 3.2.: Odrůdová skladba podle genotypové struktury odrůdy v roce 1996 (dle LPO 1996)

Výsledkem uplatnění biotechnologických postupů a genových manipulací se objevují odrůdy geneticky modifikované, tzv. **transgenní odrůdy**. Nový zákon č. 92/1996 Sb. již s touto možností počítá a definuje *geneticky modifikovanou rostlinu* jako rostlinu jejíž genetický materiál byl modifikován umělým přenosem genetické informace, s výjimkou umělého opylení, oplodnění *in vitro*, mutace nebo fúze buněk přirozeně křížitelných rostlin. Transgenních odrůd bylo ve světě vyšlechtěno již několik, v USA asi 20 a další v Číně (ONDŘEJ, 1997), jsou většinou obohaceny o geny, které podmiňují odolnost vůči specifickému herbicidu, nebo vůči škůdci, případně podmiňují syntézu specifických enzymů apod.

3.2. ODRŮDA - INTENZIFIKAČNÍ FAKTOR

Šlechtění v posledních 20-25 letech přešlo na tvorbu tzv. intenzivních odrůd u všech hlavních plodin. Svými vlastnostmi a hospodářskou hodnotou měly přispět k rychlému návratu nákladů vynaložených na jejich vyšlechtění.

Odrůda jako intenzifikační faktor může se uplatnit zejména při zefektivňování výroby zvýšenou produkcí, zlepšenou jakostí produktu, zvýšenou odolností vůči chorobám s omezeným použitím pesticidů apod. Intenzivní rostlinná výroba se bez takových odrůd neobejde. V této souvislosti nás zajímá: podíl odrůdy na produkci a kvalitě produktu, životnost odrůdy a využívání genetického potenciálu odrůd.

Podíl odrůdy na produkci a jakosti produktu má svůj vývoj v souvislosti s rozvojem úrovně šlechtění. V roce 1948 se odrůda na celkové produkci podílela jen asi 5 %, v roce 1973 už 20 % (KOVAČIK, 1975). Některé další výsledky průzkumu dokazují podíl vyšší než 30 %.

Posuzuje se i tzv. *genetický zisk*, který vyjádřený ročním přírůstkem výnosu např. u pšenice činí podle HANIŠE (1991) 0,4 až 0,7 t.ha⁻¹ zrna v průměru za období 10 let. Nové hybridní odrůdy žita zvyšují výnos o 15 - 20 %. Nové odrůdy píce se podílejí ročním přírůstkem výnosu 0,1 - 0,4 %.

Příkladem přínosu nových odrůd k zlepšení jakosti produktů jsou "0" a "00" odrůdy řepky olejné, u pšenice odrůdy vhodné pro potravinářské účely nebo jen pro krmné účely, u kukuřice jsou vyšlechtěny hybridy s vyšším obsahem lysinu, u brambor jsou odrůdy vhodné pro konzumní účely, odrůdy vhodné pro výrobu zušlechtěných výrobků, pro výrobu škrobu atp.

Životnosti odrůdy rozumíme dobu uplatnění odrůdy v praxi. Je všeobecným jevem, že doba životnosti odrůd se zkracuje, což souvisí se stupňujícími se nároky na vlastnosti odrůdy, na nutnost šlechtění odrůd odolnějších k zvyšujícímu se infekčnímu tlaku různých patogenů. Na druhé straně se u mnohých plodin doba na vyšlechtění odrůdy s požadovanými parametry prodlužuje v souvislosti s využíváním složitějších metod a postupů šlechtění. Zatímco některé staré odrůdy setrvaly v pěstování 25 - 30 i více let (kupř. ječmen Valtický, bob Chlumecký), nové odrůdy zpravidla přetrvávají kratší dobu.

V životě odrůdy se střídají 3 období:

- a) mladá odrůda - zůstává značná reziduální heteroze, odrůda se aktivně přizpůsobuje prostředí a dosahuje vysokých výnosů v odpovídajícím prostředí.
- b) střední věk odrůdy - variabilita výnosu je nejvyšší,
- c) starší odrůda - je geneticky více vyhraněná, více podléhá vlivu prostředí a výnosy mohou být variabilní.

Využívání genetického potenciálu se zpravidla posuzuje výnosovou úrovní v určitém časovém období. Porovnáním výnosu konkrétní odrůdy s průměrným výnosem souboru odrůd dané plodiny dosaženého ve Státních odrůdových zkouškách (SOZ). Vyjádření vztahu :

$$\% \text{ využití} = \frac{\text{výnos odrůdy v praxi}}{\text{výnos dosažitelný}}$$

Dosažitelným výnosem se rozumí víceletý průměrný výnos odrůd ve SOZ (= 100%) Genetický potenciál odrůd hlavních plodin se využíval v nedávné době jen z 50-60 %.

Přínos nových odrůd se zvýšenou produkční schopností ve finančním vyjádření je vysoký. Proto vynikající odrůda a osivo s požadovanou vysokou kvalitou jsou dva významné intenzifikační prvky v rostlinné výrobě.

3.3. PLASTICITA ODRŮDY

Plasticitou odrůdy se zpravidla rozumí schopnost odrůdy zabezpečovat odpovídající, nejméně kolísající výnos v proměnlivých výrobních podmínkách. Změnám podmínek se odrůda dobře přizpůsobuje, je *adaptabilní*.

Opakem je odrůda *specializovaná*, tzn. vhodná (většinou záměrně vyšlechtěná) jen pro určité pěstitelské podmínky, např. pro suché oblasti vyhovují rané odrůdy pšenice, většinou osinaté.

Plasticita odrůd je větší u plodin cizosprašných, zejména u odrůd typu populací, a je podmíněna širokým genetickým základem. U samosprašných plodin lze vyšlechtit spíše odrůdu specializovanou, větší plasticitu vykazuje odrůda víceliniová.

Vztahy odrůd k úrovni pěstitelských podmínek souvisejí s biologickým a plošným charakterem rostlinné výroby. Z uvedené charakteristiky vyplývají vztahy mezi:

| | | | | | |
|--------|-----------------------|---|---------------------------------------|---|-------------|
| | rostlinou (odrůda) | a | prostředím (pěstitelské prostředí) | = | výsledek |
| je-li: | + | | + | | nadprůměrný |

| | | | | | |
|--|---|--|---|--|-------------|
| | + | | - | | průměrný |
| | - | | + | | |
| | - | | - | | podprůměrný |

Uvedené vztahy vymezují úkoly šlechtění a pěstování rostlin.

Rentabilita šlechtění odrůd, které má dlouhodobý charakter, je podmíněna rozšířením nových, lepších odrůd na velké pěstitelské plochy v domácích podmínkách, ale také uplatněním odrůdy v zahraničním obchodě. Státní dotace na šlechtitelskou činnost se stále snižují, přitom náklady na šlechtění mají rostoucí tendenci. Současný systém ekonomického zajištění šlechtitelské činnosti klade důraz na důsledné uplatňování všech součástí *šlechtitelsko semenářské vertikály*, v níž připadá z uvedeného hlediska důležitost licenčním poplatkům za množené odrůdy.

3.4. IDEOTYP ODRŮDY A SCHÉMA VYŠLECHTĚNÍ ODRŮDY

Ideotypem odrůdy rozumíme souhrn představ o optimálním genotypu a tedy i fenotypu odrůdy. Cílem každého šlechtitelského programu je vyšlechtit odrůdu, která by odpovídala předem stanovenému ideálu, tj. modelu odrůdy skrytého v podvědomí šlechtitele. Ideotypem odrůdy je takový soubor rostlin, který by svými znaky a vlastnostmi (výnosem, jakostními ukazateli a úrovní odolnosti k nepříznivým vlivům) uspokojoval požadavky uživatelů odrůdy, tj. pěstitelů, zpracovatelů, konzumentů, krmivářů apod.

Ideotyp odrůdy lze chápat také jako projekt, který bude moci šlechtitel realizovat. Ideotyp odrůdy se realizuje během šlechtitelského procesu, který má tyto fáze:

- a) určení šlechtitelských cílů v rámci užitkového směru plodiny,
- b) vypracování metodiky šlechtění, zahrnující vhodně zvolenou metodu šlechtění, volbu vhodných genetických zdrojů a získání dostatečně geneticky širokého výchozího šlechtitelského materiálu pro následné selekční zásahy, volbu vhodného výběrového (selekčního) postupu k vyhledání jedinců a potomstev, které souborem znaků a vlastností a jejich úrovní nejlépe odpovídají stanoveným šlechtitelským cílům, včetně prověrky odlišnosti, vyrovnanosti a stálosti novošlechtění, plasticity a výnosové úrovně a její stability,
- c) technická součást metodiky vychází z kalkulace potřeby pracovní kapacity, skleníkových a laboratorních prostor a polních školek, potřeby přístrojové a strojové techniky.

4. ŠLECHTITELSKÉ CÍLE

Systém šlechtění nové odrůdy zahrnuje stanovení šlechtitelských cílů v rámci užitkového (šlechtitelského) směru šlechtěné plodiny, dále zahrnuje volbu vhodného výchozího šlechtitelského materiálu (rodičů, genových zdrojů) a volbu vhodné metody šlechtění, včetně postupu zkoušení a prověřování vybraných jedinců a potomstev, za současného rozmnožování těch nejlépe vyhovujících.

Užitkovým (šlechtitelským) směrem se rozumí zaměření šlechtění plodiny a zpravidla odpovídá jejímu využívání, např. šlechtění potravinářských a krmných odrůd pšenice, sladovnických a krmných odrůd ječmene, konzumních a průmyslových odrůd brambor apod.

Šlechtitelským cílem se rozumí bližší vymezení úkolů v rámci směru šlechtění a je obvykle vyjádřený žádanými biologickými, morfologickými, biochemickými,

fyziologickými znaky a vlastnostmi šlechtěné plodiny (ideotypem odrůdy). Při stanovování šlechtitelských cílů je nutné vycházet z dlouhodobosti a nepřetržitosti šlechtitelského procesu. Zejména dlouhodobost šlechtění vyžaduje stanovit cíle s předstihem 10 až 15, případně i více let (podle plodiny), což bývá mnohdy obtížné.

Cíl šlechtění má většinou komplexní charakter, někdy bývá více zaměřen na limitující faktor současné produktivity, např. na rezistenci, mrazuvzdornost, nepoléhavost apod. Zaměření cíle závisí na hospodářském významu a na plošném rozsahu šlechtěné plodiny, na úrovni pěstování plodiny, na požadavcích uživatelů nové odrůdy, i na materiálních a objektivních (ekonomických) možnostech.

Lze rozeznávat šlechtitelské cíle :

- a) které hospodářskou hodnotu odrůd tvoří - šlechtění na produkční schopnost a na jakost produktu,
- b) které hospodářskou hodnotu odrůdy ovlivňují (stabilizují) - šlechtění na délku vegetační doby, na odolnost vůči stresům, na vhodnost k mechanizované technologii pěstování,
- c) speciální cíle

4.1. ŠLECHTĚNÍ NA PRODUKČNÍ SCHOPNOST (VÝNOS) A JEJÍ STABILITU

Šlechtění na výnos je jedním z hlavních cílů, neboť produkční schopnost je stále měřítkem hodnoty a úrovně odrůdy. Určuje tzv. hospodářskou hodnotu odrůdy, která může být posuzována v širším smyslu výnosem zrna, čerstvé hmoty, sušiny, nebo v užším smyslu výnosem NL, tuku, cukru apod. z plošné jednotky.

Cílem záměrného šlechtění na výnos je zvětšovat a zmnožovat orgány rostlin, které jsou těžištěm výnosu a také zvyšovat jistotu (stabilitu) výnosu. Podle CHLOUPKA (1995) je šlechtění na samotný výnos šlechtěním na adaptabilitu k rozdílným podmínkám prostředí (lokalit, ročníků). Dobrá odrůda je výsledkem kombinace genů dobře kooperujících s prostředím.

Šlechtitelským trendem současného *produkčního šlechtění*, které trvá již desítky let, je šlechtění tzv. **intenzivních** odrůd se zvýšeným geneticky podmíněným výnosovým potenciálem. Tyto odrůdy prokazují ekonomické využívání aktivního slunečního záření, jsou náročnější na živiny, vodu a na podmínky pěstitelského prostředí apod. Požaduje se vyšší efektivnost dodávaných živin a dalších vkladů. Toto období vystřídalo u mnoha pěstitelsky významných plodin dřívější tzv. *ekologické šlechtění*, jehož výsledkem byly odrůdy označované jako **extenzivní**. Rozdílné charakteristiky extenzivních a intenzivních typů odrůd jsou dobře prokazatelné zejména u obilnin, některých druhů luskovin aj.

Výnosový potenciál moderních intenzivních odrůd a hybridů je vysoký a výrazně odlišný od výnosové úrovně krajových či starých extenzivních odrůd. U plodin, u kterých je výnos tvořený hlavně produkcí semen, spočívá podstata šlechtitelského pokroku v genetické změně sklizňového indexu (HI), tj. ve změně poměru mezi výnosem zrna k výnosu celkové nadzemní biomasy. U těchto plodin je podíl zlepšeného genofondu na produkční schopnosti vysoký. U plodin, u kterých je hospodářský výnos tvořen nadzemní biomasou (pícniny), je šlechtění na výnos obtížnější, neboť spočívá ve změně architektury rostlin i porostu. Podíl zlepšeného genofondu je zpravidla nižší.

V současném období je snaha opět uplatňovat ekologická hlediska ve šlechtění na výnos šlechtěním tzv. odrůd typu **low - input**, tj. odrůd výnosných při snížených ekonomických vstupech při pěstování. Tyto odrůdy jsou charakteristické vyšší geneticky podmíněnou odolností ke stresům, nevyžadují pesticidy a vysoké dávky živin, apod.

Výnos je znakem komplexním (superznak) a je konečným projevem složek morfologického, fyziologického, biochemického charakteru i jejich vzájemných vztahů, genetických funkcí jedinců v porostu a ekologického přizpůsobení porostu. Rozhodující pro utváření výnosu je intenzita fotosyntézy a akumulací kapacita rostlin. Tvorbu výnosu ovlivňuje také řada faktorů pěstitelského prostředí.

Strukturu výnosu tvoří tzv. **výnosové prvky** (složky), z nichž některé jsou rozhodující při tvorbě výnosu. Hlavními výnosovými prvky v zjednodušeném vyjádření jsou kromě počtu jedinců na ploše, např. u obilovin produktivita rostliny daná počtem klasů (lat) a v klasu (latě) počtem vyvinutých semen a HTS, např. u brambor počtem a hmotností hlíz pod trsem. Jednotlivé prvky lze sledovat i v detailnější struktuře.

Mezi výnosovými prvky jsou dynamické vztahy a harmonické závislosti při jejich utváření (tzv. *zákon kompenzace*). Vztahy se projevují jako pozitivní, ale i negativní korelace, některé prvky vykazují prahové hodnoty. Při šlechtění na zvýšený výnos je úkolem nalézt optimální geneticky podmíněné poměry mezi prvky, které pak tvoří genetický základ požadované výnosové úrovně.

Zmíněná složitost struktury výnosu a současně nejjednodušší genetická determinace, vede k složitosti a obtížnosti šlechtění na produkční schopnost.

Dědičnost výnosu jako komplexního znaku je velmi složitá, s charakteristikou

kvantitativních znaků. Uplatňují se všechny formy vlivu polygenního systému genetického základu, většinou s nízkou heritabilitou a vysokým vlivem podmínek prostředí. Byly zjištěny i major geny, které mohou výnos podstatně ovlivnit pokud mění zásadně habitus rostliny, nebo ovlivňují důležité diferenciační či fyziologické procesy. Dědičnost jednotlivých výnosových prvků bývá méně složitá, genetická podmíněnost je jednodušší.

Hlavní **metody šlechtění** na výnos jsou křížení s následným výběrem na transgresní projev, dále pak heterozní a polyploidní šlechtění. Při křížení je často jedním z rodičů stávající odrůda, která má být nahrazena (překonána), nebo jedním z rodičů je odrůda výnosově vynikající v oblasti pěstování a druhým bude odrůda se znakem, o který se má zlepšit. Nezřídka je nutné využít třetího i čtvrtého rodiče.

Výnos je důležitým **selekčním** (výběrovým) **kriteriem**, na který se selektuje buď přímo, či nepřímo šlechtěním na rezistenci k chorobám a stresům. Při přímé selekci, která je obtížnější a nákladnější pro komplexní charakter a složitou dědičnost, se výnos posuzuje na úrovni: jedince (podle struktury výnosových prvků), potomstva (výnos z malé plochy, nebo z více jedinců), potomstev v přesných pokusech s opakováním ve výnosových zkouškách a ve zkouškách výkonu (ZV), např. ve staničních předzkouškách, firemních zkouškách a ve státních odrůdových zkouškách (SOZ).

Požadavkem je, aby úroveň selekčního kritéria byla hodnocena objektivně, statisticky s vyloučením náhodnosti. To je možné zpravidla v pozdějších fázích šlechtění. U raných generací na začátku šlechtění, kdy šlechtitel má k dispozici zpravidla málo rostlin a hodně genotypů, se využívá i subjektivního hodnocení, což do jisté míry usnadňuje a urychluje selekci. Hodnocené rostliny, potomstva a získané osivo (sadbou) je nutné pečlivě evidovat, ukládat do databáze, případně vyhodnocovat získaná data počítačovým programem.

Stabilita výnosu se projevuje malou variabilitou výnosu v odlišných podmínkách a souvisí s plasticitou a adaptabilitou šlechtěného genotypu (odrůdy). Všeobecně platí, že cizosprašné plodiny vykazují větší plasticitu, zatímco odrůdy samosprašných plodin jsou zpravidla málo plastické (zejména liniové odrůdy). Stabilita odrůdy se projevuje víceletým zkoušením ve více lokalitách. Nejlepší podklady pro vyhodnocení stability poskytují výsledky SOZ a zpravidla se vyjadřuje hodnotou regresního koeficientu (b).

4.2. ŠLECHTĚNÍ NA KVALITU (JAKOST) HLAVNÍHO PRODUKTU

Šlechtění na kvalitu hlavního produktu pěstovaných plodin je velmi významný šlechtitelský cíl. Kvalita sklizené produkce stále nabývá na významu, zejména při nasyceném potravinovém trhu.

Naplnění pojmu kvalita (jakost) je závislé na :

- potřebách uživatelů plodiny (odrůdy), na zvyklostech a sklonech (národní mentalitě),
- na zaměření a možnostech šlechtění i na úrovni vědeckého poznání.

Samotný pojem může mít i subjektivní charakter a je obtížná jeho jednoznačná charakteristika.

Podle SCHMALZE (1964) má pojem kvalita komplexní charakter, ale i jednotlivé dílčí součásti. Při dělení uplatňuje 3 hlediska:

a) vnější hledisko - kdy ukazatele jakosti lze posoudit hmatem, zrakem, čichem a vytvářejí dojem o vzhledu produktu,

b) užitkové hledisko - je dáno jednak vnitřními hodnotami a lze je posoudit smysly (chuť, čich) a nebo na základě chemických či biochemických analýz. Užitkové hledisko lze posuzovat i podle vnějšího projevu, např. podle skladovatelnosti, zpracovatelnosti, technologické hodnoty, výtěžnosti tržního zboží apod.,

c) biologické hledisko - podle doby využívání, nezávadnosti aj.

Pojem kvality lze v zásadě chápat z pohledu ukazatelů:

- v n ě j š í c h : např. barva, tvar, velikost , pevnost pletiv,

- v n i t ř n í c h : které souvisejí s chemickou skladbou a sensorickou stránkou. Posuzuje se podle obsahu žádoucích látek, např. podle obsahu a složení bílkovin, obsahu a složení tuků a olejů, obsahu cukru, obsahu a technologické hodnoty škrobu, obsahu vlákniny aj.

Posuzuje se i přítomnost a obsah látek nežádoucích či škodlivých (antinutričních).

Dědičnost kvality jako komplexního znaku je rovněž složitá, geneticky polyfaktoriálně podmíněna, často s nízkou dědivostí. Genetické založení dílčích složek kvality je často jednodušší a některé vykazují i vysokou heritabilitu, či jednoduchou genetickou determinaci. Časté jsou i negativní vzájemné korelační vztahy jakostních ukazatelů, známá je negativní korelace s výnosem.

Nejčastěji využívané **metody šlechtění** jsou kombinační i zpětné křížení, liniové šlechtění (kukuřice), indukovaná mutagenese, případně polyploidie.

K posouzení úrovně ukazatelů kvality hlavního produktu jako **selekčního kritéria** se využívá subjektivního posuzování (př. degustační zkoušky) a vhodných postupů objektivního způsobu posuzování (chemické analýzy, krmné testy, mikroskladovny apod.), které zpravidla vyžadují potřebné vybavení a zařízení. K posuzování se využívá i nepřímých metod na základě známých korelací (př. sklovitost zrna, vlastnosti lepku aj.)

4.3. ŠLECHTĚNÍ NA DÉLKU VEGETAČNÍ DOBY

Dosažený stupeň vývoje s ohledem na délku vegetační doby lze hodnotit z hlediska:

a) hospodářského - posuzuje se doba dosažení tzv. *konzumní zralosti*, posuzuje se rychlost tvorby orgánů (i množství), které tvoří výnos,

b) biologického - posuzuje se doba dosažení tzv. *biologické zralosti* semen, hlíz apod.

Potřebná doba k dosažení uvedených zralostí se vyjadřuje počtem dnů, zpravidla od vzejití do dosažení příslušné zralosti (sklizně).

Ve šlechtění na délku vegetační doby jsou zpravidla 2 cesty:

a) šlechtěním na **ranost**, tj. na zkrácenou vegetační dobu. Šlechtění je většinou účelové , neboť je žádoucí rychlé dosažení konzumní zralosti (např. u zeleniny, brambor, ovoce aj.), tedy mít genotypy s krátkou dobou potřebnou k získání tržního zboží při ekonomické výtěžnosti nejlepší třídy. U některých druhů píce se požaduje raná sklizeň píce. Rané odrůdy jsou požadované u plodin pěstovaných v podhorských polohách a v suchých a teplých oblastech. Ranost odrůdy může tvořit podstatu nepřímé odolnosti proti chorobám a škůdcům.

Ranost je zpravidla v negativní korelaci s výnosem, mnohdy i s kvalitou.

b) šlechtěním na **odstupňovanou** délku vegetační doby. U některých plodin se využívá více stupňů délky vegetační doby (brambory, kukuřice, pšenice, zelenina apod.). Odrůdy s odstupňovanou vegetační dobou umožňují postupnou sklizeň, odstranění sklizňových špiček, plynulost zásobování čerstvým zbožím apod.

Dědičnost délky vegetační doby není většinou jednoduchá. Délka vegetační doby je vlastnost dědičná, což dokazuje sortiment odrůd plodiny s různou délkou vegetační doby, ale je silně ovlivňována (modifikována) podmínkami prostředí, např. teplotou, světlem, vlhkostí, výživou, agrotechnikou aj. Jestliže rostliny nacházejí v prostředí požadované faktory růstu a vývoje v optimálním stavu, rostou a vyvíjejí se tempem odpovídajícím dědičné vlastnosti. Délka vegetační doby je znakem komplexním, polygenně determinovaným. U některých plodin je F_1 intermediární, nebo se blíží jednomu z rodičů.

Při šlechtění na délku vegetační doby je nutno brát v úvahu i reakci plodiny na délku světelného dne (fotoperiodickou reakci) a také na teplotní nároky při klíčení, resp. vzcházení a počátečním růstu. Podstata šlechtění na rannost spočívá ve zkrácení fenofázi a je důležité urychlit nástup té fáze, při které se začnou tvořit výnosotvorné orgány.

Nejčastěji využívanou **metodou šlechtění** je křížení. Využívá se ekologicky diferencovaných odrůd a forem. Jisté úspěchy byly dosaženy i mutagenézí.

Metody hodnocení délky vegetační doby jsou: biologická zralost se vyjadřuje počtem dnů od zasetí (vzcházení) do sklizně. Hospodářská zralost se hodnotí zpravidla metodou postupných sklizní. BOHÁČ (1967) navrhl metodu koeficientu hospodářské rannosti $K_{HS} = TU^2 / \sum(tu)$ pro postupné sklizně, $K_{HS} = TU / t$ pro jednorázovou sklizeň.

T = stanovený hraniční termín rannosti odrůd vyjádřený ve dnech od setí (sázení),

U = celkový výnos odrůdy dosažený do hraničního termínu (T),

u = výnos dílčí sklizně,

t = doba sklizně vyjádřená počtem dní od setí (sázení).

4.4. ŠLECHTĚNÍ NA ODOLNOST VŮČI NEPŘÍZIVÝM VLIVŮM (STRESŮM)

Stres je podle BARTOŠE (1987) tíšňový fyziologický stav organismu v němž se mobilizují ochranné adaptivní a nápravné reakce. Jedná se o výrazný vliv rušivých faktorů, čímž dochází k silným odchylkám od normálu.

Projev stresu je různý u genotypů, ve fázích ontogeneze a v různých podmínkách.

Nepříznivé, stresové vlivy lze dělit na:

a) **abiotické** - půdní a klimatické podmínky (nízké teploty, mrazy, sníh, horko, sucho, vítr, nedostatky ve výživě, extrémní pH půdy, nedostatečné osvětlení apod.).

b) **biotické** - choroby a škůdci, plevele.

Podle ŠVACHULY (1991) významným úkolem šlechtitelů by měla být snaha překonat neschopnost rostlinného organismu odolávat vlivu škodlivého činitele. Šlechtitelský program by měl zahrnovat posilování snášenlivosti (tolerance) či vyvolání odolnosti.

4.4.1. Šlechtění na odolnost vůči chladu, mrazu a zimě

Šlechtění je v našich podmínkách ekonomicky opodstatněné u teplomilných plodin na chladuvzdornost a u přezimujících plodin na mrazuvzdornost a zimuvzdornost.

Chladuvzdornost rozumíme odolností k nízkým (+) teplotám a je na místě ve šlechtění kukuřice, soje, slunečnice a papriky, případně fazolu. Nízké teploty působí škodlivě hlavně při klíčení a vzcházení, ale i během vegetace. Stupeň odolnosti limituje rozšíření uvedených druhů do vyšších poloh a do severních zeměpisných šířek.

Při selekci odolných typů se aplikují chladové testy (cold test) v laboratorních podmínkách a polní testy velmi časnými a postupnými výsevy.

Mrazuvzdorností se rozumí odolnost vůči teplotám pod 0°C, tedy vůči jarním i podzimním mrazíkům a zimním mrazům a holomrazům. Odolnost limituje přežití rostlin, tedy jejich přezimování.

Odolnost rostlin k mrazům není stálá, má indukční charakter a souvisí s procesem otužování, které probíhá v podzimních teplotních a světelných podmínkách (obr. 4.1.). Mrazuvzdornost odrůdy vzniká interakcí genotypu a vhodných indukčních faktorů. Je to proces aktivní ovlivňovaný vnějšími činiteli, základem ovšem zůstává geneticky založená schopnost odrůdy otužit se tak, aby působení mrazu přežila (PRÁŠIL, 1983). Souvisí s hromaděním zásobních látek v nadzemních a podzemních orgánech, s reakcí na délku dne a souvisí s průběhem fotosyntézy v podmínkách podzimu. Stupeň odolnosti závisí na genotypu, jednotlivé genotypy reagují rozdílně. Závisí také na rostlinné části, kterou rostlina přezimuje (odnožovací uzel u obilnin a trav, kořenový krček u jetelovin, řepky) a na její lokalizaci v půdě. Stupeň odolnosti souvisí také s dobou a s průběhem zimy. V teplém období zimy (oblevy) a ke konci zimy se odolnost snižuje. Důležitá je stabilita odolnosti odrůdy, tj. schopnosti neztratit dosaženou úroveň, popř. ji rychle obnovit (SEGEŤA, 1970).

Stupeň mrazuvzdornosti se zjišťuje přímo v mrazicích boxech (komorách) při tzv. LT_{50} teplotě (přežívá 50 % testovaných rostlin), nebo formou polně laboratorních testů v přírodních podmínkách (bedničková metoda).

Obr. 4.1.: Průběh kritické teploty (LT_{50}) během zimy u rostlin ozimé pšenice a některé faktory, které ovlivňují její úroveň (podle Gusta a Flowlera, cit. PRÁŠIL, 1983)

Zimovzdorností (odolností k vyzimování) se rozumí odolnost k souboru faktorů zimy (mrazy, ledová vrstva, sníh, vrstva a doba ležení sněhu, střídání teplot, střídavé zamrzání a rozmrzání povrchu půdy aj.). Stupeň odolnosti ovlivňují genotyp, povětrnostní podmínky, půda, agrotechnika.

Zimovzdornost je ovlivňována i fyziologickými aspekty, jako délkou a charakterem

tepelného období, fotoperiodickou reakcí a citlivostí, schopností hromadění sušiny v buňkách, vlastnostmi bílkovinných součástí protoplazmy. Z morfologických znaků je to hloubka odnožovacího uzlu, mohutnost a způsob utváření kořenového systému a charakter trsu (uspořádání listů) na podzim.

Zkoušení je možné v polních podmínkách sledováním stupně odolnosti objektivně počítáním jedinců, nebo subjektivně bodovým hodnocením při daném průběhu zimy v lokalitě. Lze záměrně využít i lokality s drsnějším průběhem zimy. Na stupeň odolnosti se usuzuje i nepřímo podle habitu rostlin (charakter trsu), obsahu cukru a vody v buňkách apod.

Genetika chladuvzdornosti, mrazuvzdornosti a zimovzdornosti je složitá, polygenního charakteru. Souvisí s dědičností dílčích složek komplexu odolnosti.

Metody šlechtění jsou nejčastěji kombinační křížení s využitím donorů genů odolnosti z krajových odrůd nebo odrůd z příslušných oblastí. V některých případech se využívá i vzdáleného křížení a polyploidie.

4.4.2. Šlechtění na odolnost vůči suchu (suchovzdornost)

Suchovzdornost je vlastnost umožňující rostlinám snášet období sucha (vodního deficitu v půdě) nebo období vysokých teplot a s tím spojeného vzdušného sucha, bez výrazného zhoršení vývinu a snížení produkce. Suchovzdornost je významná vlastnost pro odrůdy určené do suchých lokalit (jižní Morava).

Odolnost suchu je složitá vlastnost, neboť závisí na řadě okolností a faktorů: na množství a mohutnosti kořenové soustavy, na poměru nadzemní a podzemní hmoty, na morfologických a anatomických zvláštěnostech lodyh a listů, které mohou ovlivnit vodní hospodářství rostlin, na regenerační schopnosti a rychlosti vývinu aj.

Genetika suchovzdornosti je složitá vzhledem k mnoha faktorům, které ji podmiňují nebo ovlivňují. U mnohých druhů není ani prostudovaná.

Metody šlechtění jsou nejčastěji kombinační křížení při využití krajových odrůd jako jednoho z rodičů, nebo odrůd ze suchých oblastí, případně lišící se raností. Význam má i volba xerofytnějších typů s užšími a kratšími listy, silnější kutikulou, s mohutnější kořenovou soustavou apod.

Testování suchovzdornosti je metodicky dost obtížné. Volí se spíše laboratorní metody porovnáním tvorby hmoty (sušiny) v podmínkách sucha a v podmínkách závlahy, v klimakomorách, nebo se používají i nepřímé metody. V polních podmínkách se porovnává produkce dosahovaná u novošlechtění nebo odrůd v suchých oblastech (ročnících) a v oblastech s normálním průběhem roku.

4.4.3. Šlechtění na odolnost vůči biotickým vlivům (chorobám a škůdcům)

4.4.3.1. Šlechtění na odolnost k chorobám

Nutnost rezistentního šlechtění souvisí se snahou zabránit nebo snížit poškození rostlin rozvojem choroby či škůdce. Napadené rostliny vykazují snížený výnos, zhoršenou jakost hlavního produktu, sníženou vitalitu a mnohdy hynou. Rezistentní odrůdy vylučují nutnost používání chemických prostředků a tím přispívají k ochraně prostředí a ke sníženému narušování biologické rovnováhy (ničením i užitečné fauny), dále snižují

náklady na pěstování plodin za drahé chemické prostředky.

Rezistentní šlechtění rostlin se začalo více rozvíjet před 25-30 lety a v současné době je prvořadým úkolem téměř u všech šlechtěných plodin. Šlechtěním často nelze zcela odstranit poškození a často jde jen o snahu o omezené poškození chorobou (škůdce) na únosnou míru. Předpokladem úspěchu je spojení rezistence s ostatními znaky na žádoucí úrovni.

Podle *Stackmanna* (objevitele ras u mnohých chorob) „šlechtění na rezistenci je nikdy nekončícím bojem s přírodou“. Příroda vytváří stále nové rasy a šlechtitel nové odolné odrůdy. Choroba i škůdce jsou živé organizmy se stejnou tendencí v proměnlivosti jako rostliny.

Historie šlechtění na odolnost rostlin k chorobám

Rezistentní šlechtění začalo v první polovině 19. stol. Přispěla k tomu jednak epidemie plísňě bramborové v Irsku a rozšíření révokazu u vinné révy ve Francii a tím vyvolaná nutnost hledat odolnější formy (réva na americké podnoží byla odolnější). Rozvoji šlechtění na odolnost přispěly znalosti a teoretické základy související s rozvojem mykologie (zač. 19. stol.) a používáním umělé infekce. Velký význam pro rozvoj šlechtění mělo studium genetického založení odolnosti, které má také svůj vývoj. Šlo o poznávání genetických vztahů parazita (patogena, choroby nebo škůdce) a hostitele.

První genetické studie odolnosti ke rzi plevové zahájil *Biffen* a zjistil monofaktoriální založení (štěpení 3:1). *N. I. Vavilov* na svých expedicích získal sbírku genetických zdrojů odolnosti v planých formách, *Arton* v USA použil výběr na rezistenci proti vadnutí u melounu, využíval provokační prostředí ve šlechtění u hrachu. V roce 1914 *Stackmann* objevil rasové spektrum rzi u pšenice.

50. léta tohoto století znamenala spojení genetiky rezistence a virulence. V roce 1956 *Flor* přispěl k rozvoji teoretických základů rezistentního šlechtění teorií *gen proti genu*, která vycházela ze studií vztahů hostitel - patogen. Tím byl položen základ pro šlechtění na odolnost křížením, tj. kombinacemi genů odolnosti.

60. léta jsou ve znamení rozvoje teoretických základů. *Vanderplank* zavedl v roce 1963 pojmy vertikální a horizontální rezistence a vertikální a horizontální patogenita.

70. léta znamenala rozvoj studia genových interakcí, využívání mutací, aneuploidních linií apod. ve šlechtění na odolnost u mnohých druhů.

80. léta se vyznačují uplatňováním vedle klasických metod a postupů i orientaci na aplikace metod molekulární genetiky v rezistentním šlechtění (*LEBEDA, BARTOŠ, JENDRULEK, 1988*).

Charakteristika základních pojmů a kategorií

Odolnost - je dědičně založená schopnost hostitelské rostliny (populace, odrůdy) odolávat napadení patogenu, nebo zpomalovat jeho rozvoj.

Projev ochorení závisí na :

- interakci genetického systému hostitele a patogena,
- podmínkách vnějšího prostředí (modifikující účinky mají teplota, vlhkost, výživa).

Ochorení se posuzuje podle vnějšího stavu rostliny, podle symptomů choroby.

Náchylnost - je opakem odolnosti.

Ze specifčnosti vztahů mezi hostitelem a patogenem byly vyvozeny základní termíny a klasifikace. Specifčností vztahů rozumíme skutečnost, že každý patogen má omezený okruh hostitelů (rodů, druhů, odrůd), který může napadat. U mnohých patogenů je známá specializace ve formě ras (kmenů) se specifickou schopností napadat jen některé odrůdy a neschopností napadat jiné.

Klasifikace dle *Vanderplanka* : (původně odvozena hlavně pro houbové choroby):

- *vertikální rezistence* : je rasově specifická, geneticky oligogenně založena, často se projevuje přecitlivělostí (hypersensitivitou) i imunitou, je méně vytrvalá a snadno je překonána jinou rasou. Šlechtění na odolnost uvedeného typu je relativně snazší, neboť vychází z hypotézy gen odolnosti proti genu patogenity.

Vztah hostitel-patogen je většinou kvalitativní (buď je nebo není napaden) a je snadno stanovitelný. Může být i kvantitativní, měřený počtem lézí, velikostí a intenzitou sporulace, počtem ochořených jedinců aj.

- *horizontální rezistence* : je rasově nespecifická, je polygenně založená a silně ovlivněna podmínkami prostředí. Projevuje se sníženým rozsahem napadení, zpomaleným průběhem infekce (epidemie) a redukcí množství patogena. Je trvalejší, dlouhodobější, avšak šlechtění je dost obtížné a náročné. Projev rezistence má spíše kvantitativní charakter (viz obr. 4.2.).

Praktický význam vertikální a horizontální rezistence vynikne především u samosprašných plodin, u nichž lze uplatnit liniové šlechtění a liniové odrůdy, které zajišťují vnitroodrůdovou divergenci (přítomnost více rozdílných genů či alel odolnosti).

Obr. 4.2.: Schéma účinku vertikální a horizontální rezistence na rozvoj patogena

Další kategorie rezistence:

- *zdánlivá* (nepravá, pseudorezistence) je podmíněna např. raností odrůdy na základě časové disharmonie vývinu rostlin s vývojem patogena, nebo morfologickými či fyziologickými zvláštnostmi (kleistogamické kvetení, voskový povlak, síla kutikula). Přitom rostlina není odolná, ale nedojde k napadení, nebo dojde k časovému utlumení choroby.

- *modifikační* je vyvolána vnějšími podmínkami. Pro šlechtění je nevýznamná.
- *indukovaná rezistence* vyvolaná slabou primární infekcí.
- *polní rezistence* se vztahuje k interakci hostitele a patogena v průběhu celé vegetace v daném agroekosystému.

- *tolerance* je schopnost rostlin (odrůdy) snášet napadení patogenem, aniž by došlo k výraznému snížení výnosu nebo zhoršení jakosti. Rostlina (porost) přitom vykazuje jisté symptomy napadení patogenem. Tolerance se ve šlechtění využívá, i když se obtížně spojuje s vysokou výnosností.

V rezistentním šlechtění vůči virovým chorobám (u brambor) se používá poněkud jiná klasifikace:

- *relativní rezistence* (polní rezistence) se projevuje nízkou vnímavostí k virům, v tlumení rozvoje viru. Geneticky je složitě založena.
- *extrémní rezistence* (imunita).
- *přecitlivělostní rezistence* (hypersensitivní) vede k nekrozám napadeného pletiva.
- *extrémní intolerance* se projevuje nevyklíčením oček.

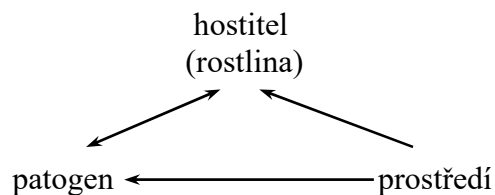
Proces rezistentního šlechtění

Značné škody na rostlinách způsobují parazitující viry, bakterie a houby. Ochranné chemické prostředky jsou značně nákladné a někdy málo nebo vůbec neúčinné. Šlechtění na odolnost také není lacinou záležitostí a v každém případě prodlužuje dobu šlechtění.

Šlechtění na odolnost k chorobám je často ztěžováno nedostupností (neexistencí) genetických zdrojů, krátkou trvanlivostí či nízkou úrovní rezistence.

Proces rezistentního šlechtění je složitý, neboť musí respektovat:

a) vzájemné vztahy složek:



b) charakter dědičné proměnlivosti a vývoje hostitele i patogena a specifické vlivy prostředí.

Vzájemné vztahy mezi hostitelskou rostlinou a patogenem vykazují značnou šíři, od symbiozy k zničení. Podmínky prostředí mění stupeň náchylnosti (odolnosti) k patogenu a ta se mění i během ontogeneze hostitele.

Proměnlivost biotických složek spočívá v existenci druhů, variet, ras, kmenů, biotypů, také ve vzniku mnoha mutací, fyziologicky specializovaných ras apod., s různou agresivitou a virulencí.

Předpoklady efektivního rezistentního šlechtění:

- 1) znalost biologie a bionomie patogena, včetně rasového spektra a možnosti zjištění rasové příslušnosti (např. pomocí testovacího sortimentu),
- 2) znalost mechanismu rezistence, včetně typu odolnosti a genetického založení rezistence,
- 3) projev odolnosti (tolerance) či náchylnosti,
- 4) existence genetických zdrojů rezistence a možnost jejich využívání,
- 5) znalost techniky inokulací, umělých infekcí, v polních i skleníkových podmínkách, znalost optimálních podmínek pro rozvoj choroby (škůdce) i způsobů hodnocení stupně odolnosti (náchylnosti).

Genetika rezistence

Znalost charakteru dědičnosti rezistence má pro úspěšné šlechtění zásadní význam. Na dědičnosti rezistence se uplatňuje:

- mimojaderný systém dědičnosti
- jaderný systém dědičnosti

Mimojaderný systém (cytoplasmatická dědičnost) se projevuje rozdíly ve štěpných poměrech v generacích po reciprokém křížení. Příkladem tohoto typu dědičnosti je náchylnost k *Helminthosporium maydis* u kukuřice ve vazbě na cytoplasmatický typ pylové sterility (CMS) texasského typu.

V **jaderném systému** může být dědičnost rezistence založena:

a) *oligogenně* (jedním nebo několika major geny) s dominantním, recesivním a neúplně dominantním projevem s malou závislostí na prostředí. Příkladem může být vertikální rezistence, projev přecitlivělosti aj. Oligogenní způsob založení rezistence přesně odpovídá hypotéze gen proti genu. Geny se mohou projevovat i v interakcích (komplementárně), s pleiotropním účinkem a mohou se uplatnit i geny inhibitory a modifikátory.

Oligogenně založená rezistence se ve štěpících generacích chová podle platných zákonů dědičnosti, a to v závislosti na počtu genů a jejich projevu.

V genetické analýze se používá:

- přímá metoda, tj. křížením odolné odrůdy s náchylnou odrůdou a vyhodnocením štěpících generací,

- nepřímá metoda podle reakce testované odrůdy k několika rasám patogena a porovnáním s reakcí odrůd o známém genetickém založení. K tomuto účelu se používá tzv. mezinárodně uznávaný testovací sortiment. K ověření identity genů se používá vyhodnocený výsledek uměle infikovaných rostlin generace F₂ z křížení odrůda x linie se známým genem.

K lokalizaci genů na chromozomech se např. u pšenice s úspěchem využívá aneuploidní analýzy (využitím monosomiků, nulizomiků, příp. substitučních linií), nebo klasického postupu mapování genů analýzou genové vazby.

b) *polygenně* s účinkem mnoha minor genů, s intermediárním projevem dědičnosti v generaci po křížení. Uplatňuje se silný vliv podmínek prostředí. Systém umožňuje také projev transgrese i kombinaci s major geny.

Projev rezistence má kvantitativní charakter, např. delší dobu inkubace, méně sporulujících ložisek, nižší sporulace apod. Uplatňuje se při horizontální rezistenci.

V systému genetické proměnlivosti rezistence hostitele (rostliny) se kromě kombinací a rekombinací genů uplatňuje i mutabilita genů. Stejně je tomu i v genetické proměnlivosti patogenů, kde navíc kupř. u mikroorganismů se uplatňují ještě další mechanismy proměnlivosti.

Jako **genetické zdroje rezistence** jsou využívány:

- plané druhy,
- přirozený genofond kulturních rostlin,
- staré i nové odrůdy domácího a zahraničního původu,
- linie, indukované mutace a šlechtitelské polotovary.

Metody a postupy šlechtění

Metody šlechtění na odolnost jsou odlišné podle skupin chorob:

a) vůči virovým chorobám

Šlechtění na odolnost k virovým chorobám je velmi obtížné a náročné. Složitost šlechtění souvisí s možností latentního výskytu, maskování i se zvláštnostmi způsobu přenosu virů. U mnohých virů není dosud známá genetická podstata odolnosti, nebo jsou k dispozici jen dílčí poznatky. Často nejsou známe genetické zdroje odolnosti.

Ve šlechtění se využívá kategorií rezistence vhodných pro příslušnou virovou chorobu (relativní rezistence, imunita, intolerance, extrémní rezistence apod.)

Z **metod šlechtění** se uplatňuje hlavně křížení (důležitá je volba vhodných rodičů), indukované mutace a v poslední době i metody genového inženýrství.

V široké míře se využívají i nepřímé metody, které eliminují zdroje nákazy a brání rozšiřování virových chorob (negativní selekce napadených rostlin, různé diagnostické metody včetně imunoenzymatického postupu ELISA), produkce viruprostého rozmnožovacího materiálu (meristemové kultury)

b) vůči bakteriozám

Šlechtění na odolnost vůči bakteriozám je rovněž obtížné. V mnohých případech nejsou vůbec propracované vhodné postupy. Používá se křížení při výběru odolných (nebo více méně odolných) rodičů. Nejčastěji se volí postup vyloučení jedinců či celých potomstev s příznaky onemocnění z dalších procesů šlechtění.

c) vůči houbovým chorobám

Šlechtění na odolnost vůči houbovým chorobám je relativně nejlépe propracováno, ikdyž na odlišné úrovni u rostlin samosprašných a cizosprašných. V mnoha případech je známá a propracována i genetická stránka odolnosti (u pšenice ke rzím, k padlí apod.).

Ze **šlechtitelských metod** se nejvíce uplatňuje křížení, liniové šlechtění, v některých případech jsou využitelné i indukované mutace (př. translokace chromozomů 1B/1R u pšenice), a to v závislosti na genetickém založení odolnosti (oligogenní, polygenní). U mnoha samosprašných plodin (hlavně obilnin) se využívá i vertikální rezistence.

Ve šlechtění samosprašných plodin (zejména obilnin) se ve šlechtitelské strategii uplatňuje šlechtění liniových odrůd, multigenních odrůd a víceliniových odrůd.

Metody hodnocení úrovně odolnosti k chorobám

Cílem je zjistit reakci a chování rostliny (potomstva, linie, odrůdy) na přítomnost patogena a podle výsledku vyhodnotit úroveň odolnosti (náchylnosti). Využívá se jednak *infekce přirozené*, častěji však *umělé* (zesílený infekční tlak), ať v polních (infekční školky), nebo skleníkových či v laboratorních podmínkách.

Za infekční zdroje slouží namnožené zárodky patogena, chorobné rostliny, infikovaná zemina apod. Infekce se aplikuje postřikem, poprachem, injekčně, vtíráním do listů, infikovanou půdou apod.

K hodnocení odolnosti se používá bonitační stupnice 1 - 9 bodů (1 - náchylná, 9 - odolná), nebo se vyjadřuje % napadené plochy, počtem (%) napadených či odolných jedinců.

4.4.3.2. Šlechtění na odolnost vůči škůdcům

Škůdci mohou způsobovat na rostlinách značné škody. Šlechtění na odolnost je velmi náročné a často bezúspěšné.

Reakce rostlin na poškození závisí na:

- době a stupni poškození,

- životaschopnosti rostlin,
- podmínkách pro růst a vývoj.

Rezistence je podmíněna souborem dědičných vlastností a znaků rostlin (odrůdy), které vedou k nižšímu stupni napadení škůdcem v porovnání s neodolnou rostlinou (odrůdou). Rostliny reagují např. tvorbou kalusů, závalů či regenerují.

Faktory podmiňující rezistenci se řadí do 3 základních mechanismů (HAVLÍČKOVÁ, 1992):

- *nonpreference* (také antixenoza), což je opomíjení rostlin škůdcem (je odpuzován),
- *antibioza*, což je negativní působení hostitele na růst a vývoj škůdce,
- *tolerance*, což je schopnost rostlin kompenzovat ztráty vyvolané škůdcem.

Odolnost se většinou projevuje sníženou početností populace škůdce.

Za mechanismy odolnosti ve šlechtění se většinou využívá hlavně tzv. *pasivní odolnosti*, která je založena na anatomických a morfologických, případně na biochemických a fyziologických zvláštostech

Genetická rezistence je skoro vždy vázána na fyziologické a morfologické zvláštosti (HAVLÍČKOVÁ, 1987). Za příklad znalosti genetiky odolnosti je tetrasomicky založená dominantní odolnost (genem D₁) brambor vůči hád'átku bramborovému.

V některých případech se projevuje vertikální typ odolnosti s geny dominantními i recesivními proti fyziologickým specializacím uvnitř druhu škůdce. Je i horizontální typ rezistence.

Obtížnost šlechtění na odolnost je způsobena:

- neznámou genetickou podstatou odolnosti, nebo její složitostí,
- chybějícími genetickými zdroji odolnosti,
- nepropracovanými postupy a metodami testování odolnosti,
- převládajícím empirickým přístupem,
- omezenými možnostmi v rozšíření genetického základu rezistence.

4.5. ŠLECHTĚNÍ NA VHODNOST K MECHANIZOVANÉ TECHNOLOGII PĚSTOVÁNÍ

Jedná se o šlechtitelské řešení požadavků vycházející z využíváním mechanizace při zakládání porostů (jednosemennost řepy, drobnosemennost luskovin apod.), při ošetřování porostů během vegetace (uspořádání listové růžice u řepy, typ trsu brambor) a hlavně při sklizni a posklizňové úpravě. Radíme sem několik dílčích šlechtitelských cílů.

4.5.1. Šlechtění na nepoléhavost

Týká se plodin stébelných (obilnin) a plodin s vysokou lodyhou (olejniny, bob, len). Odolnost k poléhání je vlastnost složitá a pro jednotlivé druhy specifická (př. hrách), neboť je závislá vždy na několika geneticky podmíněných znacích a na vnějších podmínkách. Ztráty na výnosu a kvalitě produktu mohou v důsledku polehnutí být vysoké, a to v závislosti na druhu plodiny a době polehnutí.

Stupeň odolnosti k poléhání ovlivňují nebo podmiňují:

- z vnějších vlivů : půda, podnebí, počasí, hustota a stav porostu, výživa porostu, choroby,
- z vnitřních vlivů : anatomická a morfologická stavba stébla či lodyhy, výška rostliny, elasticnost lodyhy a stonku, mohutnost kořenové soustavy, odolnost k chorobám aj.

Genetika odolnosti je složitá a ne příliš objasněná. Jsou známy jen dílčí poznatky, např. délku stébla u pšenice podmiňují major geny *Rht* s komplementárním účinkem, u žita jsou známy geny recesivního (*ct*) a také dominantního (*HI*) účinku ovlivňující délku stébla.

Nejvíce používanou **metodou šlechtění** je křížení, případně indukovaná mutageneze.

K **testování a zkoušení** odolnosti se používá přehnojení N nebo vydatná závlaha. Účinné je hodnocení stavu porostu po silném dešti (bouřce) ve šlechtitelských školkách. Je známa i řada laboratorních metod nepřímého hodnocení odolnosti. Na stupeň odolnosti k poléhání se usuzuje podle počtu a délky meziuzlí (kolének) na stéble, případně podle hmotnosti určitého počtu stébel nebo lodyh.

4.5.2. Šlechtění na odolnost k výdrolu a vypadávání semen

Jedná se o odolnost k výdrolu zrn z klasu (lat) u obilnin, odolnost k lámání klasového vřetene u ječmene, k vypadávání zrn z lusků, šesulí, k vypadávání semen máku z tobolky, ulamování palic u kukuřice a pod.. Stupeň odolnosti ovlivňují geneticky podmíněné anatomicko - morfologické znaky obalů zrn obilnin lusků, šesulí (stupeň uzávěru pluch a chlopní), tvar zrna a semen a pevnost jeho úchyty, typ tobolky máku apod. Z vnějších vlivů odolnost modifikují povětrnostní podmínky.

Genetika odolnosti není zcela a mnohdy objasněná, zpravidla se jedná o složitou dědičnou vlastnost.

Nejčastěji používanou **metodou šlechtění** je křížení se selekcí odolných (odolnějších) jedinců a potomstev, případně indukovaná mutageneze.

Metody a způsoby **hodnocení** simulují příčiny vedoucí k výdrolu: porovnání výnosových ztrát u přezrálých porostů, mechanické nárazy a také subjektivní posouzení pevnosti uzávěru pluch, pukavosti lusků a šesulí, tobolek a pod.

4.5.3. Šlechtění na odolnost proti porůstání zrn (porůstavosti)

Porůstavost rozumíme klíčení zrna v klasech (latě), v luskách. Při porůstání dochází k chemickým změnám škrobové a bílkovinné substance s následným zhoršením jakosti mouky a výrobků. Vznikají ztráty na živinách. Porostlé zrno nelze používat pro osivo ani pro potravinářské účely.

Náchylnost (odolnost) závisí na délce období tzv. *posklizňového dozrání*, při kterém je enzymatický systém zrna inhibován. Období je různě dlouhé u druhů i u odrůd. Délku ovlivňují vnější činitele (průběh počasí, vlhko, teplo) a vnitřní činitele (morfologie klasu, fyziologické zvláštnosti posklizňového dozrání). Jistou úlohu např. u pšenice má ekologický původ odrůdy.

Genetika odolnosti je do určité míry známá u pšenice, ječmene a má polygenní charakter.

Hlavní **metodou šlechtění** je křížení s využitím rodičů s vyšší odolností, nebo indukovaná mutageneze.

K **hodnocení a prověřování** stupně odolnosti se používají laboratorní metody v provokačním prostředí na vzorcích klasů. Využívá se metoda stanovení čísla pádu u

pšenice a žita.

4.5.5. Šlechtění na stejnoměrné a současné dozrávání

Stejněměrné a současné dozrávání je významným předpokladem pro bezztrátovou sklizeň. Je požadována u obilných druhů, zejména pak u luskovin, řepky, řepy semenačky aj. Často je podmíněna stavbou rostliny, k stejnoměrnosti přispívá menší větvení a menší rozklesávání bočních větví.

Genetika vlastnosti je neznámá, předpokládá se, že je složitá.

Šlechtění je opodstatněné, ale **metody** nejsou zatím propracované, spíše se hledají a odstraňují nevyhovující jedinci nebo celá potomstva ve šlechtěném materiálu.

4.6. SPECIÁLNÍ ŠLECHTITELSKÉ CÍLE

4.6.1. Šlechtění odrůd pro low-input systém

Snaha vede k vyšlechtění odrůd vhodných do podmínek hospodaření se sníženými ekonomickými a materiálovými vstupy při jejich pěstování. Sníženými dávkami nebo vyloučením minerálních hnojiv, pesticidů a herbicidů se přispěje ke snížené kontaminaci půdy, pěstovaných rostlin i okolního prostředí.

Řešení spočívá:

1) v přezkoušení současného sortimentu odrůd a novošlechtěnců v systému low-input hospodaření. Cílem je nalézt genotypy s vysokou schopností osvojování a utilizace čerpaných živin, s nezměněnou úrovní výnosu a jakostních ukazatelů,

2) šlechtění nových odrůd s mohutnější a funkční kořenovou soustavou, s ekonomickým využíváním živin a ekonomickým vodním režimem, s výraznou adaptabilitou, s vysokou komplexní rezistencí k chorobám a s dobrou konkurenční schopností k plevelům.

4.6.2. Šlechtění na efektní využívání živin a na zvýšenou fixaci N

Byly zjištěny genotypové rozdíly v *efektivitě využívání živin* např. u obilnin (pšenice). Takový genotyp se vyznačoval vzpřímenými listy, kratším stéblem, výkonným asimilačním aparátem, užším poměrem zrna k celkové nadzemní hmotě. Kriteřiem je dosažená úroveň výnosu, zdravotního stavu i jakosti.

Cesta spočívá v prověřování sortimentu za účelem nalezení vhodných genových zdrojů a pak záměrné šlechtění nových genotypů (odrůd).

Šlechtění na zvýšenou *fixaci vzdušného N₂* je možné uplatnit u luskovin a jetelovin. Jde o nalezení typů s geneticky podmíněnou lepší funkční činností systému fixace N₂ (kontrolou aktivity nitrátoreduktázy - NRT) cestou opakované rekurentní (vracející se) selekce vhodných typů. Také lze využít selekci genotypů s kladnou reakcí na symbiozu s hlízkovými bakteriemi, zejména s aktivními kmeny (příklad je u soje).

4.6.3. Šlechtění na toleranci k herbicidům

Je známo, že některé herbicidy poškozují i rostliny pěstované plodiny. Ve snaze hledání komplementárnosti herbicidu k odrůdě příslušné plodiny vyvstala snaha šlechtit odrůdy tolerantní či odolné vůči herbicidům. Takové odrůdy byly zjištěny u brambor, pšenice, jetele lučního, řepky olejné.

Šlechtitelská cesta většinou spočívá ve využívání nekonvenčních metod a postupů, např. v indukci mutantů v buněčných kulturách *in vitro*, nebo pomocí transgenních rostlin

s přenesenými geny tolerance či odolnosti k herbicidu získaných metodami a postupy genového inženýrství (NIEMENN, 1989).

4.6.4. Šlechtění na toleranci k toxicitě nízkého pH půdy a k toxicitě těžkých kovů

Šlechtění tolerantních genotypů vyvstává v souvislosti s potřebou čelit stále přibývajícím plochám s prohlubující se kyselostí půdy i kontaminovaných těžkými kovy (kadmium, olovo aj.) V kyselé půdě působí toxicky volně přístupné ionty Al^{+++} a Mg^{++} tím, že poškozují kořenové vlášení a znemožňují příjem živin a vody a celkově inhibují růst a vývin rostlin. K nejcitlivějším z obilnin náleží ječmen, pšenice, dále žito a oves.

Při šlechtění na toleranci k nízkému pH a k případné toxicitě hliníkových iontů je kladen důraz na intenzitu příjmu živin.

Šlechtění tolerantních genotypů jednak zahrnuje vyhledávání vhodných genových zdrojů v současném a ve starém sortimentu. Naše odrůdy obilnin vykazují velké rozdíly v odolnosti k nízkému pH půdy.

Genetika odolnosti k nízkému pH je známá u pšenice. Je kontrolována několika geny lokalizovanými na dlouhých ramenech chromozomů genomů A a D (SMOČEK, 1987).

Při testování šlechtěného materiálu se vychází z průzkumu citlivosti kořenového systému na nízké pH tzv. hematoxilinovou metodou (poškozená část kořínků se obarví červeně v souvislosti se snadnou průchodností poškozených pletiv pro barvivo). Odolné a tolerantní typy nevykazují poškození kořínků, nebo jen nepatrné.

5. ŠLECHTITELSKÉ METODY

Vhodně zvolená šlechtitelská metoda je ústřední otázkou šlechtění, neboť jejím prostřednictvím dochází k cílenému řízení změn v genetickém založení znaků a vlastností šlechtěného materiálu.

Ve šlechtění jde:

- a) o využívání již vzniklé (spontánně) geneticky podmíněné proměnlivosti uplatněním výběru (selekce),
- b) o rozšiřování geneticky podmíněné proměnlivosti, která vzniká:
 - kombinací a rekombinací genů (alel) hybridizací,
 - vznikem nových genů (alel), genetických sestav mutagenezí, somaklonální variabilitou, transgenozí,
 - přestavbou chromozomových (genových) sestav polyploidii, haploidii a transformací.

Základním cílem šlechtitelských metod je získání vhodného a dostatečně rozsáhlého výběrového materiálu k dalšímu šlechtitelskému zpracování.

Šlechtitelské metody lze členit na :

- a) tradiční (klasické, konvenční), mezi něž řadíme výběr, křížení (hybridizace), heterozní šlechtění, mutační a polyploidní šlechtění
- b) netradiční (nekonvenční), mezi něž náleží techniky explantátových kultur (techniky *in vitro*) a buněčné i genové manipulace.

Šlechtitel může podle MARŠÁLKA (1987) pracovat na různých úrovních:

- na makroúrovni s celistvými rostlinami ,
- na mikroúrovni za účelem poznávání jemných genetických struktur,
- na molekulární úrovni k poznání základních genetických procesů.

Na mikroúrovni a molekulární úrovni pracuje hlavně základní a šlechtitelský výzkum.

Volba vhodné šlechtitelské metody závisí na řadě okolností, např. na účelnosti a cílech šlechtění, na biologických charakteristikách šlechtěného materiálu, na úrovni šlechtění v zemi a šlechtěné plodiny a na odborné kvalifikaci šlechtitele.

Návaznou a neoddělitelnou součástí jsou šlechtitelské výběrové (selekční) postupy, jejichž posláním je výběr (selekce) jedinců a potomstev se žádanými kombinacemi znaků a vlastností ze široké populace možností. Nejvýznamnější výběrové postupy vhodné pro zpracování šlechtitelského materiálu zejména po křížení budou blíže objasněny v kap. 6.

5.1. VÝBĚR

Výběr je základním aspektem šlechtitelské činnosti a šlechtitelského pokroku. Výběrem ve šlechtění většinou rozumíme použití jedinců či potomstev ke šlechtitelskému zpracování se žádoucími znaky a vlastnostmi nebo jejich kombinacemi, tedy mluvíme o výběru pozitivním. Výběrem lze ale také odstraňovat jedince a potomstva s nežádoucími kombinacemi znaků a vlastností a výběr působí ve smyslu negativním. Úspěch výběru závisí na způsobu rozmnožování šlechtěné plodiny a na výběrové technice s ohledem na genetické založení znaků, ale také s ohledem k početnímu rozsahu materiálu.

5.1.1. Charakteristika výběru

Výběr plní několik funkcí:

- 1) působí jako evoluční (mikroevoluční) faktor,
- 2) je samostatnou, nejstarší a nejjednodušší šlechtitelskou metodou,
- 3) je základním šlechtitelským úkonem (pracovním postupem) uplatňovaným v selekčních postupech.

Jistou zvláštností je, že sám výběr genetickou proměnlivost rostlin nezvyšuje, ale jen využívá proměnlivost již existující. Výběr znamená jistý zásah do složení populace. K tomu, aby splnil své poslání, tj. posunul šlechtěný materiál žádoucím směrem určeným šlechtitelským cílem, musí být podle RODA a PEŠKA (1987) splněny předpoklady:

a) genetického charakteru, tj. musí existovat genetická různorodost (odlišnost) rostlinného materiálu, která spoluurčuje účinnost selekce,

b) biologického charakteru, kam lze zařadit způsob rozmnožování rostlin, biologii kvetení a opylování, biologii vývoje (např. dvouletost) a počet zvolených znaků při výběru,

c) technického charakteru, čímž rozumíme způsob uspořádání porostů ve školkách, rozsah hodnoceného a vybíraného materiálu, spolehlivost a objektivitu podkladů pro výběr, možnost technického zpracování, použitou výběrovou strategii (extenzivní, cílevědomou) a intenzitu výběru.

Obr. 5.1.1.: Schéma ohlasu na selekci v populaci cizosprašných druhů (A) a v čisté lini (B) – KOVÁČIK a kol., 1983.

Účinnost výběru (selekce) závisí na genetickém založení znaků a vlastností. U znaků kvalitativních na počtu genů, na dominanci, recesivitě či neúplné dominanci, na síle a druhu vazby a interakci genů apod., u znaků kvantitativních na složitosti (jednoduchosti) genetické determinace a na heritabilitě (dědivosti). Význam mají i korelace znaků.

U cizosprašných rostlin rozhoduje i doba výběru, výběr provedený před květem (oplozením) je všeobecně účinnější, než výběr provedený po odkvětu. Podle genetického založení znaku, podle jeho heritability se rozeznává několik ohlasů na selekci. Obr. 5.1.1.(A) znázorňuje ohlas na selekci u cizosprašných druhů a obr. 5.1.1.(B) znázorňuje charakter ohlasu na selekci v homozygotní linii. Účinnost výběru při neexistenci genetické různorodosti v liniích není žádná.

Obr. 5.1.2.: Schématické znázornění selekčního rozdílu (KOVAČIK a kol., 1983).

Ohlas na selekci polygenně založených kvantitativních znaků se vyjadřuje selekčním (genetickým ziskem G_s). Rozumí se tím rozdíl mezi průměrem hodnoty znaku původní populace a průměrem hodnoty znaku populace v další generaci po realizovaném výběru. Seleční zisk znázorňuje schéma na obr. 5.1.2. se vypočte podle rovnice:

$$G_s = k \cdot h^2 \cdot s$$

(k = koef. přísnosti selekce, h^2 = koef. dědivosti, s = směrodatná odchylka znaku v populaci).

Podrobnější poznatky o genetických základech výběru a jeho účinnosti lze získat v učebnicích genetiky rostlin (KOVAČIK a kol., 1983 a HRAŠKA a kol., 1990).

5.1.2. Dělení výběru

Výběr lze členit do 2 základních kategorií, na výběr přírodní a výběr umělý.

5.1.2.1. Přírodní výběr

Zahrnuje selekční vlivy přírodních faktorů (půdních, klimatických a biotických) na rostlinné populace a druhy. Změny vlivem přírodního (přirozeného) výběru se uskutečňují většinou ve prospěch biologických vlastností potřebných pro přežívání rostlin, které mnohdy jsou shodné i s požadavky člověka. Dlouhodobé či trvalé působení podmínek prostředí vede ke vzniku dobře přizpůsobených jedinců a rostlinných populací podmínkám místa, oblasti apod. (evoluční působení).

Význam přírodního výběru z hlediska šlechtění spočívá:

- v tvorbě rostlinného materiálu s přirozenou proměnlivostí a dobrou přizpůsobeností přírodním podmínkám oblasti, který se stává zdrojem šlechtitelsky využitelných genotypů (biotypy, ekotypy, krajové odrůdy),
- ve spolupůsobení při tvorbě nové odrůdy, a to přirozeně (ve šlechtitelských školkách) a záměrně v provokačních podmínkách při testování šlechtěného materiálu (např. na zimovzdornost, suchovzdornost, odolnost k chorobám apod.)
- v působení při introdukci odrůd do odlišných podmínek (KUCKUK aj., 1985).

Přírodní výběr se vyznačuje:

- pomalým a často nepřímým účinkem,
- působí hlavně ve prospěch biologických vlastností,
- působí ve smyslu pozitivním i negativním,
- nepůsobí stále stejně silně,
- výsledek je závislý na geneticky podmíněné adaptabilitě.

5.1.2.2. Umělý výběr

Umělý výběr je takový druh výběru, při němž se uplatňuje a rozhoduje člověk. Uplatnil se při vzniku kulturních rostlin (při domestikaci), při dalším jejich zlepšování, uplatnil se při vzniku krajových odrůd a je základem šlechtitelské práce v novošlechtění i v udržovacím šlechtění.

Umělý výběr lze **dělit podle několika hledisek** :

a) dle charakteru působení na *pozitivní*, který se uplatňuje při výběru žádaných, vhodných jedinců či potomstev a *negativní* při vylučování nevyhovujícího materiálu z dalšího šlechtění.

b) podle směru působení na *přímý* sledující určitý cíl. *Nepřímý* výběr je většinou doprovodný přímému výběru v souvislosti skorelačními vztahy a genetickou vazbou mezi znaky a vlastnostmi (příkl. vyšší cukernatost - menší bulvy, kratší stéblo - kratší klas aj.). Ve šlechtění lze i vědomě využívat nepřímého výběru při selekci pomocí tzv. markérů znaků a vlastností.

c) podle trvání na *jednorázový*, uplatňuje se i při etapovém (tandemovém) výběru. Výběr *opakovaný* jen v určitém období do splnění úkolu, nebo v určitých etapách (udržovací), může být opakovaný pravidelně a přechází pak v *trvalý* (nepřetržitý). Opakovaný výběr se uplatňuje silným selekčním tlakem.

d) dle metody (způsobu) a techniky lze výběr rozdělit na *hromadný* a *individuální výběr*.

Hromadný výběr

Podstata spočívá ve výběru rostlin, nebo jejich částí (např. klasů, lusků apod.) se žádoucími znaky a vlastnostmi zjištěnými objektivně i subjektivně (na poli, v laboratoři), a které odpovídají šlechtitelskému cíli a jejich společné (hromadné) rozmnožování v další generaci. Schéma opakovaného hromadného výběru je na obr. 5.1.3.

Hromadný výběr může být jednorázový, opakovaný i trvalý, pozitivní i negativní. *Charakteristické* pro hromadný výběr je, že:

- je nejstarší a nejjednodušší šlechtitelskou metodou a selekčním postupem, úspěšným zejména při velké různorodosti výchozího materiálu,
- vybírá se podle fenotypu (uplatňuje se fenotypový výběr),
- nelze prověřovat genetické založení znaků a vlastností, předpokládá se souhlas s fenotypovým projevem,
- nelze vyloučit i výběr modifikací, zejména u znaků kvantitativních.

Obr. 5.1.3.: Schéma jednoduchého hromadného výběru (ROD a kol., 1982).

A - sled výběrových školek se zakreslením jedinců, B - přehled výběrové řady se zařazením zkoušek výkonu a množitelských dílců, r = rok

Předností hromadného výběru je relativní jednoduchost a účinnost v jednoduchých případech, např. v zavádění nových plodin do kultury nebo v selekci na znak souhlasný s biologii plodiny, v selekci na znaky jednoduše geneticky založené a s vysokou dědivostí, při negativní selekci nemocných jedinců nebo nežádoucích příměsí.

Nedostatkem hromadného výběru je nemožnost prověření dědičné hodnoty vybrané rostliny podle potomstva. Je všeobecně málo účinný a vyžaduje velký rozsah materiálu určeného pro selekci.

Hromadný výběr se využívá u samosprašných a cizosprašných rostlin, i u vegetativně množených rostlin.

Tab. 5.1.1. Účinnost hromadného (H) a individuálního (I) výběru u cizosprašných rostlin.

| | Pozitivní výběr | Frekvence nežádoucích fenotypů v % | | |
|------------------------------------|-----------------|------------------------------------|----------------|----------------|
| | | F ₃ | F ₄ | F ₅ |
| A. Výběr na recesivní znak | | | | |
| 1. před květem | H | 0 | 0 | 0 |
| | I | 0 | 0 | 0 |
| 2. po květu | H | 50 | 25 | 12,5 |
| | I | 50 | 25 | 12,5 |
| B. Výběr na dominantní znak | | | | |
| 1. před květem | H | 11,1 | 6,3 | 4,0 |
| | I | 11,1 | 2,8 | 0,7 |
| 2. po květu | H | 16,7 | 12,5 | 9,6 |
| | I | 16,7 | 10,4 | 6,9 |

Účinnost hromadného výběru je rozdílná v závislosti na genetické determinaci znaků a vlastností zda se vybírají jedinci s recesivním nebo s dominantním znakem, u kvantitativních znaků na heritabilitě, dále závisí na rozsahu a intenzitě selekce. U cizosprašných rostlin závisí i na době výběru, zda bude prováděn před květem (oplozením) nebo po odkvětu, jak je dobře patrné z tabulky 5.1.1. Na utváření genetického základu následných generací se podílejí neznámé otcovské rostliny, jejichž vliv nemusí být vždy pozitivní a tuto okolnost je možné řešit dobou výběru. Výběr před kvetením je všeobecně účinnější, neboť nežádoucí jedinci se odstraňují. Pomalou účinnost hromadného výběru na obsah bílkovin a oleje v zrně cizosprašné kukuřice demonstruje obr. 5.1.4.

Obr. 5.1.4: Účinek hromadného výběru na obsah oleje a bílkovin v zrně kukuřice (JANDURA, 1997).

K zvýšení účinnosti hromadného výběru se používá skupinový hromadný výběr (obr. 5.1.5.), nebo etapový (tandemový) výběr.

Obr. 5.1.5.: Schéma hromadného výběru skupinového. A - sled výběrových školek se zakreslením jedinců, B - přehled výběrové řady se zařazením zkoušek výkonu a množitelských dílců (ROD a kol., 1982).

Individuální výběr

Podstata spočívá ve výběru rostlin, nebo jejich částí (klasů, palic, lusků, hlíz) případně ve výběru potomstev, a jejich individuálním sledování v následných generacích. Vybrané jednotlivé rostliny, nebo jejich části, se označují jako *kmenové matky* (KM, dříve elitní rostliny, výběry apod.). Potomstva KM se vedou na samostatných parcelkách

(řádcích). Potomstva se porovnávají s kontrolou a na základě jejich projevu lze posoudit výběrovou hodnotu vybraných KM.

KM se vybírají podle jejich fenotypu, který je posuzován objektivně i subjektivně a odpovídá zájmu šlechtitele. Zajišťuje se individuální sklizeň KM a oddělené uchování jejich rozmnožovacích orgánů které se v následné generaci vysévají (vysazují) na samostatné parcelky většinou v širších řádcích. Potomstva, které se označují jako *kmeny* u samosprašných rostlin, *rodiny* u cizosprašných rostlin a *klony* u rostlin vegetativně rozmnožovaných, se posuzují individuálně jako celek. Schéma individuálního výběru se zkouškou potomstev je na obr. 5.1.6.

Obr. 5.1.6.: Schéma individuálního výběru se zkouškou a rozmnožováním potomstev (ROD a kol. 1982)

Charakteristické pro individuální výběr je, že:

- znamenal významný pokrok ve šlechtění, neboť vychází ze zásady, že šlechtitelská (dědičná) hodnota jedince (KM) je posuzována na základě hodnoty a úrovně jeho potomstva.
- klade váhu na individuální hodnocení potomstev, neboť ta jako celek nejméně modifikují ve znacích a vlastnostech,
- uvedený princip umožňuje posuzovat i genotyp, tedy genetické založení znaků a vlastností u vybrané KM, lze uplatňovat tzv. genetický výběr,
- uvedený princip podmiňuje vysokou účinnost.

Individuální výběr se uplatňuje:

- a) u *samosprašných* rostlin, u nichž vede k izolaci čistých linií, a lze ho využít k

analýze populace (obr. 5.1.7.). Uplatňuje se v novošlechtění ve výběrových postupech při zpracování štěpících generací, uplatňuje se také v udržovacím šlechtění.

b) u *cizosprašných* rostlin vede k pomalému rozkladu populace, je nutný opakovaný výběr (obr. 5.1.8.). Jeho účinnost je závislá na genetické determinaci znaků a vlastností, je všeobecně nižší, zejména je-li prováděn po odkvětu, jak je patrné z údajů tab. 5.1.1.

**Obr. 5.1.7.: Rozklad populace samosprašných rostlin na linie (Rod a kol. 1982.)
A – výchozí populace – směs genotypů, B - F – linie.**

Pro zvýšení účinnosti individuálního výběru i cizosprašných plodin je nutné použít *metody řízeného opylování*, jejichž úkolem je v reprodukčním procesu znemožnit účast opylovačům s nežádoucími geny. Často se vychází jen z genetické hodnoty mateřských rostlin. Metody řízeného opylování umožní předem posoudit i hodnotu otcovských rostlin. Tento úkol zajišťují modifikované metody individuálního výběru :

- nejméně účinné je řazení potomstev podle známého genotypu a příbuznosti. Opylení probíhá mezi sousedními parcelami, u větrosrubných se dávají nejlepší potomstva na návětrnou stranu,
- selekce před květem, jejíž podstatou je odstranění nežádoucích rostlin (potomstev)

před jejich rozkvětem,

- selekce po odkvětu v případě znaků, které lze posuzovat až po opylení (dozrání, sklizni). Nežádoucí opylovači se odstraňují nepřímou cestou, nejčastěji používanou metodou polovin (rezerv), jejíž schéma je na obr. 5.1.9.,
- separační metoda, jejíž podstatou je oddělené vedení rodin v prostorové (na vzdáleném pozemku, příp. ještě v porostu jiné plodiny), nebo v kulisové (obsetí řádky jinou plodinou, např. žitem konopím apod.) či v technické izolaci (obr. 5.10.). Opylování probíhá v rámci rodiny (je vhodná pro plodiny méně citlivé na inzucht a následné snížení vitality), vhodné jsou i čtvercové parcelky,
- metoda středního záhonu, která zabezpečuje opylování v rámci jisté příbuznosti,
- metoda hromadného křížení (polycross), která umožňuje opylování mezi předem protestovanými jedinci.

Obr. 5.1.8.: Rozklad populace cizosprašných rostlin na rodiny (ROD a kol., 1982).

Obr. 5.1.9.: Schéma výběrové metody rezerv. A - sled výběrových školek se zakreslením jedinců - kmenových matek (KM) a zařazením předzkoušek ve stupni kmenů (ROD a kol., 1982).

**Obr. 5.1.10.: Schematické řazení kmenů ve školkách.
A - Km jsou řazeny náhodně nebo podle jiného hlediska než příbuznosti -**

možnost vzájemného sprašování nepříbuzných rodin, B - Km jsou řazeny do skupin podle původu - přednost sprašování blízce příbuzných rodin, C - Km jsou vysévány v prostorové izolaci nebo členěny pomocí kulís - možnost sprašování jedinců pouze v rámci téhož kmene (ROD a kol., 1982).

5.1.3. Technika výběru

Předmětem výběru jsou jednotlivé celistvé rostliny, nebo jejich části (klas, palice, semeno), dále potomstvo (kmen, rodina, klon), skupina potomstev apod. Při výběru jedinců platí zásada vybírat v zapojeném porostu, nikoliv na okraji parcelky nebo v sousedství prázdného místa.

Přísnost a rozsah výběru je dán počtem (podílem) vybíraných jedinců či potomstev z celkového počtu. O velmi přísném výběru lze mluvit tehdy, činí-li podíl pozitivně vybraných jedinců např. 1-5 %, méně přísný je při výběru většího podílu. O rozsahu rozhoduje velikost školky v níž výběr se uplatňuje, jednoduchost či složitost genetického založení znaků, typ proměnlivosti znaků, počet kritérií výběru a také spolurozhodují finální a technické možnosti pracoviště.

Platí zásada, že důležitější je výběr potomstev (kmenů, rodin, klonů), než výběr jedinců. Potomstva vykazují menší proměnlivost znaků a vlastností. Pouze výběr nejlepších potomstev vede k získání nejlepšího šlechtitelského materiálu, který se může stát základem nové odrůdy.

Pro šlechtitelskou praxi to znamená každoročně vybírat a vyhodnocovat velké množství kmenových matek, zakládat, hodnotit a sklízet velké množství potomstev. Také velký podíl jedinců a potomstev se vylučuje jako nevyhovující. Ve šlechtění většinou platí zákon velkých čísel a je uměním šlechtitele vybrat nejhodnotnější a vyhovující šlechtitelský materiál.

Označování a evidence šlechtěného materiálu ve všech generacích je nutností. Musí být pečlivé a podle určitého, zpravidla vžitého systému, který zajišťuje přehlednost a přesnost. Záznamy musí umožnit dobrou orientaci ve zjištěných výsledcích prováděných analýz, pozorování a jejich správné a objektivní vyhodnocení. Šlechtěný materiál se zpravidla označuje ve školkách (v souladu s plánkem zásevu) jmenovkami, případně jiným vhodným způsobem. S označením materiálu ve školce musí souhlasit označení v polním zápisníku a v rozborovém protokolu.

K vyhodnocování výsledků pozorování a rozborů se používají vhodné metody, jako je porovnání s hodnotou ideotypu či standardu, samozřejmě vhodné matematicko-statistické metody (analýza rozptylu, korelační a regresní analýza, standardizace), grafické znázornění a bodové vyjádření (1 - 9). Konstrukce selekčních indexů je náročná (UŽÍK, 1993).

Hromadný a individuální výběr a jejich modifikace se uplatňují ve výběrových šlechtitelských postupech (kap. 6.).

5.2. KŘÍŽENÍ

Křížení (hybridizace) je druhá nejstarší šlechtitelská metoda a nejpoužívanější metoda přípravy šlechtitelského materiálu.

Křížením dochází ke spojování genetické informace dvou (případně i více) rodičovských komponent, které se odlišují v genetickém základu pro znaky a vlastnosti. Ke vzájemnému spojení genetického obsahu dochází při splynutí samičích a samčích pohlavních buněk.

Záměrem křížení je získat hybridní potomstvo nesoucí znaky a vlastnosti použitých

rodičů v různých kombinacích. Proto se používá i termín *kombinační křížení*. Křížení vede k rozšiřování genetické proměnlivosti (variability).

Úkolem křížení z hlediska šlechtitelského je vytvořit geneticky podmíněné kombinace znaků a vlastností (vznik šlechtitelských novinek), zesílit, či zeslabit až eliminovat znaky a vlastnosti, docílit transgresní jevy u polygenně založených znaků apod. Úspěch křížení závisí na znalostech teoretických základů, na znalostech genetického založení znaků a vlastností a na volbě vhodných rodičů a vhodné metodě a postupu křížení.

Do znovuobjevení Mendelových zákonů se křížení používalo zřídka. Mendelovy a Morganovy genetické zákony a zákonitosti dědičnosti kvantitativních znaků tvoří teoretické základy této šlechtitelské metodě a daly podnět k širokému využívání křížení ve šlechtitelské praxi. Rozvoj genetiky a poznávání dalších genetických zákonitostí umožnily, že křížení se stalo metodou cílevědomé tvorby nových genotypů.

Křížení dělíme na:

- 1/ **vnitrodruhové** a na
- 2/ **vzdálené**.

5.2.1. Vnitrodruhové křížení

Rodičovské komponenty vnitrodruhového (blízkého) křížení jsou zpravidla odrůdy, pak se mluví o meziodrůdovém křížení, nebo linie, pak se mluví o meziliniiovém křížení. Odrůda či linie (případně mutant, hybrid), které se použijí ke křížení, jsou v podstatě zdroje genetických základů žádaných znaků a vlastností (genové zdroje).

5.2.1.1. Výběr rodičovských komponent

Výběr vhodných rodičovských komponent se řídí komplexem šlechtitelských cílů (šlechtitelským cílem). Nejčastějšími komponenty při křížení jsou odrůdy domácí, zahraniční, staré i nové, využívá se i krajových odrůd. Velmi často šlechtitel dává přednost vlastním odrůdám se známým genetickým pozadím důležitých znaků a vlastností a se známou hospodářskou hodnotou.

Podle BOROJEVIČE (1981) je několik koncepcí výběrů rodičů:

a) *koncepce odrůdy* (genotypové divergence), které se většinou využívá na začátku šlechtění plodiny a při extenzivním přístupu ke křížení (šlechtění). Vyžaduje velký rozsah potomstev k hodnocení, je velké % vylučování a malý podíl úspěšných výběrů.

b) *koncepce znaku* (genová divergence) předpokládá výběr rodičů na základě převahy žádoucích znaků a vychází z genetické podstaty a stálosti znaku. Umožňuje plánovitost v křížení, možnost menšího počtu kombinací a větší úspěšnost. Je často používaná, zvl. při zpětném křížení.

c) *koncepce genu* vychází z úplné znalosti genetického založení znaku a vlastnosti, tj. ze znalosti příslušného genu i jeho lokalizace. Představuje intenzivní přístup a umožňuje plánovitost v křížení.

d) *koncepce geografické vzdálenosti rodičů*, která se shoduje s koncepcemi ad a) nebo ad b). Je zdůrazněn princip výraznějšího uplatnění selekce prostředí na formování genotypu. Jde o využívání odrůd z rozdílných oblastí. Velmi často vede ke vzniku transgresí u hospodářsky důležitých znaků a vlastností.

e) *koncepce kombinační schopnosti* (KS), která se využívá hlavně v heterozním křížení (viz kap. 5.3.).

Při výběru vhodných rodičů ke křížení se využívá i počítačových programů s využitím informací o genetickém základu žádaných znaků a vlastností získaných např. z

databáze genové banky apod. Podle ČERNÉHO a ŠAŠKA (1996) byly v konstrukci nových genotypů pšenice dosaženy slibné výsledky spojením elektroforézy bílkovinných markerů s klasickou metodou křížení.

5.2.1.2. *Technika křížení*

Podstata křížení spočívá v opylení květů mateřské rostliny pylem rostliny otcovské. Samotná technika křížení je rozdílná podle druhu plodiny, podle stavby a morfologie květů (květenství), podle biologie kvetení a oplodnění. Musí splňovat základní požadavky :

- zabránit opylení vlastním pylem, což se řeší včasným odstraněním prašníků (kastrací),
- zabránit nežádoucímu a nekontrolovanému opylení, což se řeší izolací kastrovaných květů či květenství, případně celé rostliny,
- zajistit opylení (oplození) funkčním pylem zvoleného otcovského rodiče za pomoci vhodné techniky opylování.

Jsou různé techniky kastrace samčích orgánů u druhů plodin. Obvykle to bývá mechanické odstranění prašníků těsně před jejich dozráním a produkcí klíčivého pylu. Při předčasné kastraci se zvyšuje nebezpečí poškození květu, naopak při opožděné může nastat nežádoucí samoopylení. Kastrace prašníků často vyžaduje částečné či úplné odstranění některých částí květu (pluchu s pluškou, kališní lístky), u některých plodin lze mechanickou kastraci nahradit namáčením květů do vody teplé 40–44°C (rýže, čirok), vyplavením pylu vodou (salát). U cizosprašných plodin je nutná kastrace nevyskytuje-li se autosterilita, u jednodomých se včas odstraní samčí květenství (kukuřice), u dvoudomých se z porostu odstraní samčí rostliny (konopí, špenát).

Ihned po kastraci i po opylení se květy (květenství) izolují. Izolační materiál nesmí propustit pyl (ani opylovače), musí umožnit výměnu plynů a odolávat nepřízní počasí a prostředí. Obvykle se používají celofánové, pergamenové či papírové a silonové sáčky. U hmyzosnubných rostlin se používá jemná tkanina a síťovina.

Přenos pylu na blizny vykastrováných květů se děje v době kdy je blizna zralá a schopná přijmout pyl (lepkavost povrchu, pérovitost blizny). Používá se pyl odebraný z čerstvých květů, nebo sebráný dopředu a vhodně uskladněný (při 0°C). K přenosu pylu se používá jemný štěteček. Často se do květů vkládají celé prašníky pomocí pinzety. U cizosprašných druhů se mnohdy využívá i přirozeného způsobu přenosu pylu (volné opylení větrem, hmyzem) v izolovaném prostředí či na volném prostranství při vhodně organizovaném výsevu mateřských a otcovských rostlin.

Rozsah křížení, který je dán počtem kombinací, počtem nakřížených květů a rostlin, závisí na:

- složitosti šlechtitelského úkolu (cíle),
- zvláště utváření generativních orgánů rostlinného druhu a na snadnosti (obtížnosti) křížení,
- na použitém principu výběru rodičů,
- na technických a personálních možnostech,
- pokročilosti programu šlechtění.

Extenzivní přístup k rozsahu křížení je charakterizován velkým počtem kombinací, spíše empirickým přístupem, bez hlubšího teoretického podkladu. Intenzivní přístup je spojen s plánovitým postupem, záměrně vedený na teoretickém podkladě, často s menším počtem nutných kombinací.

Rozsah křížení lze vykalkulovat na základě známého genetického základu kombinovaných znaků a vlastností. Rozsah by měl vždy vycházet z početní rozsáhlosti

štěpící generace, nejčastěji F₂ generace. Počet kombinací křížení určuje objem následných prací, rozsah šlechtitelských školek, potřebných testů, rozborů apod.

Jsou-li rodiče homozygotní (časté u samosprašných), bude F₁ uniformní a štěpící je F₂ generace. Použijí-li se rodiče heterozygotní, je štěpící už F₁ generace, což je většinou u rostlin cizosprašných.

5.2.1.3. Metody křížení

Metody křížení lze členit na 2 základní skupiny:

a) z hlediska účelu na :

- **kombinační**, s účelem kombinace znaků či vlastností,
- **transgresní**, jako zvláštní forma kombinačního křížení pro polygenně založené znaky a vlastnosti,
- **konvergentní**, s účelem vnesení žádaných genů.

b) z hlediska složitosti na :

- **jednoduché**: křížení přímé, reciproké, dialelní, cyklické a transgresní
- **složité**: vícenásobné, zpětné a konvergentní.

A) Kombinační křížení

a) jednoduché metody kombinačního křížení :

- *přímé a reciproké*

Zahrnuje křížení 2 rodičovských komponent (u reciprokého se záměnou úlohy rodičů) s převahou kladných znaků s účelem jejich kombinace, příp. studia genetického založení.

| | | |
|---------|------------------|------------------|
| Schéma: | A x B | B x A |
| | F _{1AB} | F _{1AB} |

- *dialelní*

Je vzájemné křížení rodičovských komponent systémem "každá s každou jinou", a to jako:

- jednořadové (neúplná dialela)

| | | | |
|---------|-------|-------|-------|
| Schéma: | A x B | B x C | C x D |
| | A x C | B x D | |
| | A x D | | |

$$\text{počet kombinací} = \frac{n(n-1)}{2}$$

- dvouřadové (úplná dialela) - (včetně reciprokých kombinací)

počet kombinací = n(n-1)

A, B, C, D – odrůdy, linie n - počet

Využívá se ke genetické analýze založení znaků, ke kombinaci znaků a ke zjišťování kombinační schopnosti (KS).

- *cyklické*

Při cyklickém křížení se zpravidla hledá vhodný rodičovský partner k určitému

genotypu. Např. osvědčená odrůda A se kříží se řadou odrůd B, C, D .. za účelem zlepšení určitého znaku.

Schéma : A x B, A x C, A x D, . .
také B x A, C x A, D x A, . .

Využívá se také ke analýze genetického založení znaků a ke zjišťování kombinační schopnosti komponent.

- *transgresní*

Uplatní se při kombinačním křížení polygenně založených znaků s aditivními efekty (výška, nepoléhavost, výnos, ranost) s cílem vyštěpení fenotypů, které překonávají hodnoty znaků rodičů. Rodičovské komponenty mohou mít pro projev znaku část genů příznivých a část nepříznivých. Geny, které u jedné komponenty jsou příznivé, u druhé mohou být nepříznivé. Při křížení v F₂ generaci může nastat možnost, že vyštěpí genotypy, které budou mít větší díl genů příznivých než jedna či druhá rodičovská komponenta. Tento jev, kdy v důsledku rekombinací příznivých (nepříznivých) genů obou komponent vznikne genotypová sestava s větším počtem příznivých (nepříznivých) genů než měly rodičovské komponenty, se označuje transgresí. Pojem transgrese nelze zaměňovat s pojmem heteroze. Projev transgrese je dobře patrný z obr. 5.2.1.

Obr. 5.2.1.: Projev transgrese při křížení pšenice. Nahoře je znázorněno rozdělení četnosti rodičovských odrůd s štěpící F₂ generace. Dole je znázorněno rozdělení četnosti 4 potomstev vybraných v F₂ generaci (podle BOROJEVIČE, cit. JANDURA, 1990)

SCHMALZ (1964) charakterizuje transgresi jako velmi vzácný jev, téměř jako náhodný, který dost dobře nelze cílevědomě vytvářet. Transgresní typy se obtížně identifikují ve štěpící populaci, neboť nejmenší štěpící populace není zpravidla dostatečně velká aby se projevil.

b) složité metody kombinačního křížení (vícenásobné křížení)

- *trojné* (trojcestné)

Zahrnuje křížení 3 rodičovských komponentů

$$(A \times B) \times C$$

Schéma: $A \times B$
 $F_{1AB} \times C$
 F_{1ABC}

= Tree way cross (T.c.)

Podíl genetického základu: A a B po 25 %, C 50 %.

- *dvojité* (složité)

Zahrnuje křížení 4 rodičovských komponentů

$$(A \times B) \times (C \times D)$$

Schéma: $A \times B$ $C \times D$
 $F_{1AB} \times F_{1CD}$
 F_{1ABCD}

= Double cross (D.c.)

Podíl genetického základu: po 25 % u všech komponent.

Trojné i dvojité křížení se využívá hlavně v heterozním šlechtění.

- *stupňovité*

Zahrnuje postupné křížení více rodičovských komponent.

$$[(A \times B) \times C] \times D$$

Schéma: $A \times B$
 $F_{1AB} \times C$
 $F_{1ABC} \times D$
 F_{1ABCD}

Podíl genetického základu : A 12,5 %, B 12,5 %, C 25 %, D 50 %. Důležitá je volba posledního rodiče, neboť vnáší významný podíl genetické informace. Vzniká velmi složitý hybrid.

c) metody konvergentního křížení

- *zpětné křížení*: (backcross - BC, zlepšovací, nasycovací, potlačovací)

Ve šlechtění se používá za účelem obohacení (zlepšení) odrůdy o chybějící znak či vlastnost, např. o gen odolnosti k chorobě. Za tímto účelem se kříží s odrůdou, která žadáný gen obsahuje a je tedy dárkyní (donorem - D), odrůda přijímací je označována jako recipientní či rekurentní (R). Rekurentní rodič musí mít velmi dobrou celkovou úroveň. Donorový rodič by neměl být podstatně podprůměrný v ostatních vlastnostech.

Zpětné křížení je v podstatě křížení rostlin F_1 generace jako mateřských komponent s jedním z rodičů, zpravidla však s rodičem recipientním. Může být jednorázové nebo opakované:

| | | |
|----------------------|---|-------------------------------|
| Schéma: jednorázové: | A x B F _{1AB} x A | A x B F _{1AB} x B |
| opakované: | A x B F _{1AB} x A BC ₁ x A BC ₂ x A atd. | |
| obecně: | [A x B] x A ⁿ | A = recipient (rekurent - R) |
| také | [B x A] x A ⁿ | B = donor (D) |

Při jednoduchém křížení se většinou získají intermediární typy (lepší než horší rodič). Opakované zpětné křížení umožňuje postupný posun variability znaků směrem k recipientnímu rodiči R a v konečné fázi k obnově jeho genetického základu, při zachování přeneseného genu donora D. Postupnou obnovu genotypu rodiče R opakovaným zpětným křížením znázorňuje následující schéma a obr. 5.2.2.:

| | | | |
|---------|---------------------------------------|------------------|---------|
| Postup: | (aa) A x B (AA) | podíl rodičů v % | |
| | (Aa) F ₁ x A | R 50 | D 50 |
| | (Aa) BC ₁ x A | A 75 | B 25 |
| | (Aa) BC ₂ x A | A 87,5 | B 12,5 |
| | (Aa) BC ₃ x A | A 93,75 | B 6,25 |
| | (Aa) BC ₄ x A | A 96,87 | B 3,125 |
| | samoopylení-F ₂ selekce | | |

Z generace F₁ a BC_{1-n} se k opakovanému křížení použijí jedinci odpovídající genotypu rodiče R a se znakem přeneseným z rodiče D, ostatní jedinci se ke křížení nepoužijí. Po 5-6 násobném BC nastane obnova genetického základu R na 98,4 %, při zachování přeneseného genu z rodiče D v heterozygotní sestavě (Aa). Homozygotní sestava AA se získá po samosprášení jedinců BC₅₋₆ a výběrem ze štipícího potomstva. Tím lze získat jedince obnového genotypu R obohaceného o gen AA od rodiče D.

Složitější postup je přenos recesivního genu (aa), neboť vyžaduje zpětné křížení s oběma rodiči k odlišení nositelů genotypu Aa od AA. Doporučuje se samosprášení po každé generaci BC k vyloučení dominantně homozygotních (AA) rostlin, kdežto heterozygotní rostliny (Aa) se dále kříží s R rodičem. V každé generaci musí být intenzivní selekce na přenášený znak.

Zpětné křížení:

- obnovuje původní genotyp recipientního rodiče zpravidla po 5-6 zpětných kříženích,
- podíl genů donora klesá v každé generaci BC o 1/2 podílu předchozí generace.

Příkl.: v generaci BC₅ je tedy 1/2⁶, tj. 1/64 genové výbavy donora, tj. 1,56 % a 98,44 % genové výbavy recipienta.

- s počtem generací BC vzrůstá % homozygotnosti genových párů recipienta, přičemž znaky donora (kromě předaného genu) se eliminují.
- poslední generace vyžaduje samosprášení k vyštěpení homozygotních forem genu donora (Obr. 5.1.). U složitých případů se doporučuje zařazovat samosprášení mezi

- generace BC,
- je vhodné při zlepšování recipienta o jednoduše dědičný znak kvalitativní (př. odolnost k chorobě), nebo o znak polygenní s vysokou dědivostí,
 - vystačí s menším rozpětí populace k získání žádané kombinace,
 - je vhodné zejména pro samosprašné rostliny, ale je využitelné i u cizosprašných rostlin.

Obr. 5.2.2. Šlechtění na rezistenci zpětným křížením podle schéma donor x recipient, P₁ - donor genu rezistence RR, P₂ - recipient, náchylný rr, So - samosprašení (ŠEBESTA, BARTOŠ, JENDRULEK, 1989)

- *konvergentní* (sbíhavé, přibližovací), Podstatou je slučování genů z více rodičů pomocí několika mezikřížení, často s využitím opakovaného zpětného křížení (např. stupňovité konvergentní křížení):

Schéma :

(A x B)

F_{1AB} x A

.

(C x D)

F_{1CD} x C

.

(E x F)

F_{1EF} x D

.

·
A₄ x C₄ x D₄

Jednotlivé stupně (řady) mohou mít počátek křížení ve stejnou dobu, nebo o několik generací posunutý. Nakonec se genotypy jednotlivých řad kříží navzájem za účelem sloučení genů. Existuje řada modifikací konvergentního křížení.

Metody křížení cizosprašných rostlin

Všechny dosud uvedené metody křížení jsou dobře využitelné u samosprašných rostlin a případně i u rostlin vegetativně množených. Některé jsou využívány i u rostlin cizosprašných (kromě konvergentního křížení), ikdyž s menším úspěchem. Příkladem může být zpětné křížení, neboť vzhledem k heterozygotnosti a k heterogenitě je nutné používat velkého počtu rostlin recipientního rodiče v každé generaci a je dost obtížné získat samosprašnou linii k identifikaci přenášeného znaku.

Cizosprašné rostliny mají některé odlišnosti:

- rodičovské komponenty (odrůdy) jsou tvořeny z heterozygotních genotypů a tvoří populace. Rostliny použité ke křížení jsou zpravidla heterozygotní,
- pro zvýšení pravděpodobnosti předání žádaného znaku na potomstvo je vhodné použít homozygotní rodiče pro příslušné znaky, tj. inzuchtované linie. Doporučuje se využívat i komponenty částečně zhomozygotizované příbuzenským opylováním, tzn. se zúženou genetickou základnou,
- v souvislosti s heterozygotností rodičů je F₁ první štěpící generací a tedy i výběrovou generací.

Pro křížení **cizosprašných** rostlin jsou vyvinuty tyto metody křížení:

- párové křížení,

Podstata spočívá v tom, že ke křížení se vybírají jedinci geneticky nepříbuzné, s intenzivním projevem znaku. Využívá se hlavně pro zlepšování kvantitativních znaků.

Pro křížení se umísťují rodičovské rostliny (nebo jen květenství) pod společný izolátor. U hmyzosnubných rostlin se do izolátoru umísťuje i opylující hmyz. U větrosnubných rostlin se jednotlivé páry oddělují kulisovými rostlinami (kukuřice, konopí), nebo se izolují od sebe prostorově. Mnohdy není nutná kastrace a opylení je přirozené.

Další postup závisí na tom, zda žádané znaky lze posoudit před květem, nebo až po odkvětu. Odstranění podprůměrných rostlin před květem zabezpečuje, že na vzniku následné generace se nebudou podílet. Posuzování po odkvětu vyžaduje jednak vytvoření mnohem většího počtu párů (5 - 10 tisíc) a jejich hodnotu posuzovat na základě výsledků předzkoušek (metoda polovin - kap. 5.1)

Křížení se provádí opakovaně v několika cyklech. Osivo nejlepších párů fenotypově vyrovnaných s vysokou výkonností se společně vysévá k vzájemnému prokřížení a získá se zlepšená populace.

- hromadné křížení (polycross)

Metoda hromadného křížení se používá ve šlechtění syntetických populací a bude objasněna v kapitole o heterozním šlechtění (kap. 5.3.2.).

Šlechtitelské zpracování hybridních generací je předmětem šlechtitelských výběrových postupů, které budou objasněny v kap. 6.

5.2.2. Vzdálené křížení

Vzdálené křížení umožňuje využívání genofondu rostlin za hranicemi druhu, případně za hranicemi rodu, k řešení speciálních šlechtitelských úkolů. Vede k rozšíření genetické proměnlivosti spojením geneticky odlišných genomů s nealelickými geny planých, polokulturních i kulturních druhů či rodů.

Podle typů použitých rodičovských komponent lze dělit vzdálenou hybridizaci na **mezidruhovou** (interspecifickou) a **mezirodovou** (intergenerickou).

Význam vzdálené hybridizace v přehledu lze vyjádřit následovně:

- je evolučním faktorem a vede ke vzniku zcela nových forem (druhů) spontánní i umělou cestou,
- je šlechtitelskou metodou, která využívá genové bohatství rozličných druhů (rodů) pro zvýšení užitečnosti kulturních rostlin přenosem prakticky významných znaků a vlastností (odolnosti k chorobám, mrazuvzdornosti, vysokého obsahu bílkovin v zrně apod.),
- využívá se k řešení biologických otázek fylogeneze druhů tvorbou resyntetických druhů (objasněn původ švestky, řepky aj.).

První mezidruhové křížence rodu *Nicotiana*, jak již bylo uvedeno, získal v druhé polovině 18. stol. *J. G. Kölreuter*, v druhé polovině 19. stol. získali mezirodové křížence pšenice a žita (triticale) *Wilson* a *Rimpau*, v r. 1924 *Karpečenko* vytvořil křížence *Rahpanobrassica*.

5.2.2.1. Zvláštnosti vzdáleného křížení

Zvláštnosti a obtíže vzdáleného křížení souvisejí zejména se značnou genetickou odlišností křížených komponent. Vzdálené křížení se vyznačuje těmito zvláštnostmi:

- 1) nezkřížitelností a jejím překonáváním,
- 2) sterilitou hybridů F_1 generace a její překonáváním,
- 3) projevem a štěpením v hybridních generacích.

Nezkřížitelnost zvolených komponent křížení je jednou z vážných překážek úspěchů a může mít několik příčin:

a) *prezygotické*, kam lze řadit např. rozdíly v době kvetení, morfologické a anatomické rozdíly ve stavbě pohlavních orgánů, v délce pylové láčky, dále fyziologické zvláštnosti (pyl na blizně neklíčí, pylová láčka neprorůstá, nevyvíjí se zárodek), také ekologické příčiny (nevhovující povětrnostní podmínky), a zejména pak cytologické rozdíly, tj. nestejný počet chromozomů a jejich odlišný genetický obsah. Úspěch také závisí na tom, který partner byl zvolen za mateřský a který za otcovský.

b) *postzygotické*, kam lze zařadit příčiny narušení vývinu embrya a endospermu vedoucí k somatoplastické sterilitě, k eliminaci chromozomů, k tvorbě nedokonale vyvinutého (scvrklého) a neklíčivého zrna. Hlavní příčiny uvedených poruch jsou nejčastěji cytologické, např. změny v poměrech počtu chromozomů zárodek : endosperm : nucleus.

Rozdílné genomy a počet chromozomů rodičovských párů jsou nejčastější příčinou jejich nezkřížitelnosti. Při homologii genomů a rozdílném počtu chromozomů o úspěchu rozhodují kvantitativní faktory, při stejném počtu chromozomů rozdílných genomů

rozhodují kvalitativní rozdíly rodičovských genomů. O úspěchu mohou rozhodovat kvantitativní i kvalitativní faktory současně v případě, že křížené druhy náleží ke stejnému rodu.

Metod k překonání pre- i postzygotických překážek zkřížitelnosti je mnoho a vycházejí z odstranění jejich příčin. Dekapitace blizny, potření blizny cukerným roztokem, opylování směsí pylu více odrůd, opylování starších blizen aj. vedou ke klíčení pylové láčky a k oplození. Různá ploidita komponent se řeší haploidizací či polyploidizací, inkompatibilita fyziologická či genetická se odstraňuje pomocí genetického mostu (metoda prostředníka), k novějším metodám patří včasná extirpace a dopěstování zárodku na živné půdě *in vitro*.

Barieru pohlavní inkompatibility lze obejít somatickou hybridizací (viz kap. 5.4), při které dochází ke splynutí protoplastů různého původu. Regenerace vzniklé buňky po splynutí protoplastů může vést ke vzniku hybridních rostlin s genetickou informací od obou představitelů druhů (rodů).

Sterilita hybridů F₁ generace (snížená fertilita) je častým jevem při zdařilém vzdáleném křížení. Neplodnost se projevuje v haplontní fázi např. sterilním a nefunkčním pylem a nefunkčním zárodečným vakem. Nejčastější příčiny jsou ve změně funkci gamet související s nepravidelným redukčním dělením při spojení různého počtu chromozomů a ve vzniku nesbalancovaných gamet. V diplontní fázi rostlina netvoří semena. Příčiny mohou být v anomáliích generativních orgánů, v absenci květů a v poruchách tvorby zárodku v semeni.

Hlavní příčiny uvedených poruch souvisejí většinou s cytologickou disharmonií, s poruchami v konjugaci chromozomů v meiosis a se vznikem univalentů, a dále s nesouladem mezi cytoplasmou a jádrem.

Polyploidizace rostlin generace F₁ může vést k tvorbě plodných amfidiploidů:

příklad : *Triticum aestivum* x *Secale cereale*
 AABBDD RR
 2n = 42 2n = 14

F₁ - neplodná
 ABD
 2n = 28 (21+7)

polyploidizací k vytvoření amfidiploida
 AABBDDRR
 2n = 56
 (triticale, žitovec)

Amfidiploidie rostlin F₁ generace je osvědčenou a vhodnou metodou k získání plodných a konstantních rostlin spojující znaky a vlastnosti rodičovských komponentů.

Při částečné životnosti samičích gamet rostlin F₁ lze k překonání sterility využít zpětné křížení s jedním z rodičů. Příkladem je vyšlechtění nových odrůd mezirodových hybridů jílku mnohokvětého s kostřavou rákosovitou:

Lolium multiflorum x *Festuca arundinacea*
 2n = 14 2n = 42

hybrid F₁ x *Festuca arundinacea*

$2n = 42$
festucoidní typ (odrůda Felina)

hybrid $F_1 \times \textit{Lolium multiflorum}$
 $2n = 28$
loloidní typ (odrůda Bečva)

Včasná extirpace vzniklého zárodku a jeho kultivace v živném substrátu (v podmínkách *in vitro*) může vést k regeneraci v celistvou rostlinu a je tedy další cestou k překonání neplodnosti.

Zvláštnosti v generacích F_1 a F_2 .

Ze zvláštností v **projevu a ve štěpení vzdálených hybridů** jsou často významné rozdíly v morfologické charakteristice znaků a vlastností. Častý je výrazný *intermediální* vzhled generace F_1 např. ve výšce rostliny, v počtu klásků apod. Intermediální charakter generace F_1 se projevuje také ve fyziologických vlastnostech. Vyskytuje se *matroklinita* znaků podmíněná cytoplasmatickými vlivy mateřského rodiče, nebo *patroklinita* vyvolaná dominancí znaků nebo větším počtem alel při vyšším počtu chromozomů jednoho z rodičů. U mnoha znaků generace F_1 se vyskytuje heteroze.

Rostliny **generace F_2** se zpravidla vyznačují neúplnou fertilitou, nepravidelnostmi ve štěpení (bez zákonitostí), silnou variabilitou ve znacích a vlastnostech s výskytem i rodičovských fenotypů. Stabilita nastává až v následných generacích po selekci stabilních typů.

Potomstvo vzdálených hybridů se vyznačuje větší genetickou proměnlivostí, která je tím větší, čím byly rodiče geneticky vzdálenější.

5.2.2.2. Některé výsledky vzdáleného křížení

Výsledků dosažených vzdáleným křížením je řada. Byl docílen přenos genů hospodářsky významných vlastností např. odolnosti k chorobám, vyšší zimovzdornosti, odolnosti suchu aj. Byly vyšlechtěny linie s chromozomy jiných druhů (adiční linie pšenice) a se segmenty cizích chromozomů (translokované linie pšenice). Tak byly převedeny jednotlivé chromozomy žita do *Triticum aestivum* i *T. durum*, chromozomy II a III zvyšovaly odolnost proti padlí a rzi plevové. Přenos genu odolnosti ke rzi travní SrTm₁ z *Triticum monococcum* do *Triticum aestivum* popsali VALKOUN, KUČEROVÁ a BARTOŠ (1986).

Vzdáleným křížením za spolupůsobení ionizačního záření byly přeneseny fragmenty chromozomů do jiného druhu. Např. do chromozomu pšenice obecné byl přenesen segment chromozomu *Aegilops umbelata* s genem odolnosti ke rzi, podobně byl přenesen segment chromozomu žita s odolností ke rzi, nebo segment chromozomu *Agropyrum elongatum*. Byly získané linie pšenice se zaměněnými chromozomy jiného druhu (substituční linie).

Cenné výsledky byly dosaženy v mezidruhovém křížení u pšenice (*Triticum aestivum* x *Triticum durum*), u brambor ke křížení se využily plané a polokulturní druhy např. *Solanum phureja*, *S. andigenum* (vyšší škrobnatost a odolnost k hádřátku aj.). Výsledky jsou u slunečnice (*Helianthus annuus* x *Helianthus tuberosus*), u cukrové řepy byly např. využity druhy *Beta lomatogena* a *B. patellaris* při šlechtění jednosemennosti klubíček, u pícních trav je využíván hybridní jilek (*Lolium perene* x *Lolium multiflorum*),

výsledky jsou u zelenin a ovocných dřevin.

Úspěchy byly dosaženy i v mezirodovém křížení. Ve skupině obilovin jsou pro křížení nejčastěji používané rody: (*Triticum*, *Aegilops*, *Secale*, *Agropyron*), (*Hordeum*, *Elymus*), (*Zea*, *Tripsacum*, *Euchlena*). Nejznámější je pšenično-žitný hexaploidní i oktoploidní hybrid známý jako *Triticale*, známý je i pšenično-pýrný hybrid. Hybridy daly vznik řadě odrůd. Úspěchy jsou u brukvovitých (*Brassica*, *Raphanus*), u rajčat, cibule, salátu aj.

5.3. HETEROZNÍ ŠLECHTĚNÍ

Heterozní šlechtění je šlechtitelská metoda používaná pro vyšlechtění hybridních odrůd typu F₁ hybridů a syntetických populací. Posláním heterozního šlechtění je vzájemným kontrolovaným křížením rodičovských komponent (odrůd, linií, klonů) docílit u vyšlechtěných odrůd projev heterozní síly (heteroze).

Heteroze je biologický jev projevující se zvýšenou zdatností a vitalitou, zvýšenou produkcí (obr. 5.3.1) v první dceřinné generaci (F₁), která vznikne po zkřížení geneticky rozdílných rodičovských komponent s dobrou kombinační schopností (KS). Rodičovské komponenty jsou zpravidla odrůdy a inzuchtované (inbrední) linie. Heteroze se může projevit i při vzdáleném křížení.

Specifické rysy heteroze:

- heteroze se projevuje hlavně u kvantitativních znaků, např. větší mohutností rostlinných orgánů, vyšším výnosem hmoty, zrna apod., ale také i větší raností a zvýšenou odolností k chorobám,
- vyskytuje se v nejmladším věku rostliny a většinou setrvává po celý její život,
- heteroze se vyskytuje bez ohledu na ploidii hybridu,
- nejvyšší projev heteroze je v F₁ generaci, rozmnožováním dalších generací se výrazně ztrácí Hybridy nelze tedy přemnožovat, ale jen z vybraných komponent znovu vytvářet,
- nejvyšší heteroze vzniká při křížení komponent s nejlepší kombinační schopností,
- převažuje heteroze kladného charakteru (může být i záporná) a vyjadřuje se převýšením hodnoty znaku (vlastnosti), a to buď proti průměrné hodnotě rodičů $\bar{x}P$ (tzv. hypotetická heteroze) s vyjádřením:

$$\text{heterozní efekt v \%} = \frac{\bar{x}F_1 - \bar{x}P}{\bar{x}F_1} * 100,$$

nebo k lepšímu rodiči P_L (tzv. pravá heteroze) s vyjádřením:

$$\text{heterozní efekt v \%} = \frac{\bar{x}F_1 - P_L}{P_L} * 100.$$

P - rodič (parent)

Heterozní efekt je vyjádřením heteroze a udává se v procentech u znaků a vlastností, které lze měřit (výška rostlin), počítat nebo vyjádřit hmotností (výnos zrna, sušiny ap.). Z hospodářského hlediska se sleduje hlavně výnos a pěstitelská hodnota hybridu.

5.3.1. Historie a genetický výklad heteroze

Heterozní jev zjistil *J. G. Kölreuter* (1763) s označením luxuriace u mezidruhových hybridů tabáku. Příznivé účinky cizího opylení poznal *Ch. Darwin*. *W. J. Beal* (1878 a 1880) mezidruhovým křížením kukuřice získal vyšší výtěžek, *E. M. East* a *H. K. Hayess* (1912) navrhli výrobu hybridního osiva. Termín heterozis zavedl *Shull* (1914). Průkopníky rozšiřování hybridů kukuřice byli *East*, *Shull* a *Jones*, v letech 1930 v USA bylo 30 % plochy zaseto hybridy kukuřice a po 2. světové válce téměř celá plocha.

Pro *genetický výklad* heteroze existuje několik hypotéz (viz genetika), přesto dosud tento jev není zcela vysvětlen. Podle *ŠINSKÉ* (1981) je heteroze jev podmíněný alelickými a nealelickými interakcemi genů, zahrnující dominanci, superdominanci, epistázi a mnohonásobný alelismus, vazbu polygenních systémů aj. Protože jde o neaditivní účinky polygenů, nelze tyto účinky a tím i heterozu selekčně fixovat a nelze odhadovat ani výši heteroze.

Možnosti fixování heteroze v dalších generacích však existují. Musí být využit systém zajišťující stálé předávání a uchovávání heterozygotního genotypu v dalších generacích, to lze docílit vegetativním rozmnožováním generace F₁ (brambory, ovocné stromy), partenogenezí, alopolyploidii u vzdálených hybridů, tetraploidii. Jistá fixace heteroze nastává také v syntetických populacích.

Nositel heterozního efektu je hybridní osivo, které vzniká kontrolovaným křížením rodičovských komponent. Rostliny vyrostlé z hybridního osiva jsou tedy heterozygotní. Heteroze se vztahuje k heterozygotnímu stavu hybridu. Čím jsou rodičovské komponenty geneticky odlišnější, tím lze očekávat vyšší stupeň heterozygotnosti. Mezi stupněm heterozygotnosti a produktivností je úzká souvislost, zejména u cizosprašných rostlin. U určitých druhů je heteroze pro určitý znak tím vyšší, čím komplexnější je její projev a čím více koreluje s životností (fitness). Proto je heteroze pro výtěžek několikrát vyšší než pro výšku rostliny (*CHLOUPEK*, 1995).

5.3.2. Praktický význam heteroze, možnosti využití

Cílem heterozního šlechtění je vyšlechtit hybridní odrůdy s maximálním projevem heteroze, tj. s maximálním heterozním efektem. Z tohoto hlediska jde o progresivní, úspěšnou a ekonomicky významnou šlechtitelskou metodu, zejména pro cizosprašné a částečně cizosprašné druhy. Šlechtění hybridních odrůd je nejúčinnější metodou genetického zlepšení užitné hodnoty plodin. Počet hybridních odrůd u polních i zahradních plodin se také neustále zvyšuje (viz obr. 3.2. v kapitole 3.), přesto u mnoha plodin není hybridní šlechtění zavedeno, protože chybí vhodný mechanismus zajišťující kontrolované opylování.

Heteroze se záměrně využívá ve šlechtění hybridních odrůd typu **F₁ hybridů** a **syntetických populací** (odrůd).

Při uplatnění heterozního křížení u *cizosprašných* druhů lze výhodně využít přirozené mechanismy cizosprašnosti, přirozené heterozygotnosti a přirozeného způsobu opylování větrem nebo hmyzem.

Heterozu je možné využívat i u druhů *samosprašných*. U této skupiny plodin je nutné kromě kastrace květů provádět i umělé opylování, zpravidla ručně. Je využívána jen u těch plodin, které se snadno kastrují a tvoří hodně semen a pro založení produkční plochy vyžadují poměrně málo semen (např. rajčata, paprika, tabák apod.). Zvýšené náklady na výrobu hybridního osiva mají tak zaručenou návratnost. Výrobu hybridního osiva ulehčuje vhodná technika (sběrače pylu, mechanické opylovače), pylová sterilita,

např. u rajčat se využívá tzv. funkční pylová sterilita (TRONÍČKOVÁ, 1967). Znamé jsou snahy o využití heteroze šlechtěním hybridních odrůd i u samosprašné pšenice na bázi pylové sterility, metodu popisuje BOHÁČ (1990). Byly dokonce vyšlechtěny hybridní odrůdy pšenice, avšak pro vysokou cenu osiva se v praxi příliš neujaly. Podle CHLOUPKA (1992) se u hybridní pšenice počítá s trojnásobnou cenou osiva a odrůda by měla poskytovat nejméně o 10-15 % vyšší výnos.

5.3.2.1. Šlechtění F_1 hybridů

Jak již bylo uvedeno, F_1 hybrid je první generace po křížení rodičovských komponent a vykazuje nejvyšší heterozní efekt. Pokud jsou rodičovské komponenty homozygotní (linie), pak hybrid F_1 generace je ve znacích uniformní (vyrovnaný), i když je ve své genetické struktuře heterozygotní. Hybrid nelze množit do dalších generací, neboť by docházelo k výraznému snižování úrovně heteroze a ke ztrátě vyrovnanosti.

Nutností je opakovaná příprava hybridní F_1 generace při zachování stejných kombinací rodičovských komponent (souvisí s tím nutnost jejich udržování a množení bez změn genetického základu a úrovně). Příprava hybridů je náročná práce a proto i cena hybridního osiva je vysoká. Musí ale zajistit pěstiteli vyšší finanční přírůstek výnosu proti tradičním odrůdám, aby byla zaručena návratnost vyšších nákladů na výrobu hybridního osiva.

Předpoklady pro úspěšné uplatnění heteroze u rostlinných druhů jsou :

- zvýšená vitalita v souladu s hospodářskou prospěšností plodiny,
- možnost samosprašení (inzucht a homozygotizace) k získání linií vhodných ke křížení,
- snadná výroba hybridního osiva, tzn. že kastrace květů, křížení a způsob opylování jsou technicky snadné a levné,
- možnost zajištění a současně i kontroly požadovaného směru křížení (opylování přirozeným způsobem, využití pylové sterility, autoinkompatibility apod.)
- možnost indukce a využívání pylové sterility,
- vysoká produkce semen (velký množitelký koeficient) a nízká potřeba hybridních semen k založení porostu F_1 generace.

Uniformita generace F_1 zabezpečuje vysokou výtěžnost velikostně vyrovnaného produktu u těch plodin, u kterých je žádoucí vysoká vyrovnanost, např. u plodů rajčat a papriky, zeleniny apod.

Obr. 5.3.1.: Projev inzuchtní deprese a heteroze v F₁ generaci.

Výběr rodičovských komponent

CHLOUPEK (1995) zdůrazňuje, že pro vývoj rodičovských komponent je nutné využívat výchozí materiál vysoce výkonný, s dobrou kombinační schopností, který by měl náležet ke geneticky odlišným zdrojům (gene-pool).

Kriteriem vhodných rodičovských komponent heterozního křížení je jejich *kombinační schopnost* (KS), neboť je předpokladem vzniku heteroze. Výběr rodičovských komponent na základě jejich KS předpokládá a vyžaduje prověrku úrovně heterozního efektu F_1 generace z různých kombinací křížení.

Výběr vhodných rodičů hybridu tedy zahrnuje zjištění kombinační schopnosti komponent a u vybraných pak jejich množení pro opakované křížení.

Druhy kombinační schopnosti, jejich definice a stanovení:

a) **obecná KS** (OKS, general combining ability - GCA) je definována jako hodnota heteroze potomstva mateřské komponenty po křížení s jinými komponenty v porovnání s průměrnou heterozí všech hybridních kombinací testovaných komponent.

Projevuje se např. jako vyšší či nižší výkonnost kříženců určitého mateřského komponenta v porovnání s kříženci jiných kombinací, resp. v porovnání s průměrnou heterozí všech kombinací.

OKS se zjišťuje:

a) dialelním křížením mnoha komponent (odrůd, linií),

b) cyklickým křížením (top-crosses, vrcholovým křížením), při němž se všechny testované mateřské komponenty nakříží se společným otcovským komponentem, tzv. testerem (analyzátozem). Použije-li se tester se širokým genetickým základem, např. odrůda či hybrid, pak výkonnost potomstev po křížení charakterizuje efekty OKS. Je-li testerem genetický úzký materiál (linie, klon), pak výkonnost potomstev charakterizuje i SKS. Výhodné je používat více testerů. Řádky testovaných linií např. kukuřice, se střídavě vysévají s testerem.

c) hromadným křížením (poly-cross testem), při kterém se hodnotí potomstva po křížení vzniklá opylením stejnou směsí pylu, tj. pylem všech zkoušených komponent. Využívá se hlavně pro testování OKS při šlechtění syntetických populací (viz kap. 5.3.2.2.)

Způsoby získání hybridního osiva pro testování OKS jsou znázorněny na obr. 5.3.2.

Ve všech případech křížení následuje prověrka úrovně heterozního efektu potomstev F_1 příslušných kombinací v přesných pokusech, obvykle v přesných zkouškách výkonu.

Genetická podstata OKS spočívá v aditivním účinku aktivních alel polygenů. Má tedy i selekční hodnotu.

b) **specifická KS** (SKS, specific combining ability - SCA) vyjadřuje schopnost poskytnout heterozní efekt jen v určitých konkrétních kombinacích křížení.

SKS se jeví se jako odchylka heteroze určité kombinace komponent od průměrné hodnoty všech testovaných kombinací. Nejvyšší heterozní efekt se vytváří jen při určité kombinaci komponent.

SKS se stanovuje jen systémem dialelního křížení přímého, případně i reciprokého.

Geneticky je SKS kontrolována neaditivními účinky polygenů (dominancí, superdominancí, interakcemi) s výraznějším vlivem podmínek prostředí.

Matematické modely analýzy kombinační schopnosti vypracoval *Griffing* v roce 1956 na základě dialelního křížení linií. První metoda vychází z úplného dialelního křížení,

druhá z rodičů a přímých hybridů, třetí z reciprokých hybridů a čtvrtá jen z přímých hybridů.

Při analýze se vychází ze vztahu, že hodnota hybrida je

$$\bar{x}_{ij} = u + g_i + g_j + s_{ij}$$

Výraz říká, že průměrná hodnota hybrida mezi liniemi i - j se rovná součtu průměrného populačního efektu u a efektů OKS i -té a j -té linie a efektu SKS i^*j kombinace (HABĚTÍNEK, GRAMAN, 1984).

Obr. 5.3.2.: Způsob získání hybridního osiva pro hodnocení OKS (CHLOUPEK, 1995)

Druhy F₁ hybridů

Hybridy lze dělit:

a) podle rodičovských komponent rozlišujeme hybridy:

- *meziodrůdové*, které vznikají křížením odrůd. Vykazují zpravidla nejnižší heterozní efekt (10 - 15%), vyšší je při volbě odlišných odrůd s dobrou KS.

- *meziliniové*, které vznikají křížením linií vybraných podle prověřené úrovně KS. Předností je vyšší heterozní efekt v F₁ generaci (25 - 40 %), opakovatelnost a stálost hybrida po dobu jeho používání. Předpokladem je vyšlechtění linií (např. inzuchtovaných linií u cizosprašných plodin), jejich udržování a množení pro opakované křížení.

Podle počtu zúčastněných linií na tvorbě hybrida rozeznáváme hybridy:

| | | |
|-------------|-------------------|-------------------|
| dvouliniové | (A x B) | Single cross - Sc |
| tříliniové | (A x B) x C | Triple cross - Tc |
| čtyřliniové | (A x B) x (C x D) | Double cross - Dc |

- *odrudoliniové, linioodrudové*, které vznikají křížením odrůd a linií,
- *modifikované*, které vznikly inovovanými postupy u jednoduchých i složitých hybridů (MSc, MTc, MDc) s využitím tzv. sesterských (úzce příbuzných) linií,
- *sesterské* SLc ($A_1 \times A_2$) a *zpětné* hybridy Bc ($A \times B$) \times A či ($A \times B$) \times B.

b) podle počtu rodičovských komponent

hybrid jednoduchý - ze 2 komponent

hybrid složitý - ze 3 komponent

hybrid ze 4 komponent (dvojitý)

Hybridní šlechtění je tím výhodnější, čím větší je heteroze a čím větší je variance SKS ve šlechtitelském materiálu. K dispozici musí být vhodný hybridní mechanismus, tj. ekonomicky výhodný postup ke kontrolovanému křížení komponent pro produkci hybridního osiva (CHLOUPEK, 1992).

Produkce hybridů pro praktické využití předpokládá udržování a rozmnožování výchozích rodičovských komponent a výrobu hybridního osiva po dobu povolení (registrace) hybrida.

Obr. 5.3.3.: Postup získání dvouliniových a čtyřliniových hybridů (BOHÁČ a kol., 1967)

Šlechtění linií

Šlechtění linií jako rodičovských komponent pro heterozní křížení tvoří součást heterozního šlechtění a přichází hlavně v úvahu u cizosprašných druhů. Linie lze vyšlechtit opakovaným samosprašováním, tj. opylováním vlastním pylem, tzn. *inzuchtem* (inbreeding, selfing), nebo pylem geneticky nejvíce příbuzných jedinců (souruzenců, polosouruzenců). Podmínkou je autofertilita. Po 6 generacích samoopylení je na každém původně heterozygotním lokusu již s 98 % pravděpodobností homozygotní stav, což pro vznik linie postačuje. Součástí opakovaného inzuchtů je přísný výběr na žádoucí znaky a vlastnosti linií z hlediska šlechtitelského cíle. Tímto postupem se vyšlechtí tzv. inzuchtované (inbrední) linie.

U autoinkompatibilních nebo dvoudomých druhů je podle CHLOUPKA (1995) nejvýhodnější k získání linií použít opakované vzájemné křížení identických sourozenců.

Inzucht vede k postupné homozygotizaci původně heterozygotního genotypu. Projevy inzuchtů jsou:

a) *genetické*:

- homozogotnost (spolu s narušením genové rovnováhy),
- homozygotizace letálních a subletálních genů a alel,

b) *fenotypové*:

- růstová deprese a snížená vitalita,
- vznik chlorofylových defektů a morfologických deformit,
- snížený výnos, snížená výška rostlin, malá zrna, méně listů aj.

Rostlinné druhy reagují na inzucht různě, více či méně výrazně. Inzuchtované linie jsou geneticky vyrovnané (homozygotní), navzájem od sebe odlišné, se sníženým výnosem a se sníženou vitalitou i adaptabilitou.

Výchozím materiálem pro šlechtění linií mohou být krajové odrůdy (pokud jsou k dispozici), šlechtěné odrůdy i hybridní odrůdy, inzuchtované linie nebo klony. Měly by se vyznačovat vysokou výkonností, širokou genetickou variabilitou, kvalitou, odolností k chorobám apod.

Metody liniového šlechtění

Pro vyšlechtění linií je vypracováno několik metod a postupů. Je vypracován postup pro šlechtění linií kukuřice se současnou prověrkou KS a vhodnosti linií do hybridních sestav, jehož princip je použitelný i pro jiné druhy. Jedná se o tzv. **standardní metodu** (obr. 5.3.4.), která zahrnuje:

- a/ výběr nejlepších rostlin k opakovanému inzuchtů (5-6 generací) spojeného s kontrolou fenotypu,
- b/ zkoušku linií na OKS,
- c/ testování SKS linií.

Jinou možnost vyšlechtění linií představují *haploidní techniky*, kdy v podmínkách in vitro z prašníků (androgeneze) nebo z vajíček (gynogeneze) regenerují haploidní embrya, které po indukovaném (spontánním) zdvojení chromozomů poskytují zcela homozygotní rostliny, tzv. **dihaploidní linie**. Postup umožňuje vyšlechtit izogenní linie za nepoměrně kratší dobu (za 3 - 4 generace).

Obr. 5.3.4.: Schéma meziliniové hybridizace podle Rundfeldta (ROD a kol., 1982).

Stávající linie lze vylepšovat a zdokonalovat ve znacích a vlastnostech *konvergentním křížením* linií a častěji metodou *zpětné selekce* (rekurentní selekce).

Konvergentní křížení (viz kap. 5.2) využívá zpětného křížení ke zlepšení inzuchtovaných linií, které tvoří sestavu F_1 hybridu. Např. u jednoduchého hybridu $A \times B$ se získají rostliny F_1 a ty se zpětně zkříží s linií A, získá se BC_1F_1 . Rostliny této generace se samoopylí a vyberou se nejlepší. Jejich potomstvo se pěstuje odděleně v řádcích a nejlepší rostliny se opět zpětně kříží s linií A a získá se BC_2F_1 . Vše se opakuje a poslední generace BC_nF_1 se samospráší a získané nejlepší linie (A^*) se zkříží s původním partnerskou linií B. Stejně lze postupovat recipročně, u složitých hybridů lze princip použít u všech rodičovských linií. Konvergentním křížením linií se selektují dominantní alely, které se projeví v každé zpětné generaci (CHLOUPEK, 1995).

Rekurentní selekce obecně slouží ke zvýšení frekvence žádoucích genů a ke vzniku nových rekombinací. Metoda je vhodná pro genetické zlepšení populace, která bude výchozí pro selekci nových linií se zlepšenými znaky a vlastnostmi. Podrobnější popis metody je v kapitole 6.2.

Způsoby a metody kontrolovaného opylování

Výše heterozního efektu hybridních rostlin generace F_1 závisí na stupni a dokonalosti opylení mateřského komponenta pylem komponenta otcovského (opylovače). K zajištění vysokého stupně opylení žádoucím opylovačem je možné využít několik metod kontrolovaného opylování (hybridních mechanismů):

- a) využívání signálních znaků (genetických markerů) s dominantním základem u otcovského komponenta, jejichž výskyt u F_1 generace signalizuje zdařilou hybridizaci (př. voskový povlak na listech zelí). Důkaz o stupni hybridnosti F_1 generace lze získat pomocí elektroforézy proteinových markerů, např. u hybridů kukuřice.
- b) autoinkompatibilita (AIK),
- c) pylová sterilita.

Autoinkompatibilita a pylová sterilita vylučují nutnost kastrace samičích květů a tím zpřesňují a zabezpečují cizosprášení.

Je několik typů geneticky podmíněné pylové sterility:

- *jaderný* (genový - GMS) typ je vyvolán jadernými geny a podmíněný mutovaným genem fertility ($Rf \rightarrow rf$). Pylově sterilní jedinec má v lokusu genovou sestavu rf/rf a jeho uchování (množení) se zajistí křížením genotypů (rf/rf) \times (Rf/rf) s vyšťepováním 50 % genotypů rf/rf .

- *cytoplasmatický*, podmíněný mutací faktoru plasmogenu fertility N na faktor sterility S. Tento typ sterility se dědí čistě matroklinně. Byla zjištěna např. u vojtěšky, mrkve a má původ v mitochondriální DNA.

- *cytoplasmaticko - jaderný* typ označován jako CMS vznikající interakcí jaderného a cytoplasmatického systému, vyjádřený genotypem (S) rf/rf . CMS systém umožňuje obnovu fertility dominantními jadernými geny (Rf geny - Restorer of fertility) - viz obr. 5.3.5.

Opylení udržovatelem (nebo neobnovitelem, bez Rf genů) zůstává CMS v celém systému zachována. Tak je možné získat osivo sterilního mateřského komponenta. Nakřížením s obnovitelem fertility (N) Rf/Rf , se CMS sterilita v potomstvu zcela nebo částečně odstraní, respektive se obnoví pylová fertilita, a to v závislosti na počtu a účinnosti Rf genů, na genetickém pozadí obnovitele a na podmínkách prostředí.

Tento typ pylové sterility se používá nejčastěji, např. u kukuřice je znám ve 2 formách, buď jako texaský typ T nebo S. Při přenosu do vynikajících linií nesnižuje výnos. Cytoplasmaticko-jaderná pylová sterilita se vyskytuje a využívá u vojtěšky, cukrovky, cibule aj. U cukrovky a cibule však odpadá nutnost obnovy fertility hybridu, neboť obchodním produktem není semeno.

Interakce plazmotypu a genotypu u CMS systému je následující:

| plazmotyp | genotyp | fenotyp |
|-----------|-------------|----------|
| S | <i>rfrf</i> | sterilní |
| | <i>Rfrf</i> | fertilní |
| | <i>RfRf</i> | fertilní |
| N | libovolný | fertilní |

S- plazma indukující sterilitu, N - normální plazma, *Rf* - restorer
(upraveno podle CHLOUPKA, 1995)

Obr. 5.3.5.: Využití pylové sterility při tvorbě hybridních odrůd (BRIGGS, KNOWLES, 1967, cit. CHLOUPEK, 1995).

Pylová sterilita se projevuje např. degenerací prašníků, neotvíráním prašníků, abortivním a neživotným pylem. Byla nalezena u řady druhů plodin jako spontánní či indukovaná mutace a je využívána v heterozní šlechtění.

Jak již bylo uvedeno, pro heterozní šlechtění má největší význam pylová sterilita typu CSM. Její využívání předpokládá:

- vyšlechtění pylově sterilní linie, jako analoga linie pylově fertilní,
- možnost množení pylově sterilní linie pomocí fertilního analoga,
- přenášení pylové sterility do další generace udržovatelem sterility,
- zařazení sterilní linie v systému produkce hybridů,
- obnova pylové fertility v generaci F_1 obnovitelem fertility.

Při šlechtění tzv. *sterilního analoga fertilní linie* se vychází z populace pylově fertilních rostlin s normální cytoplasmou (N) ale s alelou pro uchování sterility (*rfrf*). Nalezená pylově sterilní rostlina (může být i jiný zdroj pylové sterility) se opyluje pyly linie pocházející z výchozí populace a získá se hybrid s mateřskou cytoplasmou S a alelou *rfrf*, který je sterilní. Asi 4x opakovaným stejným křížením (tedy zpětným křížením) se získá pylově sterilní linie se znaky a vlastnostmi výchozí linie, tj. žádaný sterilní analog fertilní linie.

Schématické znázornění postupu:

$$\begin{array}{ccc} \text{zdroj pylové sterility} & \times & \text{linie A} \\ (S)rfrf & & (N)rfrf \end{array}$$

$$F_{1st} (S)rfrf$$

$$4x BC$$

$$\downarrow$$

$$A^* - \text{sterilní analog linie A}$$

Pylově sterilní linie A^* se rozmnožuje křížením s fertilní linií $A^* \times A$, tzn. $(S)rfrf \times (N)rfrf = (S)rfrf$. Přenos pylové sterility do generace S_{CAB} zabezpečí linie B s genotypem udržovatele pylové sterility $(N)rfrf$. Obnovení pylové fertility se zajišťuje křížením s linií (resp. s S_c) s geny *Rf* pro obnovu fertility (viz obr.5.3.5. a 5.3.6.).

Nové poznatky ukazují, že místo zdlouhavého zpětného křížení bude možné uskutečnit přenos CMS do mateřského genomu technikou fúze protoplastů, což se jak uvádí CHLOUPEK (1992) údajně podařilo u tabáku, brambor a rýže.

Hybridní odrůdy typu hybridů F_1 se využívají u řady plodin, např. u kukuřice, u níž je nejvíce propracovaný a používaný postup šlechtění, dále u čiroku, slunečnice, žita, cukrovky a krmné řepy a řady druhů zelenin (zelí, cibule, mrkev, růžičková kapusta, rajčata, paprika) a květin (petunie, hledíky, bramboříky aj.).

Obr. 5.3.6.: Využití CMS u kukuřice. (S)mm = sterilní forma, (N)mm = udržovatel sterility, (N)MM = obnovitel fertility, (N)mM = fertilní heterozygoti (hybridi), (S)mM = úplní obnovitelé, gen M je identický s genem Rf (BOHÁČ a kol., 1967).

Další alternativou je využívání sporofytické a gametofytické **autoinkompatibility**

(AIK), která vychází z toho, že rostliny stejného AIK genotypu mají zábrany v opylování vlastním pylem. Hybrid tudíž může vzniknout jen setkáním pylu dvou rozdílných AIK genotypů. Systém AIK není zatím příliš rozšířený, neboť největším problémem je množení rodičovských komponent. Vyvíjejí se cesty překonávání AIK, např. u zelí a některých jiných brukvovitých opylováním v poupatech, u trav a *Chenopodiaceae* je možné opylení při zvýšené či snížené teplotě (CHLOUPEK, 1992).

5.3.2.2. Šlechtění syntetických populací

Syntetická populace (odrůda) je uměle složená populace z většího počtu odlišných genotypů (inzuchtovaných linií, klonů) předem prověřených a vybraných podle KS.

ROD a VONDRÁČEK (1982) definují syntetickou populaci jako populaci vznikající vzájemnou hybridizací vybraných genotypů ve všech možných kombinacích a která je rozmnožována za podmínek náhodného opylení, prostorové izolace během určitého počtu generací, což zaručuje její neměnný genetický základ.

Vzájemné prokřížování (opylování) vybraných genotypů vytváří základ heterozygotní syntetické populace (odrůdy) se značným podílem hybridních semen a udržuje tento stav i v dalších generacích.

Syntetickou populaci, na rozdíl od hybridní odrůdy typu F₁ hybridu, lze množit po několika generacích, přičemž dochází jen k nízkému poklesu heterozního efektu. Jde o jakousi formu fixace heterozního efektu, jak je zřejmé z údajů tabulky 5.3.1.. Nejvyšší pokles výkonu je z generace Syn₁ do generace Syn₂, a výkon se stabilizuje zpravidla v generacích Syn₃ a Syn₄.

Tab. 5.3.1. Průměrný výnos generací syntetických odrůd vojtěšky (t.ha⁻¹ sena) ve srovnání s kontrolními odrůdami (cit. BRIGGS a KNOWLES, 1967)

| Odrůda | Generace | | | | Průměr |
|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|
| | Syn ₁ | Syn ₂ | Syn ₃ | Syn ₄ | |
| z více klonů | 4,43 | 4,30 | 4,21 | 4,18 | 4,28 |
| ze 2 klonů | 4,46 | 4,08 | 4,14 | 4,14 | 4,20 |
| průměr 6 odrůd | 4,16 | 4,16 | 4,15 | 4,11 | 4,15 |

Šlechtění syntetických populací je účelné jen pro plodiny cizosprašné, zejména pro plodiny s možností klonování (trávy, jeteloviny). CHLOUPEK (1986) a UŽÍK (1993) považují tvorbu syntetických populací za nejperspektivnější metodu šlechtění píce.

Předností syntetických populací spočívají v možnosti využívání heteroze po několika generacích, je to levnější metoda a zvláště využitelná u plodin s obtížným (či nemožným) vyšlechtěním linií a obtížnou (nemožnou) technikou kastrace, příp. u plodin, u kterých je indukce a využívání pylové sterility obtížné či nemožné. Předností je stabilita genetické struktury populace a zvýšená adaptabilita.

Nedostatkem je určitá morfologická nejednotnost generací a nižší úroveň heteroze (např. výnosu).

Výnosový či jiný efekt syntetické populace závisí na počtu a na průměrném výkonu rodičovských komponent, na průměrném výkonu možných kombinací mezi rodičovskými komponenty. Důležitou roli hraje tedy dobrá kombinační schopnost rodičovských komponent. Sestavení populace vychází z úrovně obecné kombinační schopnosti (OKS). Pro její stanovení, jak již bylo uvedeno, existuje několik metod a postupů.

Nejvíce používaným postupem k vyšlechtění syntetické populace, včetně vyhodnocení KS potenciálních komponent, je metoda **hromadného křížení** (poly-cross test). Princip zkoušky spočívá v tom, že vybraní jedinci z výchozího materiálu (souboru genotypů- komponent) se po vegetativním namnožení (rozklonování) vysazují na společný záhon (polycrosní blok) tak, aby mohlo dojít k úplnému vzájemnému opylení a tím tedy k vzájemnému prokřížení (obr. 5.3.2.).

Předpokladem vzájemného opylení je převládající cizosprašnost (lépe vyhovuje větrosnubnost), možnost vegetativního množení (klonováním, řízkováním), stejná doba kvetení a dobré podmínky pro opylování (větrem či hmyzem). Metoda hromadného křížení tedy vychází z hodnocení KS potomstev vzniklých křížením shodnou směsí pylu, tj. směsí pylu všech zkoušených komponent. Dobrá KS je předpokladem vzniku heteroze a transgrese v několika generacích syntetické populace.

Možnost vzájemného opylení komponent v bloku hromadného křížení se zajišťuje tím, že se vysazují naklonované sazenice podle určitého systému, v několika opakováních s různým sousedstvím klonů. Každý jedinec je na záhonu přítomen několikrát, takže v několika opakováních přichází do různého sousedství s jedinci ostatních genotypů. Měla by být dodržována zásada, aby nejméně jednou se vyskytlo sousedství (tedy kombinace) ze všech teoreticky možných. Pro názornost je použit příklad testování KS u 4 klonů A, B, C a D uváděný CHLOUPKEM (1995):

| | | | | |
|---------------------------------|---|---|---|---|
| uspořádání klonů v opakováních: | C | A | D | B |
| | B | D | A | C |
| | D | C | B | A |
| | A | B | C | D |

Semeno všech komponent se sklízí samostatně, odděleně podle původu. Osivo se použije k založení zkoušek výkonu (ZV), kde následuje hodnocení vzniklých složitých hybridů generace F₁:

$$A \times (A + B + C + D), B \times (A + B + C + D), \\ C \times (A + B + C + D), D \times (A + B + C + D).$$

Nejvyšší výnos hybridní kombinace prokazuje nejlepší OKS mateřských komponent, jejichž klony (po opětovném vegetativním namnožení) se použijí k založení tzv. hybridizační školky k vzájemnému prokřížení. Generace představuje výchozí generaci Syn₀.

Předpoklad úspěchu spočívá ve využívání více genotypů s dobrou KS k sestavě syntetické populace a co nejnížší pokles heterozního efektu při množení dalších generací. Pro sestavení syntetické populace se doporučuje zařadit v hybridizační školce 6 až 10 komponent s nejlepší KS. Vyšší počet komponent zajišťuje i vyšší podíl hybridních semen v Syn₀, jak je patrné z přehledu:

| počet komponent | podíl hybridních semen v % |
|-----------------|----------------------------|
| 2 | 50 |
| 3 | 66 |
| 4 | 75 |
| 7 | 75 - 100 |

Platí, že čím více komponent sestavuje populaci, tím menší pokles heterozního efektu je v generacích dalšího množení. Pokles výkonu je o 1/n za generaci, n je počet komponent.

Podrobnější popis postupu metody hromadného křížení je v kapitole 6.3.2.. Syntetické populace (odrůdy) se využívají ve šlechtění trav (bojínek luční, kostřava luční, srha laločnatá) a ve šlechtění jetelovin, např. vojtěšky, nově i ve šlechtění odrůd žita.

5.4. MUTAČNÍ A POLYPLOIDNÍ ŠLECHTĚNÍ

5.4.1. Mutační šlechtění

Mutační šlechtění je šlechtitelská metoda, která využívá rostliny s mutovanými znaky a vlastnostmi vzniklými spontánně nebo i uměle a tyto slouží jako výchozí materiál k šlechtitelskému zpracování.

Mutacemi (z latinského *mutare* - měnit) označujeme náhlé, neusměrněné, ale dědičné změny znaků a vlastností. Jde o změny vzniklé na různých úrovních genetické informace, dědičně předávané do dalších generací.

Charakteristika a třídění mutací byly předmětem genetiky, podobně jako historie objevení mutací.

Spontánní (samovolné) mutace, jako důsledek vlivů mutageních účinků faktorů prostředí, měly a mají velký význam v evoluci kulturních rostlin, v jejich domestikaci a v praktickém využívání (pšenice, ječmen). Spontánní mutace se využívají i v současnosti, např. ve šlechtění ovocných plodin a květin. Jejich výskyt je však velmi malý, pro jednotlivé geny s frekvencí asi 10^{-6} .

Užitečnost mutací spočívá ve vhodné změně některého genu (znaku, vlastnosti), většinou při zachování ostatní genetické výbavy. Nový znak nebo vlastnost představuje určitý pokrok ve šlechtitelském záměru, který jinými metodami lze řešit obtížně, nebo nelze řešit vůbec.

Mutační šlechtění jako šlechtitelská metoda má svoji *historii*. Základem jsou práce *H. J. Mullera* (1927), *J. L. Stadlera* (1928) na ječmeni a kukuřici. Rozsáhlé využívání umělých (indukovaných) mutací ve šlechtění je spojeno s pracemi *H. Gaula* (1963) a *A. Gustafssona* (1968).

Období 50. a 60. let tohoto století je začátkem mutačního šlechtění ve světě. U nás v 60. - 70. letech se rozvíjelo využívání účinku ionizačního záření na rostliny a to byl i začátek využívání mutací ve šlechtění. Ke konci tohoto období došlo ke stagnaci v rozvoji metody. V r. 1979 bylo zrušeno gama pole.

V 80. letech se začala využívat mutageneze na úrovni explantátových a buněčných kultur.

Mutageneze, kterou rozumíme umělé vyvolávání mutačních změn, pomáhá rozšiřovat genetickou proměnlivost rostlin. Může přispět k rozšíření genetických zdrojů pro plnění úkolů šlechtitelského programu. Jak již bylo uvedeno, mutageneze ve šlechtění plodin se většinou využívá v těch případech, kdy křížením a jinými metodami nelze dosáhnout žádaného cíle.

Ve šlechtění rostlin měly a mají největší význam genové (bodové) mutace a mutace genomové, tj. kvantitativní změny v počtu chromozomů. Chromozomové aberace a plasmonové mutace mají význam omezený.

5.4.1.1. Metody indukce mutací

Sklon k mutacím je přirozenou vlastností každého organismu. Mutování souvisí se stabilitou genetických struktur, přičemž rozdíl se týká i jednotlivých znaků rostliny. Indukované mutace jsou změny vyvolané uměle účinkem mutagenních faktorů (agens).

Používají se mutageny:

a) **fyzikálního původu** kam řadíme *tepelné šoky*, *neionizující záření* (UV paprsky) narušující molekuly DNA a *ionizující záření* (X, gama záření neutrony aj.), jehož zdrojem jsou rentgen, radioaktivní izotopy a jaderné reaktory nebo urychlovače. Jednotkou dávky je coulomb.kg⁻¹ (C.kg⁻¹). Záření je korpuskulární povahy s vysokou energií, proto rozrušuje chemické vazby a mění organické sloučeniny.

Efekt záření je proporciální množství energie a hloubce jeho pronikání v tkáni. Vzrůstá se zvětšenou hustotou ionizace, nejnižší je u beta částic, vysoký je u gama paprsků, pak následuje rentgenové záření, neutrony a alfa částice.

Záření se aplikuje:

- *akutně*, což je jednorázová krátkodobá aplikace, např. ozářením objektu průmyslovým rentgenem. Ozařují se semena, semenáče, nebo očka, rouby apod. Akutně se např. ovlivňuje rostlinný materiál neutrony v biologickém kanálu atomového reaktoru.

- *chronicky*, tj. po celou dobu vegetace, nebo jen po určitou dobu vegetace (před kvetením), po dobu několika týdnů, měsíců apod., např. na gamapoli.

b) **chemomutageny** - chemické sloučeniny s mutačním účinkem, kterých je celá řada, např. sloučeniny yperitu, alkylační sloučeniny, puriny a jejich deriváty, epoxidy, peroxidy, alkaloidy aj. Podstatou je chemická reakce na úrovni genetické informace. Indukují většinou genové mutace.

Mutageny se aplikují zpravidla na suchá nebo naklíčená semena, na pyl, rouby, očka aj., jako vodní roztoky různých koncentrací (př. EMS 0,1-0,02 %), nebo jako páry (EMS, EI), po určitou dobu (20-30 hod.). Aplikují se také transpiračním proudem prostřednictvím zálivky nebo po injekčním vpravením do vodivých cest rostliny.

5.4.1.2. Uplatnění a detekce mutací

Ovlivněný organizmus reaguje fyziologickou reakcí a změnou genetické informace. Objevují se také efekty stimulace, modifikace a morfózy (nemoci z ozáření), mutagenní efekty a také uhynutí, a to v závislosti na dávce záření či koncentraci mutagenu.

Účinek mutagenu závisí na řadě činitelů vnitřních a vnějších. Citlivost rostlin ve šlechtitelské praxi se vyjadřuje tzv. *radiocitlivostí*, což je schopnost odolávat na letální působení mutagenu. Jako kritická dávka se udává LD₅₀, což je dávka umožňující přežití 50 % ovlivněných rostlin. Na účinek mutagenů má vliv řada faktorů, např. koncentrace O₂ v prostředí, vlhkost, teplota, ontogenetická fáze rostlin, vlhkost semen aj.

Mutageneze se uplatňuje hlavně u samosprašných druhů, neboť se u nich snáze uchovávají recesivní mutace, které se vyskytují ve většině případů. U těchto druhů se mutageneze může využívat jako metoda hlavní, kdy mutant může být odrůdou, i jako metoda doplňková, kdy mutant je využit většinou jako genetický zdroj změněného znaku při křížení.

Mutageneze jako šlechtitelská metoda je použitelná i u vegetativně množených rostlin. Méně vhodná (i když použitelná) je pro cizosprašné rostliny.

Pro detekci mutací vyšších rostlin není propracován obecně platný postup. Je možné využít rodokmenovou metodu, směšovací i jednozrnkovou metodu, nebo testováním v raných generacích, jak bude uvedeno v kap. 6. Ke šlechtitelskému zpracování (screeningu) je třeba početně rozsáhlý soubor rostlinného materiálu, řádově tisíce a desetitisíce.

Při detekci mutací je potřebné dodržovat označení generací. Písmena označují použití agens, jednotlivé generace se označují číselným indexem : obecně M₀ - M_{1-n}, při

použití rentgenového záření $X_0 - X_{1-n}$, záření gama $G_0 - G_{1-n}$, neutronů $n_0 - n_{1-n}$. Při detekci nutné rozlišovat *makromutace a mikromutace*.

a) Detekce makromutací

Makromutacemi se označují fenotypové, dobře pozorovatelné změny znaků či vlastností. Jejich výskyt se sleduje již v generaci M_1 , neboť mohou představovat dominantní mutace (avšak vzácně se vyskytující), častěji jde o rostliny poškozené zářením (tzv. morfózy), nebo rostliny zářením usmrčené. V této generaci jsou i rostliny nejevící žádné změny, ale mohou být nositelkami potenciální mutační změny. Vyskytují se genetické chiméry, které mají část pletiva nesoucí mutaci vedle pletiva původního.

Detekce makromutací u generativně množených rostlin vychází z předpokladu fenotypového projevu změněné alely v generaci M_2 s frekvencí 25 %, což souvisí s teoretickým štěpným poměrem monohybrida po samosprašení.

Domnělé dominantní mutace i vyštěpené recesivní mutace se v dalších generacích ověřují na stálost změněného znaku a vlastnosti.

V dalších generacích se mutace šlechtitelsky zpracovávají a prověřují v řadě hospodářsky významných vlastnostech.

Pro vyhledávání a zkoušení makromutací uvádí VLK (1982) schéma postupu, které je uvedeno na obr. 5.4.1.

b) Detekce mikromutací

Mikromutací rozumíme mutační změnu u kvantitativních znaků, tedy znaků či vlastností, které jsou geneticky kontrolovány polygenně. Pro jejich zjištění musí být k dispozici soubor nejméně 20 - 30 jedinců, u nichž lze změnu znaku či vlastnosti zjistit analýzou souboru. Zjištěnou fenotypovou změnu je nutno porovnávat s výchozí (kontrolní) populací vhodnými statistickými metodami.

K detekci mutantů (i k jejich ověření) lze využívat i elektroforézy bílkovinných markerů.

Jisté zvláštnosti indukce a detekce mutací jsou u vegetativně množených druhů. Mutageneze je v některých případech jediný způsob rozšíření genetické proměnlivosti (česnek, lipnice luční). Zvláštností je vysoký stupeň heterozygotnosti, často polyploidie, apomixie apod. Tkáně snášejí vysokou expozici mutagenů, vzniklé mutační změny jsou somatické mutace a je častý výskyt chimér v M_1 generaci.

5.4.1.3. Mutageneze na úrovni explantátových kultur

Mutageneze lze použít u meristémových kultur. Velkou předností je vznik nechimérických mutantů, u zygotických embryí, u buněčných a protoplastových kultur. Detekce vzniklých mutací vyžadují speciální postupy a metody. Otázka selekce a mutace na *in vitro* úrovni je obsahem předměru Rostlinné biotechnologie.

5.4.1.4. Praktické výsledky mutačního šlechtění

Bylo vyšlechtěno několik nových odrůd na základě mutageneze, tj. využitím přímých mutací, avšak jejich podíl je celkově malý. V literatuře se uvádí, že je jich jen několik set, a to zejména u samosprašných obilovin, u hrachu a některých dalších plodin. U jarního ječmene byly vyšlechtěny odrůdy ve Švédsku, v Německu, v Rakousku, v Holandsku. V domácích podmínkách je velmi známá odrůda Diamant (získaná po ozáření

3,870 C.kg⁻¹ jakostní odrůdy Valtický), která se vyznačovala zkráceným stéblem o 15 cm, s odolností k poléhání, zvýšeným výnosem zrna o 12 % a dobrou sladovnickou jakostí. Dala základ vyšlechtění domácích odrůd tzv. "diamantové řady". Bylo vyšlechtěno několik odrůd pšenice, ovsa a rýže. Rovněž několik odrůd hrachu, hlavně ve Švédsku. Nízký podíl vyšlechtěných odrůd svědčí o malé účinnosti metody mutagenese. Mutacemi se podařilo zvýšit obsah kyseliny olejové a linolové u slunečnice, u řepky snížit obsah kyseliny linolové pod 4 % (cit. CHLOUPEK, 1995).

Obr. 5.4.1.: Vyhledávání a zkoušení mutací (M₁ - výsev ovlivněného osiva, M₂ - ramš, M₃ - ověření vybraných rostlin, M₄ - mikrozkušky (ROD a kol., 1982).

Hlavní praktický význam indukovaných mutací je v možnosti rozšíření genetické variability. Získané mutace s významnými znaky byly využívány v hybridizačních programech. Příkladem mohou být nová šlechtění jarního ječmene s vyšším obsahem bílkovin s příznivým obsahem aminokyseliny lyzinu. Velmi bohatý byl sortiment mutací hrachu v Německu. Přínos mutací se očekával v rezistentním šlechtění, ve šlechtění na ranost, odolnost k poléhání, v indukci pylové sterility a také ve zlepšování struktury výnosu a dále ve zlepšování jakosti pomocí mikromutací.

5.4.2. Polyploidní šlechtění

Polyploidie je více než dvojnásobné zvýšení základního, tj. haploidního (n) počtu chromozomů. Polyploidní šlechtění je šlechtitelská metoda využívající přednosti vlivu zvýšeného počtu chromozomů v rostlinné buňce, resp. v rostlinném organizmu.

Polyploidie náleží do skupiny genomových mutací. Synonymem polyploidie je **euploidie**, která označuje, že zvýšený počet chromozomů je rovný celému násobku základního počtu.

Naproti tomu **aneuploidie** označuje stav, kdy změněný počet chromozomů není rovný celému násobku základního počtu, ale jejich počet se od něho odchyluje o 1 nebo o více chromozomů navíc (hyperploidie), nebo naopak chybí (hypoploidie).

Stav, kdy počet chromozomů v buňkách organismu odpovídá základnímu (n) počtu, se označuje za **haploidii**.

Pro šlechtění rostlin má největší význam polyploidie, tedy stav, kdy v tělních buňkách je vyšší počet chromozomů než je obvyklý diploidní, nebo v pohlavních buňkách je vyšší než je obvyklý počet haploidní. Podstatně menší využití ve šlechtění nachází aneuploidie a haploidie.

Polyploidii je možné dělit podle různých hledisek, např. podle počtu haploidních sádek (tri-, tetra-, penta-, hexaploidie apod.), zda se jedná o sudý (ortopolyploidie - $4n$, $6n$, $8n$ atd.) nebo lichý (anortopolyploidie - $3n$, $5n$, $7n$ atd.) násobek počtu chromozomů, podle místa vzniku (mitotická v dělicích se buňkách, gametická při meiosis, vznikne nevytvořením přehrádky při dělení buňky, zygotická při vzniku zygoty setkání gamet se zvýšeným počtem chromozomů), podle způsobu vzniku (spontánní, umělá) a podle toho, za jakých genetických podmínek došlo k polyploidii (auto- allo- autoallo-polyploidie). Podrobnější charakteristiky skupin a druhů polyploidie lze čerpat v učebnicích genetiky.

Změny v počtu chromozomů u rostlin měly a nadále mají velký význam v jejich evoluci i v mikroevoluci. Uvádí se, že asi 30 až 35 % krytosemenných rostlinných druhů a asi 70 % travních druhů je polyploidních, podle *Müntzinga* je více než polovina vyšších rostlin polyploidní povahy. Přírozená (spontánní) polyploidie, která vzniká volně působícími přírodními vlivy, je v rostlinné říši dost rozšířena. V přírodě polyploidie tvoří tzv. polyploidní řady (př. u rodu *Triticum*). Polyploidní druhy jsou důležité zemědělské plodiny významné ve výživě lidí (brambory, pšenice, řepka olejná) i ve výživě zvířat (oves, vojtěška aj.). Tyto polyploidní druhy vznikly přirozenou cestou jako výsledek evoluce.

5.4.2.1. Šlechtitelské využití polyploidie

Polyploidie je jedna z metod tvorby a přípravy výchozího šlechtitelského materiálu pro následné šlechtitelské zpracování, a to s cílem vyšlechtit novou polyploidní odrůdu, nebo obnovit fertilitu u vzdálených hybridů.

Polyploidie jako šlechtitelská metoda má největší uplatnění u mnoha cizosprašných druhů. Je vhodná zejména pro ty druhy, které mají menší počet chromozomů a jsou využívány pro vegetativní rostlinné části (bulvy, nadzemní hmotu apod.) a které tvoří velké množství semen. Využívána je i u vegetativně množených druhů a omezeně i u samosprašných druhů.

Polyploidie podmiňuje zvýšenou produkční schopnost vegetativních částí rostlin (větší buňky, větší rostlinné orgány), ale snižuje produkci semen (pro poruchy při tvorbě gamet a zygot). Polyploidní druhy tvoří zpravidla méně pylu a bývají méně fertillní.

Pro šlechtění je důležité rozlišovat: **autopolyploidii** a **allopolyploidii**.

Autopolyploidii (autoploidii) označujeme skutečnost, kdy dochází k zmnožení

identických chromozomových sádek, tj. náležejících stejnému druhu.

Allopolyploidii (alloploidii) se označuje zmnožení neidentických sádek chromozomů, které patříci rozdílným druhům nebo rodům a liší se počtem i genetickou strukturou. Pro názornost je uvedeno srovnání:

| | |
|---|---|
| autoploidie: zmnožení identické sádky | AA —————→ AAAA diploid tetraploid |
| alloploidie: zmnožení neidentických sádek | AB —————→ AABB diploid allotetraploid |

Pro úplnost je třeba uvést, že přechod mezi auto- a alloploidii tvoří autoallopolyploidie, která se vyznačuje tím, že organizmy mají různé genomy v různém stupni ploidie (př. AAAABB). Mezi uvedenými skupinami je řada přechodů, které stírají rozdíly a ztěžují jejich přesné stanovení.

Vyskytují se organizmy mající buňky z části diploidní a z části polyploidní a označují se za mixoploidní.

5.4.2.2. Důsledky polyploidie:

a) genetické

- vzniká více vloh v lokusu, důsledkem je více alel téhož chromozomového páru v gametách a v zygotách, přičemž jejich sestavy mohou být homozygotní i heterozygotní. Např. u diploidů, jsou-li dvě alely *A*, *a*, vznikají 3 genotypy *AA*, *Aa*, *aa*, kdežto u tetraploidů vzniká pět genotypů: *AAAA kvadriplex*, *AAAa triplex*, *AAaa duplex*, *Aaaa simplex* a *aaaa nuliplex*. Počet fenotypů se řídí stupněm dominance, při úplné jsou tři, při neúplné pět. Vznikají pak složité a nepravidelné štěpné poměry při křížení, vyskytují se složité heterozygoti.
- zvyšuje se genetická proměnlivost, se změněným genetickým pozadím. Oslabuje se systém inkompatibility,
- vznikají poruchy v segregaci a v dislokaci chromozomů v meiosi, což vede k poruchám a k tvorbě sterilních gamet, aneuploidních gamet a zygot. Přítomnost diploidů (vzniklých partenogeneticky nebo příměsí) v tetraploidech může při překročení určitého prahu (u jetele 2 - 3 %, u žita 30 - 40 %) postupně vyloučit tetraploidy, neboť diploidi jsou plodnější. Křížením tetraploidů s diploidy vznikají triploidní jedinci ($n + 2n = 3n$), sterilní nebo s omezenou plodností. Proto je nutné množit osivo tetraploidů v prostorové izolaci, aby se předcházelo nežádoucímu spontánnímu křížení.

b) změny morfologické

- u polyploidů zpravidla dochází k zvětšení objemu buněčného jádra, cytoplasmy a celé buňky, v souvislosti s tzv. *jádroplazmovým poměrem*. Zvětšují se vegetativní části rostlin, jev se označuje gigantismem, zvětšení však není proporcionální stupni polyploidie,
- polyploidní rostliny se vyznačují změnami v počtu listových průduchů, v počtu chloroplastů, zvětšenými svěracími buňkami, většími květy, pylem i plody, ale většinou sníženým nasazením semen a plodů a tím i jejich sníženým výnosem. Mají větší a silnější trichomy, větší a zkadeřené listy apod.

Morfologické změny se využívají k předběžné identifikaci polyploidů ve šlechtění.

c) *změny v ekologických požadavcích*

- zmnožení dědičné hmoty nese vyšší aktivitu životních pochodů a větší ekologickou plasticitu (uvádí se, že je v Grónsku 78 %, na Saharě 34 %, v Evropě 50 %, na Sicilii pouze 31 % polyploidních rostlinných druhů).
- polyploidie mají vyšší nároky na teplotu při klíčení, vyšší nároky na vláhu, mají nižší transpirační koeficient a pomalejší asimilaci i dýchání.

d) *změny hospodářské*

- u polyploidů je zvýšený obsah chlorofylu, zvýšený obsah obsahových substancí (vitaminu C, alkaloidů, vitaminu A, více cukrů, méně auxínů), větší obsah vody,
- polyploidie mají většinou delší vegetační dobu, mnohdy větší vytrvalost (pícniny) i větší zimovzdornost, často ale větší citlivost k listovým chorobám.

U polyploidních druhů existuje polyploidní strop, což je optimální počet chromozomů pro příznivý projev znaku či vlastnosti.

5.4.2.3. *Indukce a detekce polyploidie*

K **indukci** somatické polyploidie (mitotické i zygotické) se využívá *fyzikálních agens*: teplotních šoků, trauma a regenerace pletiv, ozařování, centrifugace.

Z *chemických* prostředků se využívají chloroformové a acetnaftenové páry, nejčastěji alkaloid ocunu jesenního (*Colchicum autumnale*) kolchicin, a to ve formě roztoků (0,5-0,01 % koncentrace), nebo lanolinové pasty, s dobou působení několika hodin.

Způsoby aplikace:

a) Ovlivňují se suchá semena, s větším úspěchem naklíčená semena, vegetační vrcholky vatovými tamponky, agarovými bločky, a také semenáčky rostlin (1,0 - 2,0 % roztokem kolchicinu). Místa s intenzivně se dělícími buňkami skýtají větší pravděpodobnost úspěchu.

Ovlivněné vegetační vrcholky budou zpravidla mixoploidní a tam vzniká nebezpečí negativní autoselektce tetraploidních buněk.

b) K indukci gametické polyploidie se máčí poupata a květy v roztoku, nebo se pěstují rostliny hydroponicky v roztoku (0,125 - 0,4 %) agens (nasávání kořeny), případně injekčně se vpravuje roztok do míst probíhající meiose a tvorby gamet (koncentrace 0,1 - 0,4 %).

c) V tkáňových kulturách působením roztoku kolchicinu.

d) Valenčním křížením, např. diploidní matka (2n) opylena tetraploidním opylovačem (4n) poskytne triploidní (3n) F₁ generaci (obr. 5.4.2., např. triploidní odrůdy cukrovky, krmné řepy).

Při **detekci** polyploidů se používá označení generací: C₀ je generace ovlivněná, C_{1-n} jsou další generace.

Cílem je detekce jedinců s polyploidními buňkami a se žádoucím stupněm ploidie. Detekci polyploidů lze provádět pomocí tzv. doprovodných příznaků (pomalý růst, zkadeření listů, rozšířený hypokotyl), nebo pomocí tzv. orientačních detekčních kritérií (ODK), které jsou specifické pro různé druhy a využívají některých již uvedených charakteristik polyploidů (např. velikost svěracích buněk průduchů, velikost pylových zrn, počet průduchů, počet chloroplastů, počet klíčních otvorů na pylovém zrnu aj.) anebo z morfologických a fyziologických zvláštností (růst, síla kořínků, listových čepelí, trichomů, velikost plodů aj.). Stupeň ploidie lze zjistit přesně cytologickou analýzou.

Obr. 5.4.2.: Schéma vzniku triploida (SCHMALZ, 1964).

Šlechtitelský výběrový postup pro polyploidní odrůdu

Postup při šlechtění polyploidní odrůdy lze členit do 4 navazujících stupňů:

1) Tvorba polyploidního výchozího šlechtitelského materiálu (VŠM). Doporučuje se používat materiál se širokou genetickou proměnlivostí (více odrůd, křížence, materiál po ozáření). Výchozí materiál by měl být co nejvíce heterozygotní, což umožní vyšší zastoupení rekombinací pro další šlechtění.

2) detekce polyploidních jedinců v časných generacích a jejich rozmnožení,

3) cytologické a fenotypové ustálení polyploidních jedinců (potomstev) z hlediska cytologického, morfologického a fyziologického i hospodářského využívání.

4) výběr jedinců (potomstev) k rozmnožování a prověrce hospodářských znaků s cílem registrace nové odrůdy. Nebo výběr jedinců k valenčnímu křížení s cílem tvorby polyploidní hybridní odrůdy (hybrida F₁).

Vzhledem k zvláštnostem polyploidů (široká genotypová variabilita, neznámá dědičnost hospodářských znaků, častá cytologická nestabilita, cizosprašnost aj.) a k obtížnosti sledování potomstev, využívá se postupu používaného při šlechtění populací diploidních cizosprašných druhů (kmenová a rodokmenová metoda).

5.4.2.4. Praktické využití polyploidie

Široké využití má indukovaná polyploidie, resp. autopolyploidie. Je využívána u obilovin (tetraploidní žito, tetraploidní pohanka), u jetelovin (tetraploidní odrůdy jetele lučního, jetele švédského i jetele plazivého), u trav (tetraploidní odrůdy jílku vytrvalého, jílku mnohokvětého), u řepy cukrové a řepy krmné (triploidní hybridní odrůdy), vodnice a u řady zelenin (špenát, ředkvička, meloun), u ovocných druhů (jabloň, hrušeň, banán) u květin (tulipány, narcisy, mečíky, chrysanémy).

Zvláštní význam a využití má allopolyploidie, která, jak již bylo uvedeno, vzniká zdvojením neidentických sádek chromozomů. Příkladem spontánní polyploidie (resp. allopolyploidie) se značným praktickým významem je evoluce pšenice. Planě rostoucí *Aegilops sp.* ($2n = 14$, genom BB) spontánním zkřížením s planými jednozrnkami (*Triticum urartu*, *T. boeoticum*, obě $2x = 14$, genom AA) a zdvojením chromozomů vznikla dvojezrnka *T. dicoccum* ($2x = 28$, genom AABB). Zkřížením dvojezrnky s *Aegilops squarosa* ($2x = 14$, genom DD) a zdvojením chromozomů vznikla *T. aestivum* ($2x = 42$, genomu AABBDD).

Jiným příkladem je rod jahodníku (*Fragaria*), jahodník obecný (*F. vesca*) má $2n = 14$ s malými plody a jahodník velkokvětý (*F. grandifolia*) s $2n = 56$ tvoří velké plody. Spontánní allopolyploidie se uplatnila v evoluci řepky olejné, švestky aj..

Indukované allopolyploidie (amfidiploidie) se využívá k odstranění cytologické překážky sterility vzdálených hybridů (viz kap. 5.2.2.), nejznámější je využití indukované allopolyploidie při šlechtění triticales (viz schéma vzniku tetraploidního a oktoploidního triticales):

| | | | | | |
|------------------|---|-----------------------|---------------------|---|-----------------------|
| pšenice tvrdá | x | žito | pšenice obecná | x | žito |
| <i>Tr. durum</i> | | <i>Secale cereale</i> | <i>Tr. aestivum</i> | | <i>Secale cereale</i> |
| $2n = 28$ | | $2n = 14$ | $2n = 42$ | | $2n = 14$ |
| AABB | | RR | AABBDD | | RR |
| | | triticales | | | triticales |
| | | $2n = 42$ | | | $2n = 56$ |
| | | AABBRR | | | AABBDDRR |

Získané allopolyploidní (amfidiploidní) rostliny jsou cytologicky velmi ustálené, v dalších generacích neštěpí a lze je tedy s úspěchem rozmnožovat generativně.

5.4.2.5. Využití aneuploidie a haploidie ve šlechtění rostlin

a) Využití aneuploidie

Aneuploid je organizmus se zvýšeným nebo se sníženým počtem chromozomů v jednom chromozomovém páru (ve více párech). Úbytek chromozomů znamená i ztrátu příslušných genů, přírůstek chromozomů znamená znásobení genů. Podle nastalé změny se aneuploidní typy člení (viz genetika). Aneuploidie nastává při poruchách meiose a hlavní výskyt je u polyploidů. Aneuploid je životný jen u přirozeně polyploidních rostlinných druhů, např. u pšenice, brambor.

Aneuploidie se hlavně využívá v geneticko - šlechtitelském výzkumu při studiu lokalizace genů na chromozomech (určení vazbové skupiny), při přípravě monosomických, nuliosomických a trisomických linií, např. u pšenice. Ty se pak používají k vyšlechtění adičních linií a substitučních linií, tj. linií s přenesenými chromozomy jiného druhu a tím i se žádoucími geny, např. geny odolnosti k chorobám.

b) Využití haploidie

Haploid (monoploid) je organizmus, u něhož je počet chromozomů v somatických buňkách stejný jako v buňkách gametických, tedy haploidní (n).

Haploidní formy vznikají spontánně jako důsledek poruch při rozmnožování (partenogenezi). Častý je výskyt u tzv. dvojčatových rostlin (z dvojkličků). Vznikají i uměle ovlivněním procesu opylení a oplození fyzikálními a chemickými prostředky, dále jako průvodní jev při vzdálené hybridizaci, vznikem hybridních kombinací jádra v cizí cytoplasmě. Metod indukce haploidů je několik, nejvíce se uplatnily tyto postupy: indukovaná androgeneze v prašnickových a pylových kulturách, indukovaná gynogeneze v ovulích (postupy *in vitro*), pseudogamie (vývoj haploidního zárodku neoplozeného) a selektivní eliminací chromozomové sádky opylovače v hybridním zárodku (u brambor po křížení s planým druhem *Solanum phureja*, u pšenice a ječmene po křížení s planým vytrvalým ječmenem *Hordeum bulbosum*).

Haploidní rostliny se vyznačují malou vitalitou, inhibicí vývinu, častou sterilitou nebo minimální plodností, (množení je možné jen vegetativní cestou), slabě vyvinutým habitem, pozdností aj.

Po zdvojení haploidní chromozové sádky na dihaploidní stav se získá *dihaploidní linie* (DH). Získáním dihaploidních linií se urychluje proces homozygotizace a vyšlechtění tzv. izogenních linií (známé jsou u pšenice, řepky) a dihaploidní formy u brambor. Pro tvorbu dihaploidů je výhodné použít rostliny z F_1 nebo F_2 generace pro získání geneticky a fenotypově odlišných linií. Linie se pak využívají v kombinačním křížení jako genetické zdroje významných vlastností, v heterozním křížení, ve vzdáleném křížení pro překonání bariery nezkřížitelnosti (brambory). Dihaploidní linie se využívají k selekčním zákrokům na diploidní úrovni, což umožňuje účinnější selekci na znaky determinované homozygotně dominantně i recesivně.

Metoda haploidizace a dihaploidizace vyžaduje speciální postupy, vybavení pracoviště a školené odborníky. Nevýhodou je nízká a nejistá frekvence výskytu haploidů a časté upřednostnění jejich výskytu u určitých genotypů.

5.5. NEKONVENČNÍ METODY ŠLECHTĚNÍ

5.5.1. Nekonvenční metody a postupy využitelné ve šlechtění

Mezi nekonvenční šlechtitelské postupy a metody používané v praktickém šlechtění až v posledních dvou desetiletích lze řadit celý komplex biotechnologických a molekulárně biologických technik: mikropropagace *in vitro*, haploidní techniky, fúze protoplastů, selekce na buněčné úrovni, produkce umělých semen, vnášení cizorodých genů do genomu kulturních rostlin, genetické mapování a selekce na úrovni molekulárních markerů.

Objevy učiněné v posledním období nejprve v **buněčné biologii** a později v **molekulární biologii** měly velký vliv na rozvoj celého komplexu nových metod a technik, obecně nazývaných **rostlinné biotechnologie**. Biotechnologické metody využívané v genetice a šlechtění rostlin zahrnují **kultury rostlinných explantátů *in vitro***, tj. aseptickou kultivaci izolovaných částí rostlin za umělých podmínek, a další s tím související techniky - metody **transformace rostlin, techniky genového inženýrství, imobilizace rostlinných buněk, somatickou hybridizaci**.

Na počátku rozvoje rostlinných biotechnologií, když se objevily jejich nové možnosti, se do nich kladly velké naděje a finanční prostředky. Postupem času pak počáteční nadšení a euforie poněkud opadla, objevily se mnohé problémy - zejména v aplikaci laboratorních experimentů do praxe. Nyní se vypracovávají střízlivější projekty a biotechnologickým aplikacím se přikládá ve světě stále velký význam. Nicméně rychlý rozvoj biotechnologických metod ale nijak nesnižuje význam klasických šlechtitelských metod.

Tradiční - klasické šlechtitelské metody jsou primárně založeny na kombinování zajímavých znaků a vlastností po křížení rodičovských rostlin. Tento přístup má ale několik omezení - **intra- a interdruhovou kompatibilitu**, (resp. inkompatibilitu) možnou **nestabilitu** nových kombinací genů během množení získaných genotypů a poměrně **dlouhou dobu rozmnožovacího cyklu**. Šlechtitelský selekční program, v závislosti na druhu rostliny, zahrnuje 5 - 15 cyklů pohlavního rozmnožování. Zkrácení doby šlechtění je možné při pěstování některých generací ve sklenicích, nebo střídavým pěstováním na severní a jižní polokouli. U vytrvalých rostlin, či dřevin, které se pohlavně mohou rozmnožovat až po několika letech, je tento problém ještě výraznější. Těmito tradičními metodami také není možné kombinovat geny praktického významu ze dvou inkompatibilních rostlin. Zcela nemožné je získání rostlin s geny pocházejícími z nerostlinných zdrojů (mikroorganismů - např. rezistence vůči herbicidům, hmyzu; živočichů - geny pro luciferázu...). Například vnesení genu kódujícího patatin, bílkovinu brambor s vynikající nutriční hodnotou, do druhů produkujících velké množství bílkovin - sója, kukuřice - je nemožné při používání konvenčních šlechtitelských metod.

Kompatibilita (resp. inkompatibilita), **stabilita** a **délka šlechtitelského cyklu** jsou 3 nejdůležitější faktory limitující účinnost konvenčního šlechtění. Jakýkoli postup, který **zcela** nebo jen **částečně překonává tato omezení**, představuje **pokrok v oblasti šlechtění rostlin**.

Z tohoto pohledu mají biotechnologie tři základní praktické dopady:

- zvýšení genetické variability jiným způsobem než pohlavním rozmnožováním
- množení genotypů, které jsou nestabilní při pohlavním rozmnožování
- snížení počtu nebo délky šlechtitelských cyklů potřebných v selekčním programu.

Počátek rostlinných biotechnologií můžeme datovat do třicátých - čtyřicátých let - ale teprve v letech sedmdesátých se začaly objevovat první praktické výsledky (v souvislosti s rozvojem buněčné biologie) a od počátku osmdesátých let spolu s rozvojem technik molekulární biologie je využití těchto nekonvenčních šlechtitelských metod poněkud výraznější.

V současné době je hlavní pozornost v oblasti nekonvenčních biotechnologických a molekulárně biologických metod věnována následujícím oblastem:

1. - propagace rostlinného materiálu = *in vitro* klonování

- mikropropagace - regenerace rostlin *in vitro* z kultivovaných meristémů
- somatická embryogeneze
- adventivní pupenotvorba (organogeneze)

Těmito postupy se získává identický materiál (zcela na 100% neplatí u organogeneze). Nejrozšířenější a komerčně nejúspěšnější aplikací rostlinných biotechnologií je rychlé a mnohonásobné klonové množení rostlin meristémovými kulturami, které je využíváno u okrasných rostlin (tam, kde je tento způsob levnější a rychlejší než množení semeny) - orchideje, kapradiny, u pokojových rostlin a dřevin, u ovoce - jahodník, u zeleniny, léčivek, dřevin - jehličnany, rhododendrony. Ve šlechtění se této metody používá zejména k namnožení cenných genotypů (jetel, vojtěška), sterilních hybridů.

Jestliže např. u brambor se dosahuje při šlechtitelské práci množitelského koeficientu 1:5-10, u obilovin 1:100–200 a u hrachu 1:500, tak při využití metod explantátových kultur je možné dosáhnout koeficientu 1:500 000 až 1:1 000 000 (teoreticky u některých materiálu až 1:10⁹). Tímto způsobem je pak možné urychleně namnožit cenné genotypy vybraných superelitních rostlin při zachování jejich genetických vlastností a docílit tak morfologické a fenologické vyrovnanosti populace, ale i podstatné urychlení nástupu nové odrůdy do praxe.

Výhodným postupem pro množení se zdá být somatická embryogeneze (**SE**) - při kultivaci somatických buněk *in vitro* dochází k jejich dediferenciaci a po navození specifických kultivačních podmínek buňky začínají vytvářet somatická embrya. Výsledný organismus je málo ovlivněn vlivy působícími v *in vitro* kultuře. Somatická embrya vznikají z 1 buňky, poměrně rychle, bez velkého časového mezidobí ve fázi kalogeneze. Nevýhodou je, že ne od všech genotypů lze získat embryogenní kultury s dostatečným koeficientem propagace.

V souvislosti s technikou SE se objevila možnost produkce umělých semen - synchronizovaná indukce tvorby somatických embryí v tekutém médiu, ve vhodné fázi jejich vývoje enkapsulace a použití jako „umělého“ obalovaného osiva.

Další aplikací těchto propagačních technik je např. získávání nových a udržení stávajících genotypů s CMS - u cukrovky, pak není třeba udržovatel pylové sterility, sterilní mateřská komponenta se množí vegetativně.

2. - produkce bezvirózních rostlin

(*resp. produkce zdravých rostlin - tímto postupem lze eliminovat i jiné fytopatogeny*)

Použití těchto technik je zejména u brambor, jahodníku, cukrovky, cukrové třtiny, kasavy (maniok), česneku, banánů, ovocných dřevin, zelenin, jetelovin - tj. u plodin, které se rozmnožují nebo udržují vegetativním způsobem a u nichž je přenos zejména virových chorob v důsledku vegetativního způsobu rozmnožování kritickým faktorem, který má výrazně negativní vliv na zdravotní stav a degeneraci množitelského materiálu.

3. - embryokultury

Využití je zejména při získávání hybridních rostlin po křížení více či méně příbuzných rostlin (vzdálená hybridizace). V mnoha případech po takovémto křížení dojde k oplození, ale vyvíjející se embryo abortuje v různé fázi vývoje.

Této techniky se využívá při realizaci projektů přenosu rezistence ke rzi pšeničné a padlí travnímu z *Triticum monococcum*, při vzdálené hybridizaci u dalších obilovin (*Triticale*, produkce haploidů u *T. aestivum*, *Hordeum vulgare*, *Zea mays*), jetelovin, trav a dalších plodin.

4. - indukce tvorby haploidů

Tato technika nabývá na významu v posledních letech - v souvislosti s rozvojem liniového a hybridních šlechtění u celé řady plodin. Po zdvojení počtu chromozómů regenerovaných haploidních rostlin je možné získat homozygotní diploidy (izogenní linie) využitelné přímo jako odrůdy nebo linie - komponenty v dalších šlechtitelských programech. Touto metodou byly získány nové odrůdy u pšenice (*Florin*, *Huapei 1*, *Jinghua 1*), rýže (*Xin Xiou*, *Hua Yu*, *Tanfene 1*, *Zong Hua 2*), kukuřice, tabáku (*Tan Yuh 1*, *Tan Yuh 2*, *Tan Yuh 3*), řepky olejky. U ječmene byly vyšlechtěny odrůdy *Mingo*, *Rodeo*, *Gwylan* a *Doublett* z haploidů získaných metodou eliminace chromozómů při křížení s *Hordeum bulbosum*. V blízké budoucnosti se očekává získání odrůd, vzniklých technikami haplokultur u cukrovky, slunečnice, melounu, lilku (baklažánu), papriky, cibule.

5. - selekce a mutageneze in vitro

Systémy selekce a mutace na buněčné úrovni v *in vitro* podmínkách jsou rozpracovány u celé řady plodin a měly by pomoci urychlit proces získávání nových kvalitativních znaků a vlastností jako je např. rezistence/tolerance k některým patogenním toxinům, herbicidům, metabolickým produktům, těžkým kovům (tj. většinou geneticky jednoduše založené znaky). Lze získat mutantní linie, které se vyznačují nadprodukcí některé látky - např. některých aminokyselin (kukuřice - mutace *opaque-2* - vyšší obsah lysinu, je to vlastně tolerance vůči vyššímu obsahu dané aminokyseliny), biologicky účinných látek, rezistencí k zasolení (rajče - tolerance vůči NaCl) či patogenům (rajče, brambory, vojtěška - tolerance/rezistence vůči plísni bramborové a fusariózám).

6. - somatická hybridizace fúze protoplastů

Tato technika byla po dlouhé období propagována jako zásadní metoda pro produkci hybridních rostlin v těch případech, kde je nelze získat normálním křížením. Ale pouze několik somatických hybridů je opravdu využitelných: *Brassica naponigra* - vznikla po fúzi protoplastů *B. napus* a *B. nigra*, odolná vůči houbě *Phoma lingam*, somatický hybrid *Solanum tuberosum* a *S. brevidens* je rezistentní vůči některým virovým chorobám.

Obecně není možné získávat fertillní somatické hybridy jednoduchou kombinací - splynutím kompletních genomů dvou příbuzných nebo nepříbuzných druhů. Proto se vypracovávají postupy asymetrické hybridizace a nejlepší využití fúze protoplastů zřejmě bude v produkci cybridů, kteří obsahují jaderný a cytoplazmatický genom jednoho rodiče a jen cytoplazmatický genom druhého rodiče. Tato metoda může mít význam v přenosu CMS při šlechtění rostlin. Při přenosu CMS z *Raphanus sativus* do *Brassica napus* nebo *B. oleracea* se projevuje tzv. „chilling“ efekt (= chladový efekt) - při teplotách pod 15°C žloutnou listy, je nižší intenzita fotosyntézy. Odstranění „chilling“ efektu je možné výměnou plastidů *Raphanus sativus* za plastidy *Brassica napus* nebo *B. oleracea*.

7. - genetické mapování a selekce na úrovni molekulárních markerů

Tato oblast metod úzce souvisí s výrazným rozvojem technik molekulární biologie. Řada velkých šlechtitelských firem v současné době již zcela běžně využívá metodických postupů molekulárního fingerprintingu pro hodnocení šlechtitelského materiálu - hodnocení homogenosti a homozygotnosti inzuchtních a dihaploidních linií, charakteristiku, popis a identifikaci šlechtitelského materiálu na molekulární úrovni. U řady zemědělských plodin existuje velké množství odrůd a jejich rozlišení jen pomocí klasických morfologických znaků je problematické. Techniky molekulární biologie pak mohou napomoci k jejich detailnějšímu rozlišení.

Pro účely identifikace a popisu na molekulární úrovni jsou používány různé molekulární markery - např. RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), RAPD (*random amplified polymorphic DNA*), MAAP (*multiply arbitrary amplicon profiling*), AFLP (*amplification fragment length polymorphism*) markery.

Ve šlechtitelském výzkumu se uvažuje i o přímém využití molekulárních markerů pro selekci žádoucích genotypů šlechtitelského materiálu. Tento postup by pak výrazně urychlil konstrukci a selekci žádoucích genotypů, jeho nevýhodou jsou ale zatím ještě značné finanční náklady na selekci.

8. - další oblastí nekonvenčních šlechtitelských metod je přenos, stabilní integrace a exprese určitých genů v kulturních rostlinách.

Tyto techniky jsou v současné době velmi usilovně propracovávány a vyvíjeny a jejich širší komerční využití lze očekávat v příštích 5 - 10 letech. Metody transformace jsou založené na transformaci kultivovaných tkání, buněk a protoplastů pomocí Ti-plasmidu *Agrobacterium tumefaciens* a Ri-plasmidu *A. rhizogenes*. Z metod přímého přenosu DNA mají v současné době perspektivní uplatnění techniky mikroprojektilů („gene gun“), případně další metody přímého přenosu DNA - PEG a elektroporace, vnášení DNA do intaktních buněk mikroinjekcemi.

V současné době je ale dostupných jen několik genů, které mají agronomický význam a již byly integrovány do některých rostlin. Jsou to geny rezistence vůči několika ekologicky „čistým“ herbicidům (glyfosát a fosphinotricin), gen pro δ -endotoxin *Bacillus thuringiensis* a geny rezistence vůči virům. Transgenní rostliny se podařilo získat u soji, brambor, rajčat, tabáku, řepky, pšenice, kukuřice, rýže. Významné úspěchy byly dosaženy právě pomocí techniky mikroprojektilů u obilovin. Zatím nejsou známy informace o výnosu, kvalitě transgenních rostlin, ale dá se očekávat, že se komerčně objeví během 5-10 let. První transgenní rostliny se objevily již v roce 1983.

U zemědělsky významných plodin (obiloviny, luskoviny) je jejich získávání obtížnější, zejména pro obtíže při regeneraci rostlin a z důvodů obtížné transformovatelnosti. Byly již získány rostliny kukuřice, pšenice, rýže a soji obsahující gen pro rezistenci ke kanamycinu a dá se očekávat, že v blízké budoucnosti se podaří do těchto rostlin začlenit hospodářsky významné geny (r.1992 - pšenice, kukuřice - gen rezistence vůči PPT - *phosphinotrocinu* - účinné látky herbicidu „Basta“ pomocí mikroprojektilů). Do rostlin tabáku se podařilo začlenit gen pro toxin *B. thuringiensis* a tvorba toxinu byla zjištěna i u potomstva po generativním rozmnožování.

Transgenní rostliny mohou být využity i jako „přírodní bioreaktory“ pro produkci celé škály biologicky aktivních peptidů, tvorbu chimerických proteinů - včetně neuropeptidů, krevních faktorů, růstových hormonů.

Pro další rozvoj moderních metod genového inženýrství (GI) je nutné dozvědět se více o růstu a vývoji rostlin, struktuře, funkci a expresi agronomicky důležitých genů,

propracovat techniky transgenoz:

- zatím většina agronomicky důležitých genů nebyla identifikována na molekulární úrovni nebo nebyla klonována
- většina důležitých hospodářských vlastností je polygenně založena
- metody transformace dovolují integraci jen několika cizích genů (obecně 1 nebo 2)
- geny jsou integrovány do genomu hostitelské rostliny často v několika kopiích na několik náhodných míst (to může vyústit v poruchy genové regulace, snížení aktivity vnesených i jiných genů, faktickou neopakovatelnost transformačních experimentů).

Perspektivy GI ve šlechtění rostlin lze spatřovat zejména ve:

- vnášení nových genů do rostlinného genomu
- prostřednictvím vektorů virových, bakteriálních, přímé vnášení DNA do protoplastů, buněk
- modifikací genomu symbiotických a patogenních mikroorganismů
- využití specifických klonů rekombinované DNA pro detekci těžko diagnostikovatelných patogenů

Praktické využití metod GI je orientováno zejména na:

Odolnost proti virovým chorobám

- získání odolnosti je možné po vnesení sekvencí DNA kódující gen pro plášťový protein viru, celý genom slabého kmenu viru, antisence RNA, virovou satelitní RNA, sense RNA

Odolnost herbicidům

- glyfosát, fosfinitricín

Odolnost proti hmyzu

- gen pro specifický toxin vůči některým skupinám hmyzu z *Bacillus thuringiensis*

Zlepšení spektra aminokyselin v zásobních bílkovinách

Navození rezistence vůči hád'átku u brambor a řepy

Zvýšení odolnosti proti fyzikálním stresovým faktorům

5.5.2. Cíle a perspektivy šlechtění polních plodin ve vztahu k nekonvečním metodám

V posledním období 10-15 let byly na výzkumných pracovištích propracovány metody kultivace, opakovatelné regenerace a případně transformace řady hospodářsky významných druhů rostlin. To bylo základním předpokladem pro využití kultur rostlinných explantátů *in vitro* jako nové metody množení a šlechtění rostlin. Komplex těchto metod se ve větší či menší míře využívá u řady polních, zahradních a okrasných rostlin.

Začleněním metod explantátových kultur do šlechtitelského a semenářského procesu se docílí především:

- rychlé ***namnožení*** cenných genotypů rostlin vytvořených v procesu šlechtění a tím i rychlejší tvorba nových výkonných odrůd
- ***ozdravení*** šlechtitelských materiálů od patogenů (zejména původců virových a houbových chorob) a tím zvýšení výnosů a snížení ztrát
- ***překonání nezkřížitelnosti*** systematicky vzdálených rostlinných taxonů (druhů, rodů)
- ***dlouhodobé udržování*** genetických zdrojů v kultuře *in vitro* a tím podstatné zlevnění a zrychlení šlechtitelského procesu

- možnost **indukce** vzniku **mutantů a polyploidních** rostlin a tím získání nových genotypů odrůd v kratším čase
- možnost využití **předselekcce** v kultuře *in vitro* urychlení a zkvalitnění šlechtitelské práce
- získání nových a udržení existujících genotypů **s pylovou sterilitou**
- podstatné **zkrácení** šlechtitelského procesu
- možnost produkce **haploidů** androgenezí a gynogenezí *in vitro* a rychlejší získávání výchozího šlechtitelského materiálu pro tvorbu nových odrůd
- možnost konstrukce zcela **nových genotypů** kulturních rostlin
- umělé sestavování žádoucích znaků a vlastností **při využití metod GI**

Předpokladem využití těchto biotechnologických metod ve šlechtění a semenářství a množení rostlin předpokládá existenci **spolehlivě fungujících**, dobře **rozpracovaných** metod **kultivace, propagace a regenerace rostlin in vitro**. Metod, které budou „fungovat“ u široké škály genotypů (zde je právě velký problém, protože ne všechny genotypy daného druhu nebo odrůdy reagují stejně a při mnohých manipulacích *in vitro* se projevuje silná genotypová závislost).

Explantátové kultury se poměrně široce uplatňují zejména v množení okrasných rostlin a dřevin (pokojových i zahradních), produkce rostlin z *in vitro* kultur je např. v Holandsku udávána na několik desítek až stovek miliónů rostlin ročně. V poněkud menší míře (i menší než se očekávalo) se explantátové kultury uplatňují při novošlechtění polních a zahradních plodin, a v systémech udržovacího šlechtění - zejména vegetativně množných druhů.

V sedmdesátých letech byla vytvořena i koncepce tzv. **explantátového šlechtění** - tj. program využití kultur rostlinných explantátů *in vitro* ve šlechtění. Explantátové šlechtění bylo definováno jako šlechtitelská metoda, při níž se na konečném výsledku (šlechtitelském produktu) významnou měrou podílí kultura explantátů *in vitro*.

Nyní jsou kultury rostlinných explantátů a i metody molekulární biologie považovány spíše za pomocné metody, které **napomáhají urychlovat a zkvalitňovat šlechtitelský proces**.

Předpoklady uplatnění metod explantátových kultur, metod GI u jednotlivých plodin jsou následující:

pšenice - využití haploidů je neúčinnější a nejrychlejší cestou získávání vyrovnaných homozygotních linií u pšenice, v *in vitro* kultuře je možno navodit i rozsáhlou genetickou variabilitu - získané somaklony pšenice mohou být využity jako výchozí šlechtitelský materiál

ječmen - tvorba linií u ječmene je možná využitím metody androgeneze *in vitro* nebo indukci haploidů po křížení s *Hordeum bulbosum*. Výťažnost haploidů při využití obou metod udávají někteří autoři jako přibližně stejnou

kukuřice - využití androgeneze *in vitro* pro získávání haploidů - tvorba homozygotních linií u kukuřice. U šlechtitelsky významných linií (i získaných klasickým způsobem) se objevuje možnost využití somatické embryogeneze pro rychlé namnožení identického materiálu

luskoviny - vypracování metod selekce *in vitro* (rezistence k chorobám a stresovým faktorům, změna složení zásobních proteinů), metody GI - zásobní proteiny, vypracování metod androgeneze a gynogeneze *in vitro*, metod SE - množení geneticky a šlechtitelsky cenných materiálů

řepka olejka - využívají se metody androgeneze *in vitro* pro tvorbu homozygotních (izogenních) linií, sekundární SE pro rychlé namnožení vybraných genotypů, vypracování metod selekce *in vitro* na buněčné úrovni a manipulace s protoplasty -

odolnost chorobám, změna spektra mastných kyselin, barva osemení...

len - vypracování systémů regenerace *in vitro*, metody SE, selekce na buněčné úrovni

brambory - vytvoření genotypů brambor odolných proti chorobám při zachování všech dalších hospodářsky významných vlastností. Indukce a selekce rezistentních (tolerantních) genotypů na úrovni buněčných a protoplastových kultur. Metody indukce haploidů - androgenese *in vitro*, vzdálená hybridizace (*S. phureja*)

cukrovka - metody mikropropagace *in vitro*, indukce haploidů a tvorby homozygotních linií, rozšíření genetické variability

jeteloviny - metody mikropropagace a ozdravování *in vitro*, SE - množení cenných genotypů elitních rostlin, protoplastové kultury - SE, metody GI - přenos cizorodé DNA, selekce *in vitro* - rezistence patogenům, herbicidům, stresům, vzdálená hybridizace - metody embryokultur

pícní trávy - tvorba výchozího šlechtitelského materiálu po mezirodovém a mezidruhovém křížení - využití metod embryokultur, metody polyploidie *in vitro*, SE, mikropropagace a ozdravování *in vitro*

ovoce - produkce bezvirózních rostlin u jahodníku, ovocných dřevin, drobného ovoce, mikropropagace *in vitro*

zelenina - využití haploidů pro tvorbu homozygotních linií (androgenézí - u papriky, mrkve, brukvovité zeleniny, gynogenezí u cibule), mikropropagace materiálu po křížení, embryokultury, produkce bezvirózních rostlin a rozšiřování genetické variability u česneku (SEMAN a kol., 1990).

5.5.3. Metody a biotechnologické postupy využívané ve šlechtění.

Komplex metod založený na kultivaci a manipulaci s rostlinnými explantáty *in vitro* představuje v současnosti nový netradiční doplněk klasických šlechtitelských postupů při šlechtění kulturních rostlin.

Šlechtitelské biotechnologické metody vychází z těchto základních principů:

- velké populace totipotentních buněk (= každá buňka je potencionálním zdrojem celého rostlinného organismu) je možné dlouhodobě kultivovat a za kontrolovatelných podmínek regenerovat rostliny
- buněčná kultura je potenciálním zdrojem genetické variability (kultivované buňky *in vitro* jsou geneticky a chromozomálně nestabilní), genetickou variabilitu je možné i uměle zvyšovat použitím mutagenů a po navození regenerace v takto ovlivněné kultuře lze získat rozsáhlou genetickou proměnlivost u intaktních rostlin regenerovaných *in vitro*
- geneticky různorodá buněčná kultura může být vystavena selekčním podmínkám. Pod značným selekčním tlakem se selektují buňky, nesoucí určitou změnu (mutaci) - projev znaku na buněčné úrovni se může projevit i po regeneraci na úrovni rostliny, případně tento znak může být v korelaci s jiným znakem
- populace odvozené z haploidních buněk (gametofytu) zvyšují pravděpodobnost zachycení recesivních mutací, rychle lze získat homozygotní linie
- *in vitro* kultivace vysoce organizovaných rostlinných struktur (embryí, meristémů) představuje systém udržení vysoké genetické stability rostlinného materiálu, po navození regenerace je možné získávat velké množství identického potomstva - klonování *in vitro* (NOVÁK, 1990, SEMAN a kol., 1990).

Využití biotechnologických metod a principů ve šlechtění rostlin je možné rozdělit do dvou zcela odlišných oblastí:

1. - techniky zachovávající původní genotyp, umožňující krátkodobé i dlouhodobé

uchovávání rostlin v kultuře *in vitro* bez významnějších genetických změn
2. - techniky zvyšující genetickou variabilitu během kultivace *in vitro*.

Techniky zachovávající původní genotyp:

a/ meristémové kultury

Rostliny regenerované z meristémové kultury jsou fenotypově homogenní a geneticky stabilní - identické s výchozím explantátem. Frekvence mutací v potomstvu je srovnatelná s frekvencí mutací při tradičním vegetativním rozmnožování. Kromě možnosti klonování rostlin *in vitro* prostřednictvím meristémové kultury (**mikropropagace**) má z praktického hlediska značný význam možnost eliminace virových chorob a dalších fytopatogenů při kultivaci meristémů.

b/ embryokultury

Embryokultury se rovněž vyznačují značnou genetickou stabilitou, při odvození (regeneraci) rostlin ze zygotických embryí v embryonální kultuře se nesetkáváme se změnami karyotypu - genetická kontinuita se projeví stabilním genotypem u regenerovaných rostlin, identickým s *in vitro* kultivovaným embryem.

c/ klonování *in vitro*

Cílem této techniky (resp. celého technologického postupu) je získání velkého počtu geneticky identických rostlin, shodných s výchozím materiálem. Klonování v podmínkách kultur *in vitro* (mikropropagace) se může již počítat k běžným metodám klonového (vegetativního) rozmnožování rostlin.

Hlavní přednosti klonového množení rostlin *in vitro* oproti klasickým metodám jsou následující:

- na rozmnožování se používá menší část rostliny
- rozmnožování probíhá v axenickém prostředí, za přesně definovaných kultivačních podmínek
- heterotrofní charakter růstu
- podstatně rychlejší rozmnožování rostlin (množitelský koeficient dosahuje hodnot až 1:500 000 - 1:1 000 000, potenciální hodnota u některých druhů je až 1:10⁹).

Další předností je i ta skutečnost, že na klonování lze využít i takové části rostliny, které klasické vegetativní množení neumožňují, klonovat je možné v jakémkoli období či vývojové fázi, současně je zde i možnost ozdravování rostlin od patogenů.

Ve šlechtění rostlin se této metody zabezpečující rychlé namnožení velkého množství identického materiálu používá zejména pro rozmnožení elitních genotypů a ozdravení šlechtitelského materiálu, pro množení sterilních rostlin, haploidů, mutantů, rostlin získaných vzdálenou hybridizací, pylově sterilních linií, aneuploidů, rostlin s neobvyklou kombinací chromozómů, složitých hybridních genotypů, transgresních rostlin, u vegetativně množených rostlin lze tímto způsobem množit celý sortiment odrůd, novošlechtění i genové zdroje (zde se zejména metody dlouhodobého uchovávání *in vitro* kultur).

Techniky zvyšující genetickou variabilitu:

Podle původních představ měly být kultury rostlinných explantátů *in vitro* vhodným prostředkem pro stabilní dlouhodobé rozmnožování rostlin. Tato představa se ale ukázala být ne zcela správnou - u regenerovaných rostlin se nacházely větší či menší odchylky od původního genotypu, časem se i schopnost regenerovat rostliny *in vitro* u některých typů kultur ztrácí. O genetické stabilitě rozhoduje totiž průběh morfogeneze - a

geneticky stabilní systém *in vitro* je vázaný jen na organizovaný typ vývinu (tzn. při eliminaci fáze dediferenciace a kalogeneze). Tato podmínka organizovaného růstu a vývoje je splněna jen při kulturách embryí a meristémů, případně při regeneraci rostlin cestou přímé somatické embryogeneze. Variabilita v kalusových, buněčných a protoplastových kulturách se vyskytuje spontánně, nebo může být indukována. Část variability nalézané v těchto kulturách *in vitro* je geneticky podmíněná, část má charakter epigenetické variability.

K technikám zvyšujícím genetickou a negenetickou variabilitu se řadí:

- a/ **kalusové kultury**
- b/ **buněčné (suspenní) kultury**
- c/ **protoplastové kultury**
- d/ **kultury prašníků a mikrospor**
- e/ **selekce na buněčné úrovni**
- f/ **využití somaklonální variability**

Aplikace jednotlivých biotechnologických postupů jsou uváděny v předchozím přehledu, podrobnější využití biotechnologických postupů v genetice a šlechtění rostlin viz. SEMAN a kol., 1990, NOVÁK, 1990, ČURN, 1996.

5.5.4 Kryoprezervace rostlinného materiálu.

Kryoprezervace je dalším z nekonvenčních postupů, který je možné využívat ve šlechtitelské práci. V posledních letech se tato metoda začíná uplatňovat i při **dlouhodobém uchování rostlinného materiálu** - kryokonzervační postupy se kromě semen využívají i při uskladňování (uchování) zygotických a somatických embryí, prašníků, pylu, vzrostných vrcholů, meristémů, pupenů, buněčných a kalusových kultur, protoplastů.

Základem úspěšnosti kryokonzervace (kryoprezervace) je poznání fyzikálně - chemických procesů, které probíhají v buňkách v průběhu **ochlazování, zmrazování a rozmrazování**, protože samotné uchování biologických objektů při teplotě kapalného dusíku ($LqN_2 = -196^\circ C$) nemá podstatný vliv na celistvost buněk.

Rostlinné buňky mají v porovnání se živočišnými nebo mikrobiálními specifické znaky a vlastnosti (vysoká morfologická variabilita, silná vakuolizace a vysoký obsah vody, velký rozsah a plastičnost membrán) a vhodný kryokonzervační postup se musí určovat empiricky.

Při kryoprezervaci rostlinných buněk je zpravidla nutné dodržet úplný postup, který zohledňuje:

- - výběr materiálu
- - prekultivace
- - kryoprotekce
- - způsob a režim ochlazování
- - uchování v LqN_2
- - režim rozmrazování

Dlouhodobá kryokonzervace rostlinného materiálu musí splňovat dvě základní

podmínky:

- - vysokou viabilitu buněk bez přítomnosti selekčního tlaku
- - absenci genetických změn a zachování kvalitativních vlastností zárodečné plazmy.

Objektivním určením viability buněk po kryokonzervaci je **obnovení** jejich **růstu** charakterizované obnovou normálních metabolických funkcí. Obnovení růstu zpravidla nastává po několikadenní až několikaměsíční *lag* fázi, během které pravděpodobně dochází k reparaci buněčných poškození. Pro okamžité stanovení viability buněk je možné použít některých testů - vitální barvení, aktivita enzymů...

Genetické změny v důsledku kryokonzervace se u rostlinných buněk nesledovaly (ale např. v živočišných buňkách může dojít k fragmentaci jader, vzniku chromozómových zlomů, výskytu aneuploidie) a je pravděpodobné, že k podobným změnám dochází i v rostlinných buňkách.

Z praktického hlediska spočívá hlavní význam kryokonzervace v uchování cenných genetických zdrojů ve formě semen nebo i částí vegetativních orgánů.

Rostlinné biotechnologie se do budoucnosti zajisté stanou **doplňkem a součástí konvenčních šlechtitelských programů**. V úzké spolupráci biotechnologů a šlechtitelů je pak možné přenést řadu úspěchů z laboratoří do praxe.

V souvislosti s rozvojem biotechnologických metod a zejména technik rekombinantní DNA - přenos cizorodých genů do rostlin a pak zejména do zemědělských plodin - se objevuje otázka přísné kontroly geneticky modifikovaných organismů (GMO) a jejich možné nebezpečí pro člověka a jeho zdraví (EC Directive 90/219 *on the Contained Use of Genetically Modified Micro-organisms* a EC Directive 90/220 *on the Deliberate Release into Environment of Genetically Modified Organisms*). Transgenní rostliny a jejich produkty jsou dále zpracovávány nebo přímo slouží jako potraviny. Dochází tak ke konzumaci rostlin nebo jejich částí s modifikovanými nebo vnesenými cizími geny, nebo přímo i ke konzumaci produktů GMO-mikroorganismů nebo přímo těchto pozměněných mikroorganismů (víno, jogurty, sýry). Zkoumá se i vliv GMO na okolní prostředí - možnost úniku „umělých“ genů nebo genových konstrukcí do prostředí, při hybridizaci GMO s planými druhy přenos nových vlastností do plané flóry, plevelů...

6. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY

Smyslem šlechtitelské práce je získání nového genotypu, tj. odrůdy, která splňuje požadavky stanovené šlechtitelským cílem. Šlechtitelské výběrové postupy (selekční postupy) slouží k nalezení tohoto vyhovujícího genotypu, či souboru genotypů. Výchozím pro šlechtitelský výběrový postup je geneticky variabilní materiál získaný pomocí vhodné šlechtitelské metody.

Ve šlechtitelských výběrových postupech se uplatňují dva základní typy výběru, a to hromadný i individuální a plní funkci pracovního postupu. Selekcí postup je podle CHLOUPKA (1993) součástí šlechtitelské strategie.

6.1. POSLÁNÍ ŠLECHTITELSKÝCH VÝBĚROVÝCH POSTUPŮ

Úkolem šlechtitelských výběrových postupů je:

- v geneticky heterogenní populaci nalézt a vybrat jedince a potomstva s požadovanými znaky a vlastnostmi morfologickými, fyziologickými, biochemickými i produkčními a se žádanými hospodářskými vlastnostmi (např. odolností apod.) z hlediska stanoveného šlechtitelského cíle a ideotypu nové odrůdy,
- prozkoušet šlechtěný materiál pomocí vhodných metod a kritérií, docílit potřebné homogenity ve znacích a vlastnostech tím, že nevyhovující jedinci a potomstva se vylučují z další šlechtitelské práce,
- rozmnožovat vyhovující jedince a potomstva.

Konečným efektem šlechtitelských výběrových postupů je **novošlechtění**, které po opakovaném zkoušení a prověřování na úrovni firemních zkoušek (dříve mezistaničních předzkoušek), případně i poloprovozních pokusů, je přihlašováno k registraci nově vyšlechtěné odrůdy.

O volbě vhodného šlechtitelského výběrového postupu rozhodují:

- šlechtitelské cíle a náročnost šlechtitelských úkolů,
- použitá šlechtitelská metoda a v té souvislosti předpokládaný rozsah genetické variability výchozího materiálu,
- způsob rozmnožování rostlin a u generativně rozmnožovaných biologie kvetení a opylování,
- hodnocené znaky a vlastnosti a podmínky pro prověřování jejich úrovně (metody, testy, volba lokalit),
- žádaný typ vyšlechtěné odrůdy z hlediska genetické struktury.

Pro šlechtění odrůd požadované genetické struktury se používají odpovídající šlechtitelské výběrové postupy. Nejvíce propracované jsou postupy používané pro zpracování hybridních populací po křížení (hybridizaci). Znamé jsou i výběrové postupy vhodné pro šlechtění hybridních odrůd a odrůd získaných mutagenézí a polyploidii.

Výběrové postupy v praktickém šlechtění musí být flexibilní a musí umožnit změny při výskytu neočekávaných vlivů, např. při změně priorit šlechtitelských cílů, při použití nových metod testování, při změně ekonomických podmínek šlechtitele apod.

6.2. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY PO KŘÍŽENÍ

Pro šlechtitelské zpracování hybridních populací po křížení platí některé obecné

zásady, které se týkají:

a) *důkazu o úspěšnosti křížení*, který lze získat srovnáním s rodičovskými rostlinami podle přeneseného znaku (nejlépe s úplnou dominancí) z otcovského rodiče na rostliny generace F_1 , nebo pomocí genetických markerů, dále podle heterozního efektu u rostlin F_1 generace a podle štěpení v generaci F_2 . Nehybridní rostliny se vylučují.

b) *generace F_1* . V případě, že rodiče jsou homozygotní bude generace uniformní, v případě heterozygotních rodičů (i jednoho) bude štěpící, což platí pro samosprašné i cizosprašné druhy. Rostliny generace F_1 se pěstují individuálně v širokém sponu, což zabezpečuje tvorbu velkého množství reprodukčních orgánů a tím i vznik maximálně možných genových kombinací.

c) *generace F_2* . V případě homozygotních rodičů je generace F_2 první štěpící generací (geneticky heterogenní populace). Šíře genetické variability je dána počtem odlišných genů u rodičů, interakčními vztahy genů a silou vazby genů i mnohočetným alelismem. Zásadou je, aby tato populace byla početně rozsáhlá, což předpokládá velký počet semen sklizených v generaci F_1 . Pro zvýšení pravděpodobnosti výskytu žádaných kombinací se vykalkulovaný počet jedinců generace F_2 násobí 3 - 5 krát. Počet rostlin v generaci F_2 by měl být 10 až 20 krát větší než požadované množství rostlin v generaci F_3 .

Rostliny generace F_2 se pěstují zpravidla v řádkové kultuře a v řídkém sponu pro usnadnění fenotypového hodnocení a výběru.

Šlechtitelské výběrové postupy se realizují prostřednictvím šlechtitelských školek a zušlechťovaný materiál prochází následnými generacemi tzv. **výběrovými stupni**, jak znázorňuje obecné schéma šlechtitelského výběrového postupu na obr. 6.1.

Obecné schéma šlechtitelského výběrového postupu:

Štěpící generace (zpravidla F_2) je považována za *základní výběrovou školku (ZVŠ)* a je určena pro výběr tzv. **kmenových matek (KM)** v podobě celistvých rostlin (nebo klasů, lat, palic, bulev, hlíz a pod.) na základě fenotypového subjektivního posouzení (v porostu) i objektivního posouzení (např. podle laboratorní analýzy). Sklizeň kmenových matek je individuální.

Potomstvo KM u samosprašných rostlin je **kmen (Km)**, u cizosprašných rostlin **rodina**, u vegetativně množených **klon**. Kmeny (rodiny) se soustřeďují v *kmenové (rodinové) školce*, klony v *klonové školce*, která je např. u hustě setých plodin zakládána zpravidla v řádkové kultuře a v řídkém sponu. Jednotlivé kmeny (rodiny, klony) jsou představovány většinou malým počtem jedinců, na malé ploše několika m^2 , bez opakování. Účelem kmenové školky je zhodnocení výběrové hodnoty (genetické hodnoty) vybraných kmenových matek (KM). Ve školce kmenů je časté řazení kontrolních (K) či rodičovských parcelek.

Pro opakovaný výběr KM se využívají nejlepší kmeny (rodiny, klony) v kmenové školce. Zbylé rostliny nejlepších vybraných kmenů, rodin a klonů (případně jen jejich reprodukční orgány), po předem provedeném negativním výběru nevyhovujících typů, se použijí pro založení následných generací výběrových stupňů. Kmeny (rodiny, klony), které jako celek nesplňují požadavky šlechtitele jsou vylučovány z další šlechtitelské práce.

Obr. 6.1.: Obecné schéma šlechtitelského výběrového postupu.
K - kontrola

Následnými výběrovými stupni jsou : V_1 (první výběr) a V_2 (druhý výběr). Účelem těchto výběrových stupňů je zhodnotit šlechtěný materiál (linie, rodiny, klony) z hlediska produkční schopnosti, úrovně jakostních ukazatelů, stupně odolnosti k stresům a z hlediska významných hospodářských znaků a vlastností. Posuzuje se hlavně stupeň vyrovnanosti ve sledovaných ukazatelích, nevyhovující se vylučují. Kmeny V_1 i V_2 jsou zasévány (vysazovány) běžným způsobem, na ploše zpravidla 5, resp. 10 m², v několika opakováních, s častým zařazením kontrolních parcel a na základě polního a laboratorního hodnocení se do dalších generací vybírají nejlepší původy a současně se rozmnožují.

Součástí výběrových postupů jsou rozličné **speciální zkoušky** a prověrky, např. fytopatologické, agrotechnické, pro různé technologické použití aj.

Po dosažení požadovaného stupně vyrovnanosti šlechtěného materiálu ve sledovaných ukazatelích lze mluvit o novošlechtění příslušné plodiny. Novošlechtění podléhá dalším, většinou víceletým zkouškám v rámci tzv. **firemních zkoušek** zakládaných ve více lokalitách s rozdílnými ekologickými podmínkami. Na základě těchto konkurenčních zkoušek se nadějně novošlechtění přihlašuje k registraci nové odrůdy (viz

kap. 8).

Charakteristické pro výběrové postupy je zpracování geneticky různorodého materiálu ve značném početním rozsahu. V jednotlivých výběrových generacích se mnoho zpracovávaného materiálu vylučuje, největší podíl vylučovaných rostlin a potomstev je v nejmlaších výběrových generacích. Úspěch a ekonomika výběrového postupu je dána rychlostí a spolehlivostí metod umožňující diferenciaci a selekci žádaných genotypů, tj. jedinců a potomstev.

6.2.1. Šlechtitelské výběrové postupy pro samosprašné rostliny

Pro samosprašné rostliny je charakteristické šlechtění **liniových odrůd**, buď odrůd typu čistých linií, nebo odrůd víceliniových.

Čistou linií označujeme soubor jedinců s homozygotními sestavami vloh. Genetická variabilita uvnitř linie není žádná a pokud vzniká, tak v důsledku vzniklých mutací (jejichž frekvence je obecně nepatrná a ještě pro různé lokusy rozdílná), nebo náhodného cizosprašení a vznikem rekombinací. V linii může být jen variabilita nedědičného charakteru (modifikace).

Šlechtění samosprašných rostlin většinou začíná křížením dvou (i více) odrůd, které samy zpravidla jsou čisté linie a vychází z následujícího:

- opylení probíhá nezávisle na povětrnostních podmínkách a na hustotě porostu,
- rodiče jsou homozygotní, F₁ generace je heterozygotní, ale uniformní,
- štěpící generace je F₂ s maximem genových rekombinací,
- rozmnožováním dalších generací dochází k homozygotizaci, heterozygotnost lokusů se snižuje o polovinu v každé další generaci, homozygotnost se může zvyšovat vazbou genů,
- štěpení nastává i v dalších generacích z heterozygotních lokusů.

U samosprašných plodin se zpravidla používá dvojí postup. Buď se nakříží velký počet kombinací při poměrně malém počátečním rozsahu potomstev, nebo je tomu naopak. V jednotlivých generacích se pak klade důraz více na výběr mezi potomstvy, nebo naopak uvnitř potomstev (BLÁHA, 1984).

Šlechtitelské výběrové postupy pro samosprašné rostliny jsou zaměřeny na detekci žádaných kombinací (šlechtitelských novinek) a transgresí v podobě linií, tj. homozygotních sestav.

K šlechtitelskému zpracování hybridních generací se využívají následující **metody šlechtitelských výběrových postupů**, které lze rozdělit podle CHLOUPKA (1993) na metody směšovací (dochází k smíchání osiva) a rodokmenové (pedigree) a jejich kombinace a rozličné modifikace:

Obr. 6.2.: Schéma metod šlechtitelských výběrových postupů pro samosprašné rostliny (CHLOUPEK, 1995).
a) **směšovací** (metoda hromadných populací, Ramschmethode, bulk selection-BS)

Metoda hromadných populací spočívá v postupném přesévání počátečních generací, bez selekce a evidence. Rostliny se sklídí dohromady a část osiva se na principu hromadného výběru přeseje do další generace, což se opakuje nejméně až do generace F₅. Při přemnožování generací dochází postupné homozygotizaci a k hromadění homozygotních lokusů a homozygotů. Výběr jednotlivých kmenových matek se zahajuje až v pozdějších generacích a následuje individuální sledování a hodnocení jejich potomstev v kmenech (Km). Vytvářejí se linie systémem rostlina - řádek. Nevhodné linie se v dalších generacích vylučují. Po generaci kmenů následují další výběrové stupně V₁ a V₂ a jejich rozmnožování.

Metoda je vhodná hlavně pro samosprašné druhy a zejména pro kombinace s očekávaným složitým štěpením. Úspěšnější je u znaků s vysokým koeficientem dědivosti, vhodná je pro plodiny s vysokým koeficientem množení. Při přemnožování populace se využívá vlivu přirozeného výběru (vlivy podmínek prostředí, vliv chorob a škůdců). Metoda není vhodná pro vedení materiálu ve sklenicích a v nepřírodných podmínkách.

Výhody: jednoduchost, relativní láce, využití přirozené selekce.

Nevýhody: všechny rostliny se reprodukují do následných generací, přirozená selekce může preferovat i nežádoucí genotypy a nelze odhadnout genotypovou frekvenci a variabilitu, je nejmenší pravděpodobnost genetického zisku. Schéma směšovací metody se sledem generací je na obr. 6.2.

b) **rodokmenová** (pedigree, Staummbaummethode, pedigree selection-PS)

Začíná selekcí kmenových matek ve štěpící generaci F₂, individuálně oddělenou sklizní celých rostlin, nebo jen klasů, lat či semen. Dále se individuálně sledují potomstva KM v kmenové školce systémem rostlina - řádek tak, aby bylo možné posouzení a výběr jednotlivých rostlin. Vybírají se nejlepší řádky a v nich nejlepší rostliny, individuálně se sklídí a jejich rozmnožovací orgány se použijí k založení následné generace.

V generacích F₃ a v dalších se kmeny pěstují ve více řádcích, případně ve více opakováních, a to tak, aby potomstva pocházející od stejného předka byla vedle sebe. Po několika generacích kmenů, kterých je potřeba k dosažení homozygotnosti v požadovaných znacích a vlastnostech, se vyberou nejlepší linie. V počátečních generacích je vysoké procento vylučování kmenů i linií. V generaci F₃ se často zařazuje kontrolní (rodičovská) odrůda.

Vybrané linie se vedou individuálně a v několika následných generacích (V₁ a V₂) se hodnotí a posuzují hospodářské vlastnosti, produkční schopnost a úroveň ukazatelů jakosti, a to v pokusech v několika opakováních, příp. i v několika lokalitách. Výše uvedený postup představuje asi 12 - 13 let selekce, z toho 5 - 6 let na základě jednotlivých rostlin a zbytek na základě linií.

Rodokmenová metoda je nejvíce používanou, je vhodná pro samosprašné druhy, je využitelná i u druhů cizosprašných. Většinou předpokládá rozsáhlý soubor generací F₁ až F₃ i následných potomstev.

Výhody : umožňuje nejtěsnější vztah mezi genotypem a fenotypem a vylučování nevhodných genotypů na počátku selekce, její vysoká účinnost souvisí s uplatněním individuálního výběru, poskytuje nejvíce informací o potomstvech. Umožní sestavení rodokmenů linií při známém genetickém založení linií. Umožňuje selekci v následných generacích v rozdílných podmínkách.

Nevýhody: složitost a větší pracnost, finanční náročnost, nutnost vedení v podmínkách, pro které se odrůda šlechtí.

Schématické znázornění rodokmenové metody je na obr. 6.2.

c) **dílčích populací** (Teilpopulationsmethode, pure line family-PLF)

Metoda dílčích populací je kombinací rodokmenové a směšovací metody. Využívá

předností obou metod a umožňuje i reselekcii. Kmenové matky se vybírají v generaci F_2 , z osiva individuálně sklizených a vybraných se založí se kmeny generace F_3 . Nejlepší kmeny se pak v několika dalších generacích vedou v samostatných dílčích populacích, případně ve směsné populaci. Po 1 - 3 generacích následuje opět výběr KM, založení kmenové školky linií, pak následují generace V_1 a V_2 se zkouškami výkonu a hodnocení dalších hospodářsky významných znaků a vlastností.

Výhody: metoda je vhodná jen pro samosprašné druhy, je větší pravděpodobnost výběru homozygotních genotypů (linií), v raných generacích se nevyloučí vhodné genotypy, v generacích F_4 - F_6 se redukuje výskyt neadaptovaných genotypů, dříve lze začít se zkouškami na výnos a kvalitu produktu

Nevýhody: složitost a časová náročnost.

d) modifikované metody:

jednozrnková metoda, kterou lze použít u samosprašných i cizosprašných rostlin. Využívá se při vedení šlechtěného materiálu v podmínkách prostředí, které neodpovídají podmínkám místa pěstování nové odrůdy, např. ve skleníku, fytotronu apod.

Jsou dvě varianty jednozrnkové metody (CHLOUPEK, 1995) :

a) *jednozrnková* (single seed descent-SSD) - z každé rostliny ve štěpící populaci se použije jedno zrn (druhé se uchová jako rezerva), zrna se smíchají a společně vysejí. Postup se opakuje až do požadovaného stupně homozygotizace (F_5), pak se hodnotí linie odvozené z jednotlivých vybraných rostlin.

b) *jednohnízdová* - umožňuje vyšlechtit linii z každé rostliny generace F_2 . Vysévá se několik zrn každé vybrané rostliny (KM) do hnízda, rostliny se sklídí společně a z hnízda se vysévá nové hnízdo v další generaci atd.

Druhá varianta se využívá při šlechtění inzuchtovaných linií cizosprašných rostlin.

Výhody: metoda zajišťuje těsný vztah mezi genotypem a fenotypem a rychlou homozygotizaci. Lze uchovat celou populaci během inbreedingu, přirozená selekce populaci neovlivňuje. Umožňuje množení mimo podmínky zamýšleného pěstování.

Nevýhody: jedno zrn z rostliny zcela nepostihne přirozenou proměnlivost, neumožňuje využít přirozené selekce, neboť všechny rostliny se reprodukují.

Většinou se nepoužívá jen jedna selekční metoda, ale kombinují se různé metody, případně jejich modifikace.

6.2.2. Šlechtitelské výběrové postupy ve šlechtění cizosprašných rostlin

Šlechtění odrůd cizosprašných rostlin je zaměřeno jednak na šlechtění odrůd typu populací a na šlechtění odrůd hybridních. Na tomto místě bude pojednáno o šlechtění odrůd populací (šlechtění odrůd hybridních bylo předmětem kap. 5.3. a používané šlechtitelské postupy jsou uvedeny v kap. 6.3.).

Odrůda typu **populace** je populací mendelistického typu (viz genetika), v níž se z generace na generaci přenášejí jen geny (nikoliv genotypy) a genetický materiál se každou generací rekombinuje v souvislosti s panmiktickým způsobem opylování. V každé generaci se formují nové genotypy a v každé generaci nastává jistý rovnovážný stav mezi nimi, za předpokladu, že nedochází k selekci, k mutacím, migraci a k náhodnému driftu genů a za předpokladu volného opylování mezi členy populace (panmixie). Přirozená selekce upřednostňuje geny s vyšší životností (fitness).

Teoretické základy šlechtitelských výběrových postupů pro cizosprašné rostliny vycházejí z následujících předpokladů:

- z přísné cizosprašnosti a z nerušeného volného opylování (panmixie) a z dostatečné

- genetické variability,
- z existence mechanismů zabraňující samosprašení (proteandrie, proteogynie, heterostylie, autoinkompatibilní systémy aj.),
- heterozygotnost rodičů, štěpící F_1 generace (není uniformní), nekontrolovaná účast otcovských gamet na opylování a platnost zákona o rovnovážném stavu populací. V případě homozygotních rodičů, např. inzuchtovaných linií, je F_1 generace uniformní a generace F_2 je štěpící,
- ze známé genetické hodnoty mateřských rostlin (KM) a z neznámé genetické hodnoty otcovských rostlin.

Vzhledem k zvláštnostem cizosprašných rostlin mají výběrové postupy většinou menší účinnost a umožňují spíše postupné zlepšování šlechtěných populací v jejich genetické výbavě selekčním tlakem. K zvýšení účinnosti se jako součást výběrového postupu používají určité zásahy, umožňující kontrolované opylování žádanými genotypy (viz kap. 5.1).

Pro šlechtění odrůd typu populací se používají tyto **metody šlechtitelských výběrových postupů**:

a) hromadný výběr

Hromadný výběr (hromadná selekce) vyžaduje rozsáhlou generaci výchozího materiálu. Účinnost metody závisí na genetickém založení znaků, na jejich heritabilitě a na intenzitě selekce.

Při hromadné selekci se vybírají jen mateřské rostliny po společném a náhodném opylení. Výběr je účinný, ale pomalý a vyžaduje víceleté opakování. Účinnost hromadného výběru lze zvýšit skupinovým hromadným výběrem a selekcí před kvetením. Hromadný výběr je vhodný pro selekci znaků jednoduše geneticky založených a s vysokou heritabilitou. Podrobněji o hromadném výběru bylo pojednáno v kap. 5.1.2.2.

b) rodinová (kmenová) selekce

Rodinová (či kmenová) selekce je rodokmenová metoda modifikována pro cizosprašné rostliny, doplněná o účelné regulační zásahy opylování (viz kap. 5.1.2.2.). Z nich se v generaci rodin (kmenů) a případně i výběrového stupně V_1 využívá selekce před květem, častěji však selekce po odkvětu. Lze využít i separační metodu.

Metodu *selekce před květem*, tzn. před opylením rostlin, lze použít tehdy, když kritéria výběru KM nebo potomstev lze posoudit v této době. Např. lze posoudit zimovzdornost, produkci čerstvé hmoty, odolnost k listovým chorobám, barvu a tvar bulev aj. Negativním výběrem se nevyhovující KM a potomstva ve školce odstraní, např. vyžnutím či posekáním před rozkvetením.

Metoda *selekce po odkvětu* se realizuje prostřednictvím metody polovin či rezerv, která se používá v případě, že kritéria výběru lze posoudit až po dozrání a po sklizni. Např. zdravotní stav, výnos zrna, ukazatele jakosti zrna, aj. Postup je takový, že ve štěpící populaci se vyberou nejlepší rostliny (KM), individuálně sklizené osivo se rozdělí na 2 (3) části. Jedna část osiva se použije pro zásev tzv. předzkoušek kmenů - Př Km (rodin), zbytek se uchová. Na základě výsledků sledovaných kritérií se vyberou nejlepší kmeny (rodiny) a v následném roce se z rezervy jejich osiva zakládá hlavní zkouška kmenů - Hz Km (rodin). Vybrané kmeny se volně opylují. Osivo nejlepších kmenů se použije k založení školky V_1 , v případě potřeby se opět zařadí předzkouška a hlavní zkouška V_1 .

Na základě výnosovým a jiných výsledků v generaci V_1 se nejlepší rodiny přesejí do druhého výběrového stupně (V_2), nebo se přímo smíchají pro společný zásev.

Postup se používá v novošlechtění i v udržovacím šlechtění, zejména pro

šlechtitelský materiál ještě nevyrovnaný, nesbalancovaný. U vyrovnaného materiálu nemá smysl selekce v několika po sobě následujících generacích (V_1 a V_2), neboť v souvislosti s nástupem rovnovážného stavu jsou genetické rozdíly mezi rodinami nevýznamné. Schéma metody polovin je uvedeno na obr. 6.3.

Obr. 6.3.: Metoda polovin či rezerv (HOFFMANN a kol., 1971).

c) rekurentní selekce (RS)

Rekurentní selekci charakterizuje CHLOUPEK (1995) jako „opakující se“ výběr.

Začíná se základní populací označovanou jako cyklus 0, po které následuje populace 1. cyklu, 2. cyklu, atd. Výchozí populace musí vynikat selektovaným znakem, musí mít dostatečnou genetickou variabilitu, která pochází z geneticky různorodých předků. Vybrané rostliny v každém cyklu se mohou hodnotit podle fenotypu (př. podle odolnosti, obsahu oleje apod.), nebo podle genotypu (tj. podle kmenů, resp. rodin, kříženců či selfovaných rodin) a podle kombinační schopnosti. Podle kritérií použitých k hodnocení výběrových rostlin lze metodu rekurentní selekce dále členit (viz níže).

Obr. 6.4.: Rekurentní selekce (CHLOUPEK, 1995)

Rekurentní selekce obecně slouží ke zvýšení frekvence vynikajících genů a ke vzniku nových zlepšených rekombinací, což je účelem této metody. Počet vybraných rostlin pro další cyklus musí být vždy široký (neměl by být nižší než 100 rostlin), aby nedocházelo k samosprášení a k inzuchtní depresi.

Postup je následující: v základní populaci se vyberou nejlepší rostliny a vzájemně

se prokříží, osivo mateřských rostlin se vzájemně smíchá ve stejném poměru a zaseje se generace pro opětný výběr nejlepších rostlin. Postup se opakuje v dalších výběrových cyklech.

Metoda rekurentní selekce se hlavně využívá ve šlechtění cizosprašných rostlin, ale je použitelná i pro rostliny samosprašné.

Jak již bylo uvedeno, je několik metod rekurentní selekce, jejichž schématické znázornění je na obr. 6.4.:

a) *rekurentní selekce fenotypová*. Ze štěpící populace se vybírají nejlepší rostliny na základě jejich fenotypu (např. odolné rostliny z provokačního prostředí) k vzájemnému prokřížení a následné selekci.

a) *rekurentní selekce na základě KS*, zvaná též kmenová rekurentní selekce. Vede ke zlepšování populace na základě hodnocení potomstev rostlin (tj. kmenů, resp. rodin) po křížení se společným testerem, tj. celou populací. Vybrané rostliny z potomstva, které poskytlo např. nejlepší výkon, se vzájemně prokříží a vytvoří novou populaci pro další cyklus rekurentní selekce. Při volném opylení v rámci celé populace jde o selekci na základě OKS, je-li testerem geneticky úzká linie, jde o selekci na základě SKS.

Rostliny určené k vzájemnému prokřížení se mohou také samosprašovat. Rekurentní selekce mezi rodinami vzniklými ze samoopylení slouží ke zlepšení populace. Používá se u cizo- i samosprašných rostlin. Selfované rodiny (linie) se testují v různých lokalitách a nejlepší (z uschovaného osiva) se navzájem kříží a vytváří populaci nového cyklu.

c) *rekurentní reciproká selekce* slouží k výběru kmenů (rodin) na základě vzájemného křížení dvou segregujících populací A a B. Tyto populace slouží jako vzájemné testery. Nakříží se rostliny z vybraných kmenů ze dvou populací A a B navzájem, kříženci se samoopylí, testují a zbylé selfované osivo se použije pro křížení do dalších dvou populací nového cyklu. Tento postup slouží k výběru komponent pro hybridní odrůdy.

6.2.3. Šlechtitelský výběrový postup pro vegetativně množené rostliny

U vegetativně množených rostlin se šlechtí odrůdy typu **klonů**. Rostliny v rámci klonu jsou navzájem geneticky identické (v lokusech homozygotní i heterozygotní) a během šlechtění a množení se geneticky nemění, za předpokladu vyloučení vzniku mutací.

Selekce uvnitř klonu nemá smysl, neboť pokud je variabilita v klonu, pak je nedědičného charakteru. Výjimkou je somaklonální variabilita vznikající při kultivaci *in vitro* (viz kap. 5.5.).

Genetická variabilita u vegetativně množených se navozuje hlavně křížením. Je to nejrozšířenější metoda přípravy výchozího šlechtitelského materiálu. Často se musí používat vhodné metody donucování rostlin ke kvetení a tím k možnosti opylování (brambory). Jiné možnosti jsou mezidruhová hybridizace, samoopylení i křížení mezi částečně inbredními rodiči, případně rekurentní selekce a mutageneze.

Pro silnou heterozygotnost rodičů je F_1 generace již štěpící. Hybridní osivo se vysévá a získané semenáče se hodnotí. Vegetativní potomstvo vybraných semenáčů tvoří klony, které se dál šlechtitelsky individuálně sledují a hodnotí podle řady kritérií. Vyhovující klony po namnožení tvoří základy nových odrůd.

Zvláštností vegetativně množených je přímý vztah mezi heterozygotností a produktivností rostliny. Většina odrůd je proto v genetickém základu vysoce heterozygotní

a tento stav se udržuje vegetativním množením.

U apomikticky rozmnožovaných druhů (lipnice luční) lze obtížně navodit genetickou variabilitu. Jistou možností je vyhledání sexuálních typů, získaných např. indukovanou mutagenézí, samoopylením či následným křížením. Apomiktické druhy při množení nevyžadují prostorovou izolaci, je však nutné zabránit příměsím sexuálních typů.

Podstatnou součástí šlechtitelských výběrových postupů je vylučování odchylných typů, nevyhovujících klonů z hlediska šlechtitelského cíle a klonů náchylných a napadených chorobami, zejména virovými. Velkým problémem vegetativně množných rostlin je udržování vyhovujícího zdravotního stavu, zejména odolnosti k virovým chorobám.

Příkladem šlechtitelského výběrového postupu pro vegetativně množené je postup používaný ve šlechtění odrůd bramboru. Schéma výběrového postupu užívaného na ŠS Keřkov uvádí obr. 6.5. Základem je rodokmenová metoda modifikovaná pro klonový výběr.

Ke křížení se většinou využívají vhodné odrůdy, křížení se uskutečňuje ve skleníku. Z hybridního semene se vypěstují semenáče ve skleníkových podmínkách s cílem získat několik hlízek. Z vybraných semenáčů (podle řady kritérií na této úrovni) se vysazuje 1 - 2 hlízy v generaci zvané jedno (dvou) *hlízový ramš* v polních podmínkách. Po vyhodnocení individuálně sklizených rostlin se vybírají nejlepší a jejich hlízy se použijí k založení *klonové školky* (K1, 1. klonová generace). Klony se individuálně sledují a hodnotí. Hlízy nejlepších klonů se použijí k založení dalších klonových generací.

Klony jednotlivých generací výběrových stupňů se vedou individuálně na parcelách o potřebné ploše, v řádkové kultuře, v obvykle užívaném sponu, starší klony v několika opakováních. U všech klonových generací se používá časté řazení kontrolních parcel, které slouží pro porovnávání dosahované úrovně šlechtěných klonů. Největší podíl vylučovaných je opět u mladších výběrových stupňů.

Součástí výběrového postupu je řada testů a zkoušek sledovaných klonů. Nejlepší klony 4.-6. klonové generace se podrobují prověrce ve firemních zkouškách (dříve mezistaničních) a následně ve zkouškách pro registraci odrůdy. Perspektivní klony se současně namnožují.

Výběrové postupy pro ostatní druhy vegetativně množené (chmel, ovocné dřeviny a keře a pod.) jsou přizpůsobené biologií plodiny.

Obr. 6.5.: Šlechtitelský výběrový postup v novošlechtění brambor na ŠS Keřkov (kl - klonové generace, TZ - týmové zkoušky, NS - nová sadba, P₁, P₂ – přesadby), OZ - odrůdové zkoušky.

6.3. ŠLECHTITELSKÉ VÝBĚROVÉ POSTUPY PRO ŠLECHTĚNÍ HYBRIDNÍCH ODRŮD

Hybridní odrůdy vznikají vzájemným kontrolovaným křížením 2 až 4, případně i více rodičovských komponent s dobrou kombinační schopností. Vynikající kombinační schopnost je předpokladem pro vznik heteroze v první filiální generaci (u hybridů F_1) po nakřížení a transgrese v několika následných generacích u syntetických populací (CHLOUPEK, 1995).

Teoretické základy hybridního šlechtění, přednosti hybridních odrůd, typy hybridních odrůd byly objasněny v kapitole 5.3. V této kapitole bude věnována pozornost výběrovým postupům šlechtění hybridních odrůd.

Vycházíme z existence 2 typů hybridních odrůd: hybridů F_1 generace a syntetické populace (odrůdy).

6.3.1. Šlechtění odrůd typu hybridů F_1

Šlechtění odrůd typu hybridů F_1 se sestává ze 6 etap:

- a) vytvoření štěpící (segregující) populace,
- b) samoopylování (inbreeding) populace pro dosažení homozygotnosti,
- c) hodnocení KS, výkonnosti a agronomické hodnoty linií,
- d) hodnocení linií v experimentálních hybridech,
- e) výroba základního osiva inbrední linie
- f) výroba osiva hybridů

Štěpící populace slouží pro výběr výchozího materiálu pro vyšlechtění mateřských i otcovských komponent (linií). Populace může být tvořena jednoduchými, tříliniovými a dvojitými hybridy, dále kříženci ze zpětného i vícenásobného křížení. Vhodné jsou i syntetické populace složené z geneticky odlišných komponent. Nové linie lze vytvořit i rekurentní selekcí.

Populace musí být dostatečně široká, aby poskytla možnost tvorby velkého počtu linií, z nichž jen nepatrná část je pak vhodná pro tvorbu hybridů. Uvádí se, že pro tvorbu jednoho hybridu je třeba vycházet z několika tisíc rostlin, několika set v prvních zkouškách výkonu a několika desítek v konečném hodnocení (CHLOUPEK, 1995).

Cílem *samoopylování populace* je homozygotizace a vytvoření vyhovujících inzuchtovaných (inbredních) linií v žádaných znacích a vlastnostech. Postup vyšlechtění inzuchtované linie byl popsán v kapitole 5.3.

Hodnocení kombinační schopnosti linií bylo rovněž předmětem kapitoly 5.3.. Linie vybrané pro heterozní křížení je nutné udržovat a rozmnožovat pro každoroční křížení v prostorových izolacích. Produkce pylu a semen je však nepřímo úměrná stupni inzuchtů, což je významné pro ekonomickou produkci osiva zejména u jednoduchých hybridů.

Hodnocení linií v experimentálních hybridech zahrnuje posouzení vhodnosti linií do sestavy hybridů z hlediska řady biologických i agronomických kritérií. Předpokládá se vytvoření hybridů a jejich prověrku, nejlépe v několika lokalitách i ročnicích.

Typy hybridů a technika jejich výroby

Typy hybridů a jejich struktura byly uvedeny v kap. 5.3., schématicky je znázorňuje i obr. 6.6.. V této části se budeme věnovat technice vyšlechtění hybridních odrůd typu hybridů F_1 .

Obr. 6.6.: Druhy meziliniových hybridů (CHLOUPEK, 1995).

K získání hybridního osiva lze využít dva způsoby:

- a) ze směsi rodičovských komponent vysetých v určitém poměru a hromadnou

sklizní. Na základě odlišné barvy, případně velikosti semen (semena $3n$ a $2n$) lze mechanicky směs hybridního a nehybridního osiva vytržít vhodným technickým zařízením.

b) pomocí organizovaně uspořádaných komponent v hybridizačním poli (školce), kdy rodičovské komponenty se vysévají střídáním řádků mateřské a otcovské komponenty (systémem top-crossu) ve vhodných poměrech, např. 3:1, 6:2, 4:2 apod.

Střídání řádků umožňuje jednak kastraci mateřského komponenta, včasné odstraňování otcovského komponenta z porostu a dále oddělenou sklizeň mateřského komponenta s hybridním osivem.

Struktura a počet možných hybridů

Počet možných experimentálních hybridů souvisí s typem hybridu (r = rok, n = počet rodičovských komponent).

a) **jednoduchý hybrid** (Sc) vzniká křížením 2 rodičovských komponent A a B (odrůd, linií):

| | | |
|-------|--------------|--------------------------------------|
| r | $A \times B$ | Počet možných hybridních kombinací = |
| $r+1$ | Sc_{AB} | $1/2 [n(n-1)]$ a |
| | | $n(n-1)$ včetně reciprokých |

Rostliny rodiče A je nutné kastrovat.

Příkl.: z 10 linií lze vytvořit 45, resp. 90 hybridních kombinací.

Při využití *pylové sterility*: komponent A_{st} je pylově sterilní

| | | |
|-------|-------------------------|--|
| r | $A_{st} \times B$ | komponent B je obnovitelem fertility s |
| | $S(rfrf) \quad N(RfRf)$ | cytoplasmou N a s genetickou výbavou genů Rf |
| $r+1$ | Sc_{AB} | |
| | $S(Rfrf)$ | F_1 je pylově fertilní |

Modifikovaný jednoduchý hybrid (MSc) vzniká křížením

| | | |
|-------|---------------------------|--|
| r | $(A^* \times A) \times B$ | rodič $(A^* \times A)$ vzniká křížením |
| $r+1$ | Sc_{AB} | úzce příbuzných sesterských linií |

Předností modifikovaného hybridu je vyšší výnos rostlin mateřského rodiče, což vede k celkovému zlevnění produkce hybridního osiva.

Dvojitě modifikovaný jednoduchý hybrid vzniká křížením:

$$(A^* \times A) \times (B^* \times B)$$

b) **tříliniový hybrid** (Tc) vzniká křížením 3 rodičovských komponent:

| | | |
|-------|---------------------|--------------------------------------|
| r | $A \times B$ | Počet možných hybridních kombinací = |
| $r+1$ | $Sc_{1AB} \times C$ | $1/2 [n(n-1)(n-2)]$ |
| $r+2$ | T_{ABC} | |

Rostliny rodiče A i Sc_{AB} je nutné kastrovat.

Příklad: z 10 linií je možných 360 kombinací.

Při využití *pylové sterility*:

| | | |
|-----|-------------------|--|
| r | $A_{st} \times B$ | |
|-----|-------------------|--|

| | | |
|-----|---|--|
| | $S(rfrf) \quad N(rfrf)$ | |
| r+1 | $S_{cst} \times C$ $S(rfrf) \quad N(RfRf)$ | do S_c je pylová sterilita přenesena z rodiče A_{st} |
| r+2 | T_{CABC} $S(Rfrf)$ | rodič C je fertilní a obnovuje fertilitu T_c |

Modifikovaný tříliniový hybrid vzniká křížením sesterské line na úrovni rodiče A , nebo na úrovni A i B, případně jen na úrovni rodiče C.

c) **dvojitý hybrid (Dc)** vzniká křížením 4 rodičovských komponent

| | | | |
|-----|--------------|--------------|---------------------------|
| r | $A \times B$ | $C \times D$ | Počet možných kombinací = |
| r+1 | S_{CAB} | S_{CAB} | $1/8 [n(n-1)(n-2)(n-3)]$ |
| r+2 | D_{CABCD} | | |

Rodiče A a C a S_{CAB} je nutné kastrovat.
Př. z 10 linií je možných 630 kombinací.

S využitím *pylové sterility*:

| | | | |
|-----|--|--|--|
| r | $A_{st} \times B$ $S(rfrf) \quad N(rfrf)$ | $C_{st} \times D$ $S(rfrf) \quad N(RfRf)$ | Rodiče A i C a S_{CAB} jsou pylově sterilní |
| r+1 | S_{cstAB} $S(rfrf)$ | S_{cCD} $S(Rfrf)$ | S_{cCD} je v daném případě neúplným obnovitelem pylové fertility |
| r+2 | D_{CABCD} $S(rfrf) + S(Rfrf)$ | | Dc má asi 50 % rostlin pylově sterilních |

Je-li rodič C a D genotypu $N(RfRf)$, pak Dc je plně fertilní.

V současné době v LPO (1996) z celkového počtu 116 hybridů kukuřice jsou z modifikovaných hybridů 4 MSc a 5 MTc.

Prověрка vhodnosti sestavení hybridů

Vyšší vyrovnanost se vyznačuje hybrid S_c , hybridy T_c a D_c vykazují vyšší produkční schopnost, adaptabilitu a plasticitu.

Kriteriem vhodnosti sestavení hybridů je zpravidla jejich výnos a k jeho zjištění se zakládají zkoušky výkonu všech experimentálně získaných hybridů. Při velkém počtu hybridů je to obtížně zvládnutelné.

Podle Jenkinse lze výkonnost dvojitých hybridů odhadnout propočtem, a to na základě výnosů tzv. nepřímých jednoduchých hybridů:

na příklad: u čtyřliniového hybrida $(A \times B) \times (C \times D)$:
 $= 1/4 [(A \times C) + (A \times D) + (B \times C) + (B \times D)]$

$$\begin{aligned} \text{u tříliniového hybridu} \quad & (A \times B) \times C : \\ & = 1/2 [(A \times C) + (B \times C)] \end{aligned}$$

Metoda předpokládá mít k dispozici výnosové výsledky nepřímých hybridů. Podle propočtů se sestaví hybridy s nejvyšší očekávanou výkonností a otestují se v polních podmínkách.

Nově vyšlechtěný hybrid musí odpovídat požadavkům zákona o registraci odrůd, musí být odlišitelný, uniformní a stálý ve znacích a vlastnostech a musí vykazovat požadovanou úroveň produkční schopnosti.

Výroba hybridního osiva probíhá podle určitých systémů. Systémy zahrnují množení předstupňů (linií, linií s CMS), v druhém sledu výrobu osiva mateřské a otcovské komponenty a ve třetím sledu produkci vlastního hybridního osiva. Schématické znázornění produkce hybridního osiva podle Geigera je na obr 6.7.

Obr. 6.7.: Produkce hybridního osiva (CHLOUPEK, 1992).

U předstupňů se klade důraz na produkci osiva v izolacích a na odstraňování odlišných typů z porostu před kvetením a na pečlivost při množení inzuchtovaných linií, pylově sterilních linií a jednoduchých hybridů. Mateřské a otcovské komponenty se pěstují zpravidla v řádkových pruzích v poměru 2:1 až 4:1., což umožňuje odstraňování odlišných rostlin a oddělenou sklizeň. Doporučuje se synchronizovat kvetení vhodným zásahem (časově odlišný výsev, stimulatory). Hybridní osivo lze vyrábět i ve směsi mateřské a otcovské komponenty, zvláště je-li použita mateřská komponenta s CMS a nebo s odlišnou velikostí či barvou semen k možnému vytřídění hybridních semen.

Příklady šlechtění hybridních odrůd

Nejrozšířenější je šlechtění hybridů **kukuřice** pěstované jak pro semeno, tak pro silážní účely. Uplatňují se všechny známé typy hybridů.

Z ostatních významných plodin jsou to:

- **cukrovka a krmná řepa**, u nichž se využívají hybridy na diploidní ($2n = 18$) a triploidní úrovni, u cukrovky převažují triploidní hybridy ($2n = 3x = 27$), a to většinou na bázi pylové sterility CMS. Produkce hybridního osiva vyžaduje 3 komponenty: linie s

CMS, linie udržovatele typu O a diploidní nebo tetraploidní opylovače. Mateřské linie jsou jednosemenné (monogermní) a za opylovače se používají vícesemenné populace, neboť produkují více pylu a zaručují lepší opylení. Je-li opylovač diploidní je hybrid také diploidní, je-li tetraploidní, je hybrid triploidní.

- **řepka olejná**, která má pro hybridní odrůdy dobré předpoklady, její cizosprašnost dosahuje asi 25 % a má vysoký rozmnožovací koeficient. Šlechtění hybridních odrůd je do jisté míry na začátku, neboť je spojeno s řadou problémů. Přesto existuje již několik hybridních odrůd v Evropě, využívá se CMS a autoinkompatibilita, efektivní může být i haploidní technika.

- **žito**, u kterého je šlechtění hybridních odrůd žita umožněno existencí několika typů pylové sterility. Největší uplatnění má typ "Pampa" pocházející z cytoplazmy argentického lesního žita a je dobře přenosný do linií, fertilita je dobře obnovitelná geny Rf. Nejvíce rozvinuto je hybridní šlechtění v SRN, kde bylo povoleno již několik odrůd. Vyznačují se vyšším výnosem o 5-17 %, kratší slámou a nepoléhavostí a dobrou pekařskou jakostí. Hybridní odrůdy žita jsou v sortimentu registrovaných odrůd v ČR od roku 1992.

Podklady byly převzaty z práce CHLOUPKA (1992).

6.3.2. Šlechtění syntetických populací

Šlechtění vychází z toho, že syntetická populace (odrůda) vzniká vzájemným prokřížením rodičovských komponent (jedinců, klonů, geneticky zúžených populací a inzuchtovaných linií), které prokázaly dobrou kombinační schopnost (KS). Syntetické populace se vytvářejí na bázi OKS. Je několik metod a postupů k zjištění a vyhodnocení úrovně OKS potenciálních komponent syntetické populace (viz kap. 5.3.).

Nejvíce používaný je test hromadného křížení, tzv. poly-cross test, který umožňuje přezkoušení jakkoli heterozygotních jedinců na jejich KS. Podmínkou je, aby po dobu konání zkoušek u vybraných jedinců byla zachována původní genetická forma. To se děje buď vegetativním množením (klonováním a řízkováním např. u pícnin), nebo nuceným samosprašením části květů vybraných rostlin. Dalším předpokladem je převládající cizosprašnost zkoušených komponent.

Postup šlechtění syntetické populace tedy zahrnuje:

a) vyhledání vhodných komponent podle fenotypu a podle prověřené KS. Za výchozí a rodičovské komponenty lze použít: inzuchtované linie, klony (u víceletých pícnin), různé typy hybridů, geneticky zúžené populace vzniklé opylováním v rámci potomstva a potomstva z volného opylení,

b) udržování vybraných rodičovských komponent bez genetických změn, což se zpravidla zabezpečuje udržováním porostu ve vegetativní fázi v tzv. klonové školce (uchování komponent v klonové školce je největším úskalím, neboť za krátkou dobu dochází k zaplevelování a k postupnému úbytku udržovaných klonů). Komponenty lze také udržovat v původní genetické struktuře ze semenné rezervy.

c) vzájemné prokřížení vybraných komponent s využitím přirozeného způsobu opylování větrem či hmyzem prostřednictvím vzájemného sousedství s cílem získat hybridní osivo,

d) reprodukci dalších generací syntetické populace volným opylováním v izolaci do generace Syn₂. Na této úrovni se zpravidla uskutečňují firemní zkoušky a zkoušky pro registraci odrůdy.

e) udržovací šlechtění syntetické odrůdy a množení v dalších generacích Syn₃ - Syn₄.

Obr. 6.8.: Postup tvorby hybridu F₁ (kukuřice) a syntetické populace (vojtěška) - podle CHLOUPKA (1995).

Pro označování generací se využívá zkratka Syn a číselný index generace. Podle BRIGGSE a KNOWLESE (1967) jednotlivé generace lze charakterizovat takto:

Syn₀ - označuje soubor komponent v hybridizační školce, poskytující osivo pro zásev další generace,

Syn₁ - je generace jednoduchých hybridů (F₁), pěstovaná v izolaci a poskytující osivo pro založení následné generace,

Syn₂ - má širší genetický základ a odpovídá segregující populaci F₂.

Syn₃₋₄ - mají široký genetický základ a podle Hardy-Weinbergova zákona nastává v

populaci homeostáze. Tyto generace se zpravidla využívají v provozních podmínkách.

Na obr. 6.8. lze posoudit rozdíly v postupu tvorby hybrida generace F_1 a syntetické populace.

Postup **hromadného křížení** (poly - cross testu) zahrnuje:

a) *základní výběrovou školku (ZVŠ)* s 5-10 tisíci jedinců, u nichž se sleduje a hodnotí úroveň žádaných znaků a vlastností, úroveň hospodářské hodnoty, zdravotního stavu, průběh fenofází apod. Asi 5-10 % nejlepších jedinců se vybere a vegetativně namnoží (naklonuje) na potřebný počet k založení klonové školky.

b) *klonovou školku (KŠ)*, založenou z připravených klonů nejlepších jedinců, v řádcích (po 20 jedincích) k hodnocení produkční schopnosti, fenotypu, fenofází (doba kvetení) aj. V klonové školce se klony současně udržují ve vegetativní fázi opakovaným sežínáním. Na základě komplexního vyhodnocení se vybere 60 -100 klonů k opětovnému naklonování na potřebný počet sazenic k založení polycrosní školky.

c) *školku hromadného křížení - polycrosní školku (PC)*, což je parcela vzniklá vysázením připravených naklonovaných sazenic s cílem vzájemného prokřížení vybraných komponent za účelem zjištění úrovně jejich OKS. Zakládá se v izolaci před nežádoucím nekontrolovaným cizosprašením. Sazenice jednotlivých klonů (genotypů) vybraných na základě hodnocení v klonové školce se rozmisťují podle určitého systému tak, aby došlo v vzájemném opylení všech klonů prostřednictvím rozdílného sousedství. Klony se umisťují do několika opakování. Zásada je, aby každý klon s každým jiným sousedil nejméně jedenkrát.

Semena jednotlivých rostlin příslušného klonu se sklízí odděleně a sleduje se individuální produkce. Semeno rostlin stejného klonu (genotypu) se smíchá a připraví k setí.

d) *zkoušky výkonu F_1 (ZV)* hybridů jednotlivých klonů z hromadného křížení. Zkoušky se zakládají v opakováních na více lokalitách. Hlavní kritéria pro hodnocení: výnos, ukazatelé jakosti, zdravotní stav aj.

Podle výsledků ZV se stanoví úroveň OKS prověřovaných rodičovských komponent a klony s nejlepší KS se použijí k založení hybridizační školky.

e) *hybridizační školku (HŠ)*, která se zakládá stejným způsobem a na stejném principu jako PC. K založení se použije původní rostlinný materiál, do té doby uchovávaný v klonové školce (nebo ze semenné rezervy), opět namnožený klonováním. Za optimální počet klonů k založení školky je považováno 6 - 8 až 10 nejlepších klonů (genotypů). Osivo se sklízí zpravidla hromadně a představuje generace Syn_0 a slouží pro rozmnožování do dalších generací.

Obr. 6.9. uvádí schéma metody poly-cross testu pro píceiny.

Výše heterozního efektu syntetické odrůdy, jejíž osivo je získáno v generaci Syn_0 , je závislá na synchronní době kvetení, na množství vytvořeného a uvolněného pylu a přeneseného na zralé blizny, na kompatibilitě pylu, na podmínkách pro přenos pylu.

Pro šlechtění syntetických odrůd žita byla nově vyvinuta zdokonalená kombinovaná metoda hromadného křížení, tzv. **polytop-cross** (PTC) podle Köchlinga, jejíž princip popisuje ČAPEK (1990).

Obr. 6.9.: Polycross-test pro píce (HOFFMANN a kol., 1971).

7. TECHNIKA A MECHANIZACE ŠLECHTITELSKÉ PRÁCE

Šlechtitelský proces je dlouhodobý, nepřetržitý a probíhá v několika etapách. Jednotlivé etapy na sebe navazují a každá etapa má specifické poslání. Šlechtitel pracuje s geneticky velmi odlišným a početně rozsáhlým materiálem, který soustřeďuje do šlechtitelských školek.

7.1. DRUHY ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLEK

Šlechtitelské školky slouží pro zpracování šlechtitelského materiálu. Využívá se několik druhů šlechtitelských školek:

- *sbírková školka*, slouží k shromažďování a sledování genetických zdrojů, tj. planých druhů, polokulturních forem, krajových odrůd, mutantů a linií a také ke sledování sortimentu domácích a zahraničních odrůd,

- *školka umělých populací*, ve které se shromažďují hybridní generace (F₁, F₂), dále generace po ovlivnění mutageny M₀ a C₀, a to v porovnání se současně vysetým výchozím (rodičovským) materiálem,

- *výběrové školky*, jsou školky používané ve šlechtitelských výběrových postupech. Jsou to školky jednotlivých výběrových stupňů (generací), jako školky kmenů (K_m), rodin, klonů (K_l) a školky výběrových stupňů (V₁ V₂). Školky slouží k prověřování úrovně znaků a vlastností potomstev v postupných generacích a jejich shodu se šlechtitelským cílem (ideotypem) a současně slouží k rozmnožování nadějných původů pro další šlechtitelskou práci.

Pro jednotlivé generace cizosprašných druhů je nutné zajistit prostorovou či technickou izolaci.

Výběrové školky nejmladšího šlechtitelského materiálu se zakládají zpravidla na malých parcelkách o ploše několika m² a bez opakování pro nedostatek osiva (sadby), většinou řídkým výsevem či výsadbou, v současné době bezezbytkovými secími stroji, případně ručně. Sklizeň jednotlivých rostlin (KM) je většinou ruční, sklizeň kmenových generací zpravidla pomocí malé mechanizace.

Výběrové školky starších šlechtitelských generací slouží ke kontrole a k prověrce úrovně produkční schopnosti potomstev (tzv. zkoušky výkonu - ZV) a jakostních ukazatelů, k prověrce přezimování, odolnosti k poléhání a k chorobám, také ke sledování růstu a vývoje. Jsou zakládány na větších plochách (5, 10-15 m²), v 3-4 opakováních, i na více lokalitách. Sklizeň je většinou mechanizovaná (maloparcelní sklizeče), výsledky se vyhodnocují statistickými metodami, dnes pomocí počítačových programů.

Součástí šlechtitelského procesu jsou různé *agrotechnické pokusy*, jejichž účelem je zjistit např. vhodnou hustotu porostu, dobu výsevu, účelnou výživu apod. Součástí jsou i *provokační zkoušky* např. na stupeň odolnosti k vyzimování, odolnosti k chorobám a k poléhání apod.

7.2. ZÁSADY ZAKLÁDÁNÍ A SKLIZNĚ ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLEK A POKUSŮ

Zásady zakládání šlechtitelských školek a pokusů se týkají:

1) *Výběru a přípravy pozemku*. Výběru vhodného pozemku (stanoviště) a jeho přípravě je nutné věnovat zvýšenou péči. Pozemek pro založení šlechtitelských školek a pokusů musí být vyrovnaný půdou i výživným stavem, po jednotné předplodině podle osevního sledu, nemá být zaplevelený, zejména vytrvalým plevelem. Měl by mít vhodnou expozici, nejlépe na rovině a s vyloučením nevhodných a extrémních expozic.

Příprava půdy k založení školky musí být pečlivá, se zřetelem na způsob zakládání školky (ručně či strojem), musí být provedena včas a jednotným způsobem.

2) *Způsobu zakládání školek*. Školky i pokusy se zakládají podle předem připravených plánků a s dodržováním pokusnických zásad. Šlechtitel volí vhodnou a odpovídající pokusnou metodu, která zahrnuje optimální velikost parcel, jejich uspořádání, počet opakování v blocích, v ročnicích i v lokalitách, a to s ohledem k metodě statistického vyhodnocení získaných dat a výsledků.

Všechny práce spojené se zakládáním školek se mechanizují. Výsev se zajišťuje samochodnými, poloautomatickými secími stroji se systémem bezezbytkového výsevu.

Zásev školky secími stroji zrychluje práce a zkracuje dobu potřebnou k založení školky, zvyšuje se přesnost a rovnoměrnost hloubky i množství výsevu, což příznivě ovlivňuje rovnoměrnost vzházení. Výsev secího stroje se seřizuje na přesně vypočítanou normu výsevku, u bezezbytkových secích strojů se předem připraví potřebné množství osiva na určenou plochu zasévané parcely. Při ručním setí (vysazování sazenic) se pro zvýšení přesnosti používají různé secí a sázecí latě, desky a značkovací bubny. Výsev se provádí v pásech, mezi nimiž se ponechávají manipulační cestičky. Přesné rozdělení semen (sazenic) na ploše zabezpečuje jednotnost porostu, možnost objektivního posouzení, výběr perspektivních jedinců (potomstev) a objektivnost ve vzájemném porovnávání úrovně znaků či vlastností.

Pro výpočet plochy školky je nutné znát výsevní spon, počet řádků, plochu a počet parcel (pokusných členů) ve školce, počet kontrol a plochu manipulačních ploch, cest a ochranných pásů.

S více rozvedenými požadavky a zásadami zakládání školek a pokusů, se způsoby a metodami zakládání školek a pokusů i s metodami vyhodnocování výsledků, se lze seznámit v učebnicích polního pokusnictví.

3) *Ošetřování školek a pokusů.* Zásadní je požadavek na pečlivé vedení a ošetřování školek a pokusů podle stanovených, nebo pro pracoviště obvyklých zásad. Všechny práce se dělají podle běžných zásad a ve vhodný čas, pečlivě a svědomitě, na celé ploše školek stejným nářadím a stejným způsobem.

4) *Sklizně školek a pokusů.* Sklizeň šlechtitelského materiálu je pracovně i organizačně nejnáročnější a také nejzodpovědnější práce, při níž také je velké nebezpečí vzniku chyb, čemuž je třeba předcházet.

Šlechtitelský materiál se sklízí ručně pro zachování celistvosti rostliny (vytrháváním rostlin s kořeny), nebo pokosením jednotlivých rostlin (jednotlivých klasů) případně celých potomstev. K mechanizované sklizni se užívají sklizňové stroje konstruované pro sklizeň malých ploch (maloparcelkové sklízecí mlátičky, žací stroje stroje, samohodné sekačky) v závislosti na plodině, stáří šlechtitelské generace a perspektivě dalšího využití. Sklízí se ve vhodné době zralosti, aby nevznikaly zbytečné ztráty. Stroje mají být snadno ovladatelné, s dobrou manipulační schopností. Nejdříve se sklízí okrajové a ochranné pásy, pak jednotlivé parcely se šlechtitelským materiálem.

Vybrané a sklizené rostliny se ihned označují. Při sklizni semen do pytlů (kontejnerů) je žádoucí používat dvojí označení, např. jednu návěsku s označením původu vložit do pytle a druhou přivázat na pytel.

5) *Posklizňové úpravy osiva či sadby.* Je nutné dodržovat zásadu správného označení, předcházet nebezpečí pomíchání nebo poškození sklizeného materiálu. Pro uskladnění rostlin, semen, hlíz, bulev apod. se používají speciální skladovací prostory (snopkárny, regálové sklady, bramborárny, sazečkárný), materiál se ukládá v sáčcích, v pytlích a větší množství se uskladňuje v kontejnerech, sadba v boxech v bramborárnách či v sazečkárnách při optimálních teplotních i vlhkostních podmínkách.

6) *Posklizňových rozborů.* Rozbory šlechtitelského materiálu se provádějí v rozborovnách (laboratořích) vybavených potřebnou technikou a zařízením (rozborové stoly, klasové mlátičky, laboratorní čističky, váhy, počítadla semen aj.) a laboratorními přístroji (klíčidla, sušárny, analytické přístroje, přístroje pro technologické analýzy a pod.), nebo např. na rozborových linkách vybavených moderními automatizovanými a elektronickými analytickými přístroji.

7.3. DOKUMENTACE VE ŠLECHTITELSKÝCH ŠKOLKÁCH A POKUSECH

Vedení šlechtitelské dokumentace je neoddělitelnou součástí šlechtitelského procesu. Zahrnuje hodnocení stavu, vývinu porostu a reakce porostů na vnější podmínky. Zásadou vedení dokumentace je přesnost, pečlivost a systematičnost. Získané údaje představují cenné podklady pro objektivní hodnocení šlechtitelského materiálu.

Druhy šlechtitelské a pokusnické dokumentace jsou tyto:

- *polní zápisník* pro prvotní záznamy o místě založení školky, přípravě půdy, hnojení, setí, ošetření a sklizni. Zapisuje se datum a způsob provedení,
- *vegetační zápisník* pro záznamy o růstu a vývoji porostů ve školkách, o hodnocení stupně odolnosti a reakce porostů, případně pro další záznamy prováděné během vegetace.
Pro sledování stavu porostů se využívají fenologické stupnice, zaznamenává se datum nástupu fenologické fáze (vzcházení, metání, kvetení apod.) když fáze dosáhne asi 10 % (25 %) rostlin, plnou fázi když ji dosáhne 75 % rostlin. Stav se také hodnotí bodováním podle stupnice 1 - 9 (nejhorší - nejlepší, optimální), případně se vyjádří počtem rostlin (např. napadených chorobou) nebo v procentech plochy parcely.
Přesné stanovení stavu porostů vyžaduje časté pozorování a sledování. Spolehlivost a hodnověrnost záznamů se zajistí když pozorování provádí stejná osoba, při sledování v pravidelných intervalech a když pozorování a sledování se provádí v celé školce (v celém opakování) v průběhu jednoho dne.
- *rozborový záznamník* (protokol), používaný pro záznam výsledků při rozborech rostlin, rostlinných vzorků v laboratořích a rozborovnách. Záznamníky jsou připraveny pro jednotlivé druhy či skupiny plodin.

Pro sledování a hodnocení šlechtěného materiálu ve školkách a v pokusech je nutné řádné **označení původů**, důležité pro orientaci ve školce a následně pro záznamy ze sledování. Je řada způsobu značení, zásadou je označení kmenů, linií, jednotlivých parcel a rostlin na parcelkách, ročníků apod.

Racionalizace šlechtitelského procesu

K racionalizaci šlechtitelského procesu náleží využívání skleníků pro předpěstování šlechtitelského materiálu, pro vedení šlechtěnců a práci s nimi např. během zimy při umělém osvětlení, dále využívání klimatizovaných prostor a fytotronů s umělým osvětlením a zavlažováním k vypěstování počátečních generací. Racionální využívání těchto zařízení umožní šlechtiteli získat 2 - 3 generace během roku při aplikaci umělé jarovizace a umělého osvětlení.

K racionalizaci šlechtitelského procesu náleží využívání moderních metod a postupů hodnocení šlechtitelského materiálu v raných generacích, např. využívání genetických markerů, dále zjednodušení selekčních postupů, omezení analýz, využívání vizuálního hodnocení, které však vyžaduje dostatečně velkou zkušenost.

8. ODRŮDOVÉ ZKUŠEBNICTVÍ

Odrůdové zkušebnictví je důležitým spojovacím článkem mezi šlechtitelským pokrokem a úrovní rostlinné výroby. Zvýšení efektivity rostlinné produkce a zlepšení nabídky rostlinných produktů má úzkou vazbu na existenci nových a vysoce kvalitních odrůd. Díky šlechtění jsou současné nové odrůdy odolnější k chorobám a k nepříznivým vlivům, jsou méně poléhavé a většinou výnosnější s dobrými kvalitativními ukazateli. V zemích s vyspělým zemědělstvím, a podobně i v ČR, se u významných zemědělských plodin zvyšovala výkonnost nových odrůd za posledních 50 let o 0,5 - 1,5 % ročně.

Odrůdové zkušebnictví v České republice zahrnuje oblasti zkoušení a registrace nových odrůd, udílení právní ochrany odrůdám a ověřování úrovně odrůd stávajících.

Hospodářské vlastnosti odrůd lze prověřit několikaletým objektivním zkoušením na dostatečně velkém počtu pokusných míst v různých pěstitelských podmínkách. Zkoušení a registrace nových odrůd spojená s uváděním osiva odrůdy na trh, je ve správě státu prostřednictvím příslušných odborů Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ).

8.1. HISTORIE ZKOUŠENÍ ODRŮD

První zprávy o zkoušení odrůd v polních podmínkách na Moravě (spíše nahodile a s cizími odrůdami) jsou z r. 1820. Systematické zkoušení odrůd má začátek v období let 1863 - 65, nejdříve na soukromých statcích, např. v Přílepech, v Blansku. V období let 1872 - 85 Emanuel Proskowetz v Kvasicích a v Židlochovicích prověřoval na velkých plochách cizí odrůdy ječmene.

Roku 1885 byl založen Spolek pro zvelebení zemědělského pokusnictví (o založení se zasloužil E. Proskowetz) a odrůdy se zkoušely na malých parcelách, v opakováních a při vzájemném porovnávání. Byly zakládány zkušební stanice u zemědělských škol, např. v Přerově, v Táboře a v Brně.

První zákon o povinném zkoušení odrůd byl zákon č. 128 z r. 1921, který stanovil uznávání původnosti odrůd, zkoušení odrůd a uznávání osiva a sadby.

V roce 1941 bylo zavedeno povinné zkoušení na samostatnost, vyrovnanost a užitkovost odrůdy před jejím povolením.

Zákonem č. 188/1950 Sb. a vyhláškou č. 188/1951 Sb. byly sjednoceny dílčí zákonné předpisy pro odrůdové zkušebnictví. Byla určena doba zkoušení na 3 roky u jednoletých a na 5 let u víceletých rostlin.

V roce 1951 byl zřízen Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ).

V roce 1964 byl přijat zákon č. 61/1964 Sb. a vyhláška ministerstva zemědělství č. 62/1964 (Zákon o rozvoji rostlinné výroby), který určoval povinnost používat **uznané osivo a sadbu úředně povolených odrůd**. Povolenou odrůdou mohla být odrůda krajová, šlechtěná a hybridní. Před povolením musela být prozkoušena na samostatnost, stálost a vyrovnanost znaků a na pěstitelskou hodnotu v síti odrůdových zkušeben odboru odrůdového zkušebnictví ÚKZÚZ.

Změny v systému odrůdového zkušebnictví nastaly po přijetí dvou významných zákonů, a to zákona č. 132/1989 Sb. a zákona č. 92/1996 Sb., jejichž obsah je uveden v kap 8.3.

Obr. 8.1.: Rozmístění zkušebních stanic ÚKZÚZ (r. 1995).

8.2. ORGANIZACE A ZAJIŠTĚNÍ ODRŮDOVÝCH ZKOUŠEK

Až do přijetí nového zákona č. 92/1996 Sb. O odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin platil systém komplexního zkoušení a prověřování nadějných novošlechtění na třech úrovních:

1) ve staničních zkouškách v rámci šlechtitelského procesu, včetně doplňkových agrotechnických a poloprovozních zkoušek a pokusů,

2) v mezistaničních zkouškách (MZ) se novošlechtění zkoušela dva až tři roky v místech s odlišnými přírodními podmínkami ve vybraných šlechtitelských stanicích. Posláním MZ bylo v konkurenčních podmínkách zjistit úroveň zkoušených novošlechtění ve celé škále sledovaných znaků a vlastností.

3) ve státních odrůdových zkouškách (SOZ) na určených odrůdových zkušebnách ÚKZÚZ. Do SOZ se přihlašovala nejlepší novošlechtění na základě výsledků MZ.

Součástí bývalého složitého systému povolovacího řízení bylo projednávání výsledků SOZ v subkomisích pro skupiny plodin, pak v plenárním zasedání státní odrůdové komise (SOK). Povolená odrůda byla zapsána do státní odrůdové knihy a do rejstříku povolených odrůd. Tento systém byl změněn novými právními předpisy.

V souvislosti s privatizací šlechtitelských a semenářských organizací a se vstupem zahraničních firem na domácí trh, se místo centrálně organizovaných mezistaničních zkoušek zakládají tzv. *firemní zkoušky*. Výsledky těchto zkoušek jsou nutnou součástí žádosti o registraci nové odrůdy.

Současný systém odrůdového zkušebnictví v ČR vychází ze zásad platných právních norem (viz níže). Zkoušení odrůd pro registraci (dříve SOZ) zajišťuje odbor odrůdového zkušebnictví ÚKZÚZ (se sídlem v Brně) na svých zkušebních stanicích rozmístěných ve výrobních oblastech ČR. Většina odrůdových zkoušek se zakládá na těchto zkušebních stanicích. Pro odrůdové zkoušky lze využívat i další pokusná místa univerzit, šlechtitelských stanic a výzkumných ústavů.

Odbor odrůdového zkušebnictví zajišťuje dva typy zkoušek:

a) zkoušku na odlišnost, uniformitu a stálost odrůdy, tzv. zkoušku DUS - distinctness, uniformity, stability. Zkouška DUS je nezbytná pro registraci odrůdy a udělení právní ochrany odrůdy,

b) zkoušku užitné hodnoty odrůdy, která je nutná pro registraci odrůdy rostlinných druhů uvedených v zákoně a pro ověřování úrovně odrůd již registrovaných.

Nový zákon č. 92/1996 Sb. o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin nepřimo určuje další druh zkoušek, a to zkoušky pro Seznam doporučených odrůd (SDO).

Odrůdové zkoušky jsou zakládány podle jednotné metodiky, která určuje velikost pokusné plochy, počet opakování, pokusnou metodu, výživu a hnojení a způsoby ošetřování porostů. Jsou předepsaná nutná pozorování porostů a kritéria sledovaných produkčních a jakostních ukazatelů a metody jejich stanovení. Osivo pro zakládání odrůdových zkoušek dodává šlechtitel.

Odrůdové zkoušky pro zjištění užitné hodnoty odrůd polních plodin jsou zakládány a vedeny jako maloparcelkové pokusy (o sklizňové ploše 10 m², 3 - 4 opakování). U obilnin jsou odrůdy ověřovány při základní a zvýšené intenzitě výživy. Navíc jsou zakládány pokusy provokační odolnosti k chorobám, k vyzimování apod. Odrůdové zkoušky zahradních plodin probíhají ve sklenících, pařeništích apod.

Součástí odrůdových pokusů jsou i laboratorní analýzy a technologické rozbory a fytopatologické testy. Pro určitou plodinu či skupinu plodin je zřízený **referát** (býv. hlavní odrůdová zkušebna - HOZ) a zodpovědný referent organizuje a metodicky řídí odrůdové

zkoušky, soustřeďuje a vyhodnocuje výsledky a připravuje podklady pro registrační řízení nových odrůd.

8.3. PRÁVNÍ PŘEDPISY VE VZTAHU K ODRŮDÁM A K ODRŮDOVÉMU ZKUŠEBNICTVÍ

Registrovaná odrůda je obchodní komoditou prostřednictvím osiva, sadby, výpěstků v tuzemském i v mezinárodním obchodě. Zejména v souvislosti s rozvojem mezinárodního obchodování a v souvislosti s rozvojem tržní ekonomiky, vyvstala potřeba odpovídajících právních předpisů. Ve vztahu k odrůdám a k osivu odrůd jsou významné tyto zákony:

1) Zákon č. 132/1989 Sb. **O ochraně práv k novým odrůdám rostlin a plemenům zvířat**

Odrůdy nebyly dlouho právně chráněny. Podle uvedeného zákona má odrůda charakter díla s právem autorství (spoluautorství) na nehmotný statek. Právní ochrana odrůd je nutná zvl. při mezinárodním obchodu a exportu. Zajišťuje právní ochranu před zcizením jako nehmotného statku a současně podmiňuje možnost účasti na zahraničním obchodování. Zákon upravuje práva a povinnosti fyzických i právnických osob v souvislosti s vytvořením nových odrůd. Ze zákona vyplývá výlučné právo majitele odrůdy na obchodní využívání odrůdy, majitel musí dát souhlas s množением odrůdy tzv. *licenční smlouvou za úhradu*. Smlouva zajišťuje podíl na finančním přínosu z obchodního využívání odrůdy (tj. při množení a prodeji) tzv. *licenčním poplatkem*.

K právní ochraně odrůdy přihlašuje šlechtitel jako fyzická nebo právnická osoba. Předpokladem k právní ochraně je vlastnické právo k nové odrůdě, které je stvrzeno šlechtitelským osvědčením.

Šlechtitelské osvědčení stvrzuje vyšlechtění odrůdy, název odrůdy, původcovství a právo majitele k obchodnímu využívání odrůdy a právo poskytovat souhlas k obchodnímu využívání odrůdy jiným osobám. Originalitu odrůdy garantuje šlechtitel. Šlechtitelské osvědčení platí u odrůd většiny druhů 20 let, u odrůd vytrvalých druhů (chmel, vinná réva, ovocné, okrasné a lesní dřeviny) platí 25 let.

Podmínky pro udělení šlechtitelského osvědčení jsou tyto:

a) **odlišnost** odrůdy (D-distinctness). Odrůda musí být odlišná od jiné odrůdy daného druhu alespoň jedním podstatným znakem nebo vlastností,

b) **uniformita** odrůdy (U-uniformity) ve znacích a vlastnostech přiměřeně biologickým vlastnostem daného materiálu,

c) **stálost** (S-stability) v podstatných znacích při respektování zvláštností při množení.

d) odrůda musí být **nová**, tj. nesměla být prodávána nebo nabízena před více než 1 rokem na území ČR před přihlášením (v cizině před 4-6 lety).

Předpokladem k podání přihlášky k právní ochraně odrůdy je absolutorium v tzv. zkoušce DUS, tj. zkoušky odlišnosti, uniformity a stálosti znaků a vlastností. Zkouška probíhá podle zásad Mezinárodního svazu pro ochranu odrůd (UPOV) a organizuje ji ÚKZÚZ - odbor odrůdového zkušebnictví. Podmínkou pro právní ochranu odrůd je členství státu v organizaci UPOV.

Rozhodnutí o udělení šlechtitelského osvědčení se zapisuje do rejstříku chráněných odrůd a Státní odrůdové knihy a má platnost na území České republiky.

Šlechtitelské osvědčení zaniká uplynutím doby jeho platnosti, nezaplacením

správního poplatku a zrušením osvědčení na žádost vlastníka. Zánik se vyznačuje v rejstříku chráněných odrůd.

Zákon č. 132/1989 Sb. náleží do oblasti *soukromoprávních vztahů*, neboť hlavně ochraňuje majitele odrůdy (fyzickou i právnickou osobu, tj. šlechtitele, šlechtitelskou firmu, případně vlastníka šlechtitelského osvědčení).

2) Zákon č. 92/1996 Sb. **O odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin**

Zákon se spíše vztahuje k osivu a sadbě odrůd a stanovuje technické a biologické požadavky na rozmnožovací materiál uváděný do oběhu a upravuje podmínky zajišťující vhodné pěstební a užitkové vlastnosti odrůd hospodářských druhů plodin.

Zákon svými ustanoveními se výrazně přibližuje platným zákonům EU, hlavně ve smyslu povinného zkoušení odrůd, kontroly množitelských porostů a zkoušení osiv a sadby.

Významnou součástí zákona je tzv. **Druhový seznam**, který zahrnuje polní plodiny, významné zeleniny, ovocné druhy, chmel, révu vinnou a některé léčivé rostliny. Nezahrnuje okrasné plodiny a méně významné zeleniny.

První část zákona (§ 3 - 20) je věnována **odrůdám a odrůdovému zkušebnictví**. Platnost ustanovení tohoto zákona je od 1.7.1996.

Z oblasti vymezující pojmy se kterými zákon operuje, jsou pro tuto oblast důležité :

- *odrůda*, kterou se rozumí soubor jedinců, náležející k jediné nejnižší kategorii botanického třídění, který je definovaný projevem znaků určitého genotypu nebo kombinací genotypů, odlišující se od jiných souborů rostlin (odrůd) projevem nejméně jednoho z těchto znaků a soubor je rozmnožovatelný beze změny,

- *genetické komponenty odrůdy* jsou linie, klony nebo jiné odrůdy, ze kterých se daná odrůda skládá nebo její rozmnožovací materiál vyrábí,

- *geneticky modifikovanou rostlinou* je rostlina, jejíž genetický materiál byl modifikován umělým přenesením genetické informace, s výjimkou umělého opylení, oplodnění *in vitro*, mutace nebo fúze buněk přirozeně křížitelných rostlin. Zmíněný zákon poprvé připouští možnost existence geneticky modifikovaných rostlin, resp. jejich odrůd, definuje pojem *geneticky modifikované rostliny (GMO)* a váže přihlášky odrůd zahrnujících GMO na souhlas Ministerstva životního prostředí ČR s pěstováním odrůdy.

- *udržovatelem odrůdy* je osoba, která provádí nebo zajišťuje udržovací šlechtění odrůdy (UŠ). Úroveň udržovacího šlechtění může kontrolovat odbor OZ ÚKZÚZ.

Zmíněný zákon má několik důležitých ustanovení, které se týkají:

a) registrace odrůd a řízení o registraci

Registrační řízení odrůd a potřebné zkušební úkony pro registraci provádí ÚKZÚZ. Registrovány mohou být odrůdy všech druhů pěstovaných rostlin. Registrace odrůd je povinná pouze u hospodářsky významných druhů, které jsou uvedeny v Druhovém seznamu (příloha zákona) a to na základě úředních zkoušek. Registrace odrůd všech druhů je podmíněna provedením zkoušky odlišnosti, uniformity a stálosti (zkoušky DUS).

O registraci odrůdy žádá fyzická i právnická osoba, která má práva k odrůdě nebo odrůdu přihlásila k zákonné ochraně (zákon č. 132/89 Sb.) a nebo je udržovatelem odrůdy nechráněné. Žádost o registraci se podává u odboru odrůdového zkušebnictví ÚKZÚZ.

Registraci podléhají také odrůdy zahraničního původu, ale za předpokladu, že přihlášku podává osoba pověřená (zastupující zahraniční firmu), která má trvalý pobyt nebo sídlo v ČR.

Řízení o registraci se zahajuje na návrh žadatele a musí obsahovat řadu náležitostí (jméno žadatele, obchodní jméno a sídlo, trvalý pobyt, latinský a český název druhu, předběžný název odrůdy, užitkové zaměření odrůdy, údaje o vyjimečných vlastnostech odrůdy, popis hlavních znaků, typ odrůdy a komponenty odrůdy).

U druhů, u nichž je užitná hodnota podmínkou registrace, musí předložit výsledky nejméně 3 polních pokusů provedených v různých místech ČR při srovnávání s jinými registrovanými odrůdami téhož druhu. Předkládají se výsledky firemních zkoušek.

Řízení má správní charakter, který vyžaduje uhrazení správního poplatku.

V případě, že odrůda zahrnuje geneticky modifikované rostliny, je nutné doložit souhlas Ministerstva životního prostředí s pěstováním odrůdy.

Přihlašovatel musí prokázat zajištění udržovacího šlechtění odrůdy a poskytnout potřebné další informace a podklady pro hodnocení odrůdy. ÚKZÚZ má právo kontroly průběhu a dokumentace udržovacího šlechtění.

b) zkoušení odrůd pro registraci

Základem je víceleté zkoušení a testování odrůd v polních (zahradních) pokusech. Předpokladem pro registraci je, že odrůda je odlišná, uniformní, stálá a má užitnou hodnotu. Její název vyhovuje požadavkům. U odrůdy musí být zajištěno udržovací šlechtění.

Odrůda má užitnou hodnotu, představuje-li souhrnem svých vlastností a ve srovnání s jinými registrovanými odrůdami alespoň v některé pěstitelsky významné části ČR zřejmý přínos pro pěstování, nebo pro její využití, či pro produkty od ní odvozené. Užitná hodnota je souhrn biologických, technologických i pěstitelských vlastností odrůdy, určující její hospodářské využití. Zjišťuje se u odrůd nejdůležitějších druhů.

Zkoušky DUS a zkoušky užitné hodnoty zajišťuje odbor odrůdového zkušebnictví ÚKZÚZ. Výsledky zkoušek ústav každoročně sděluje žadateli.

Prokáží-li dílčí výsledky zkoušení, že odrůda nesplňuje některý z předpokladů pro registraci, ukončuje se zkoušení a zamítá se žádost o registraci.

Odrůda se registruje na dobu 10 let, s možností 2 - 3 krát opakovaným prodloužením o stejnou dobu. Žádost o prodloužení je nutno podat nejpozději 2 (3) roky před uplynutím doby.

Obr. 8.2.: Zkoušky pro registraci odrůd v letech 1990 – 1997 (PAŘÍZEK, 1997).

c) název odrůdy

Název musí vyhovovat těmto požadavkům: nesmí být složen z čísel, nesmí být zaměnitelný s názvem jiné odrůdy, nesmí být zaměnitelný s ochrannou známkou pro rostlinný výrobek stejného druhu chráněný v ČR, nesmí vyvolávat nesprávné představy, nesmí obsahovat české nebo latinské botanické názvy. Musí být přijatelný z jazykových

hledisek a musí souhlasit s názvem uvedeným v šlechtitelském osvědčení.

Zahraničním odrudám se ponechává původní název, případně jeho překlad, odpovídá-li výše uvedeným požadavkům.

d) odrudová kniha

Státní odrudová kniha je úředním seznamem všech odrud registrovaných v ČR. Po splnění všech podmínek a úspěšném zakončení zkoušek vydá ÚKZÚZ rozhodnutí o registraci odrůdy a zapíše odrůdu do Státní odrudové knihy. Zápis obsahuje: název odrůdy, latinský a český název druhu, jméno a adresu žadatele, jméno a adresu udržovatele odrůdy, datum podání žádosti o registraci, datum rozhodnutí o registraci, stručný popis významných pěstebních a užitkových vlastností odrůdy. Obsahuje zápis o prodloužení nebo výmazu registrace.

Každoročně se zveřejňuje seznam odrud zapsaných ve Státní odrudové knize.

e) kontrola po registraci a zrušení registrace

Udržovatel odrůdy poskytuje na vyžádání kontrolní vzorky rozmnožovacího materiálu registrované odrůdy za účelem zjištění, zda odrůda má ještě vlastnosti odpovídající úrovni v době registrace. Při nesplnění podmínek, nebo nejsou-li odstraněny nedostatky v uložené lhůtě, je registrace zrušena.

Udržovatel odrůdy je povinen vést záznamy o udržovacím šlechtění o použité metodě a o množství produkovaného rozmnožovacího materiálu. Záznamy je povinen předkládat a uchovávat 3 roky.

Při zrušení registrace odrůdy (při ztrátě užitné hodnoty, při ztrátě podmínek registrace, nesplnění podmínek udržovacího šlechtění) se provede výmaz zápisu ve Státní odrudové knize.

Po zrušení registrace odrud druhů uvedených v Druhovém seznamu smí být jejich rozmnožovací materiál uznáván a uváděn do oběhu maximálně po období tří let.

f) zkoušení odrud pro Seznam doporučených odrud

Seznam doporučených odrud (SDO) příslušného druhu vydává vydavatel pověřený Ministerstvem zemědělství (MZe). Vydavatel zapisuje do SDO odrůdy podle výsledků zkoušek. Zkoušky probíhají podle metodiky MZe a zahrnují rovněž zkoušení užitkových vlastností, které jsou pro pěstitele, zpracovatele a spotřebitele nejdůležitějších a jsou přínosem nové odrůdy.

Do SDO se mohou zařazovat jen registrované odrůdy. Odrůdy zařazené v SDO a jejich zjištěné užitkové vlastnosti se každoročně zveřejňují formou Přehledu odrud.

g) informace o odrudách

Zákon zaručuje právo každému zájemci se seznámit s vlastnostmi registrovaných odrud, s názvy zkoušených odrud, se jmény a adresami jejich udržovatelů a osob s právem k odrudě a také s popisy odrud.

Při odborně zdůvodněném zájmu lze se seznámit s polními zkouškami DUS a s užitkovými vlastnostmi odrud, nikoliv však s výsledky zkoušek odrud pro registraci.

Informace o odrudách určené veřejnosti podle Zákona č. 92/96 Sb. jsou tyto:

1. ÚKZÚZ každoročně vydává seznam odrud zapsaných ve Státní odrudové knize.
2. Seznam doporučených odrud (SDO).
3. Zápisy, změny a doplňky zápisů do Státní odrudové knihy zveřejňované ve Věstníku Ministerstva zemědělství.
4. Informace o nových odrudách formou „listovek“ s popisem odrůdy z hlediska významných morfologických znaků a užitné hodnoty.

Obr. 8.3.: Odrůdy zapsané do Státní odrůdové knihy v letech 1993 - 1997 (PAŘÍZEK, 1997).

POUŽITÁ LITERATURA

- BARTOŠ P., 1987: Biologické stresy rostlin a ochrana proti nim. Sbor. ref. KGŠS, Trnava.
- BLÁHA L., 1994: Porovnání efektivity jednotlivých selekčních postupů u samosprašných plodin. Genet. a Šlecht. 20, č. 3, s. 241-242.
- BOHÁČ J., 1967, Šlachtenie a semenárstvo, SVPL Bratislava, 540 s.
- BOROJEVIC S., 1981: Principy i metody oplemonjivanja bilja, Novi Sad (ruský překlad Moskva 1984).
- BRIGGS F.N., KNOWLES P.F., 1967: Introduction to plant breeding. New York, s. 398.
- ČAPEK J., 1990, Šlechtění žita. In: LEKEŠ, J. a kol.: Žito, SZN Praha.
- ČERNÝ J., ŠAŠEK, A., 1996: Bílkovinné signální geny pšenice obecné. ÚZPI Praha, 62 s.
- DOTLAČIL L., 1996: Plané druhy a krajové odrůdy - významná součást biodiverzity a genofondu zemědělských plodin. Význam planých druhů a krajových odrůd pro pěstování a šlechtění zemědělských plodin. VÚB Havlíčkův Brod. s.1-4.
- GABORČÍK Š., 1983: Poznámky k pojmu odrůda (kultivar). Polnohospodárstvo, č. 10.
- HABĚTÍNEK J., GRAMAN J., 1984: Cvičení ze šlechtění. Skripta AF VŠZ Praha, 143 s.
- HABĚTÍNEK J., 1995: Význam odrůdy a jejího typu pro pěstování a množení. Sb. Osivo a sadba, II. mezinár. seminář, ČZU Praha, s. 6-15.
- HABĚTÍNEK J., 1997: Hybridní odrůdy v semenářské praxi. Sb. Osivo a sadba, III. mezinár. seminář, ČZU Praha, s. 23-30.
- HANIŠ M., 1991: Odrůdy a osiva v nových ekonomických podmínkách. Zpravodaj šlecht. a semen., č. 5.
- HAVLÍČKOVÁ H., 1987: Šlechtění kulturních plodin na rezistenci vůči hmyzím škůdcům. Sb. ref. KGŠK, Trnava.
- HAVLÍČKOVÁ H., 1992: Přirozená rezistence rostlin vůči hmyzu. Úroda, č. 2, s. 88-89.
- HOFFMANN W., MUDRA A., PLARRE W., 1971: Lehrbuch der Züchtung landwirt. Kulturpflanzen, B. 1.,
- HRAŠKA Š. a kol, 1990: Genetika rostlin. Příroda, Bratislava.
- HONCOVÁ J., 1990: Emanuel Proskowetz (1849-1944), Věst. ČSAZ, 37, s. 583-554.
- CHLOUPEK O., 1986: Šlechtění a semenářství vojtěšky, DDP, 237 s.
- CHLOUPEK O., 1992: Šlechtění hybridních odrůd. Genet. a Šlecht. 28, č.4 - příloha PGS.
- CHLOUPEK O., 1992: Šlechtitelské postupy. Genet. a Šlecht. 28, č.2 příloha PGS.
- CHLOUPEK O., 1993: Metody šlechtění samosprašných rostlin. Genetika a šlecht., 29, č. 1 - příloha PGS.
- CHLOUPEK O., 1995: Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. Academia, 186 s.
- JANDURA B. 1987: Genetika, skripta VŠZ Praha.
- JANDURA B., 1990: Dědičnost znaků s plynulou fenotypovou variabilitou. In: HRAŠKA Š. a kol.: Genetika rostlin. Příroda, Bratislava.
- KOVAČIK A., 1975: Rostlinná genetika a její rezervy. Úroda, č. 1. s. 4-6.
- KOVAČIK A. a kol., 1983: Genetika rostlin, SZN Praha, 486 s.
- KUKUCK H., KOBABE G., WENZEL G., 1985: Grundzüge der Pflanzenzüchtung. Gruyter, 5 vyd. 254 s.
- KAPPERT H., 1953: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. P. Parey, 334 s.
- Listina povolených odrůd, ÚKZÚZ 1996.
- LEBEDA A., BARTOŠ P., JENDRULEK T., 1988: Šlechtění rostlin na odolnost k chorobám. Sb. ČSAZ, č. 120.
- NEČÁSEK J., CETL I. a kol., 1979: Obecná genetika, SPN Praha.
- NOVÁK F. J., 1990: Explantátové kultury a jejich využití ve šlechtění rostlin. Academia

- Praha, 208 s.
- ONDŘEJ M., 1997: Transgenní rostliny, prostředí, legislativa. Sb. ref. mezinár. věd. konf. Agroregion 97, ZF JU České Budějovice.
- PAŘÍZEK P., 1997: Odrůdové zkušebnictví a zákon č. 92/1996 Sb.. Úroda, XXXXV, č. 8, s. 8-11.
- PRÁŠIL I., 1983: Problematika mrazuvzdornosti ozimů. Úroda, č. 10, s. 437-438.
- ROD J., VONDRÁČEK J., 1982: Tvorba syntetických odrůd jako jedna z cest progresivního šlechtění píce. Genet. a Šlecht. 18, č. 4- příloha PGS.
- ROD J. a kol., 1982: Šlechtění rostlin. SZN Praha, 354 s.
- ROD J., PEŠEK J., 1987: Možnosti a perspektivy využívání matematických metod ve šlechtění rostlin. Genet. a Šlecht., 24, č. 3-příloha PGS.
- SEGETA J., 1970: Co rozhoduje o dobrém přezimování. Úroda, č. 2, s. 52-54.
- SEMAN I. a kol., 1990: Biotechnologické metody v šlechtění polních plodin. Příroda Bratislava. 271 s.
- SCHMALZ H., 1964: Pflanzenzüchtung. DLV, Berlin, 279 s.
- ŠINSKÁ J., 1982: Využívání pelovej sterility pri tvorbe hybridov lucerny. Úroda, 27, příloha Obzor šlacht. a semen, č. 4.
- SMOČEK J., 1987: Výzkum produkční schopnosti pšenice v zahraničí. Zpravodaj Osevy, č. 3.
- STEHLÍK V. a kol., 1959: Šlechtění polních plodin. SZN Praha.
- ŠVACHULA V., 1991: Stres polních plodin. Úroda, č. 11, s. 522-523.
- TRONÍČKOVÁ E., 1976: Plazmatická dědičnost. In: STEHLÍK V. a kol.: Naučný slovník zemědělský, díl 6, SZN Praha.
- UŽÍK M., 1993: Vývoj selekčních indexov a ich aplikacia v šlechtění rastlín. Genet. a Šlecht., 29, č. 3- příloha PGS.
- UŽÍK M., 1993: Výkonnosť syntetikov z rodinného polycrossu a topcrossu pri d'atelině lúčnej. Genet. a Šlecht, 29, č. 1, s. 35-45.
- VALKOUN J., KUČEROVÁ D., BARTOŠ P., 1986: Přenos odolnosti ke rzi travní z Trit. monococcum L. do Trit. aestivum L.. Genet. a Šlecht, 22, č. 1.
- VLK J., 1982: Mutační šlechtění. In: ROD J. a kol.: Šlechtění rostlin. SZN Praha. 354 s.