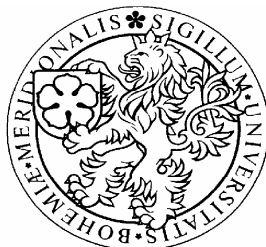


JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA



DISERTAČNÍ PRÁCE

**Význam BYDV při pěstování pšenice a možnosti  
rezistentního šlechtění**

Autor disertační práce:

Ing. Ondřej Veškra

Školitel:

Prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

ČESKÉ BUDĚJOVICE

2009

**Poděkování:**

Děkuji svým školitelům Prof. Ing. Vladislavu Čurnovi, Ph.D. a Dr. Ing. Pavlu Horčíčkovi za všestrannou podporu, cenné rady a připomínky při řešení této práce. Děkuji kolektivu vědeckých pracovníků VÚRV Praha - Ruzyně oddělení šlechtění a virologie, pracovníkům firmy Selgen, a.s. ŠS Stupice a Výzkumného centra SELTON, s.r.o. za pomoc při vedení polních pokusů a jejich vyhodnocení. Děkuji Ing. Lucii Slámové za poskytnutí výsledků DNA analýz zdrojů odolnosti a jejich kombinací. Rovněž děkuji své rodině za psychickou podporu a zázemí, které mi umožnilo zdárně dokončit tuto disertační práci.

Tato práce vznikla za podpory Grantové agentury ČR (521/05/H013) a Národní agentury pro zemědělský výzkum (QG50073)

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem předkládanou disertační práci vypracoval sám na základě literárních pramenů uvedených v seznamu publikací a na základě získaných výsledků.

Ve Stupicích dne: \_\_\_\_\_

---

Ing. Ondřej Veškrna

**Abstract:** The reaction of winter and spring wheat to infection with barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV) was evaluated in three-year small-plot field trials on 71 wheat varieties registered in the Czech Republic and at two locations for two years on 63 selected potential sources of resistance. Disease symptoms (VSS) were visually recorded using 0-9 scale and the percent reduction of grain weight per spike (GWS-R) was measured on twenty plants per plot. The evaluation showed that among the registered varieties of winter and spring wheat no variety had a high resistance to BYDV (with VSS lower than 3.5). GWS-R ranged between 24 and 60%. Greater variability in VSS was detected for registered varieties of spring wheat than for winter wheat. Among the registered varieties of winter wheat, Saskia, Rialto, Meritto, Rexia, and Svitava, as well as the spring wheat Leguan, registered the best long-term evaluations. The highest level of resistance was discovered for the PSR 3628 line (a hybrid of wheat and couch-grass), but in connection with low agronomic value. The WKL91-138 line of spring wheat and certain varieties (lines) with a detected moderate level of resistance, in particular, could offer good prospects for use in breeding. The presence of the *Bdv2* gene was expressed only in the reduction of virus content on the 11th day after inoculation. Nevertheless, genotypes carrying this gene were evaluated in field trials as susceptible or very susceptible to infection with the Czech PAV isolate. Similarly, the presence of the *Bdv1* gene detected with the help of a WMS130 marker was no assurance of an increased level of resistance to BYDV. Hybridological analyses of crosses with the WKL91-138 line showed a polygenic nature of heredity. Thus, marker assisted selection clearly does not promise success without a focus on detecting a larger number of QTLs.

**Keywords:** barley yellow dwarf, BYDV, Bdv1, Bdv2, resistance sources, breeding, wheat

## OBSAH:

1.	ÚVOD.....	7
2.	CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE.....	9
3.	LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	10
3.1.	Viry pšenice – popis, výskyt, význam .....	10
3.1.1.	WDV a BYDV - nejvýznamnější virová onemocnění pšenice v ČR .....	10
3.1.1.1.	Virus zakrslosti pšenice (WDV).....	10
3.1.1.2.	Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) .....	11
3.1.1.3.	Výskyt virových zakrslostí v ČR.....	12
3.1.2.	Další významná virová onemocnění pšenice.....	14
3.2.	Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) – genetika, patotypy, přenos.....	18
3.2.1.	Systematické zařazení a patotypy .....	18
3.2.2.	Funkce genů a genová exprese .....	19
3.2.3.	Přenos mšicemi .....	21
3.3.	Reakce rostliny na infekci BYDV, zdroje a genetické založení odolnosti.....	24
3.3.1.	Symptomy .....	24
3.3.2.	Zdroje odolnosti u pšenice.....	25
3.3.3.	Genetické založení odolnosti u pšenice .....	28
3.3.4.	Zdroje a genetické založení odolnosti u ječmene a ovsa.....	30
3.3.5.	Transgenoze rostlin – účinný prostředek získání rezistentních genotypů k BYDV	31
3.4.	Metody testování a selekce na odolnost k BYDV .....	32
3.4.1.	Přímé metody – polní testy .....	32
3.4.1.1.	Přirozená infekce BYDV .....	32
3.4.1.2.	Umělá infekce BYDV.....	33
3.4.1.3.	Symptomatické hodnocení a redukce výnosových prvků.....	36
3.4.2.	Nepřímé metody .....	38
3.4.2.1.1.	Semikvantitativní ELISA.....	38
3.4.2.1.2.	Analýza DNA .....	38
4.	MATERIÁL A METODY .....	40
4.1.	Polní pokusy .....	40
4.1.1.	Charakteristika pokusných lokalit .....	40
4.1.2.	Design pokusu.....	40
4.1.3.	Genotypy testované v polních pokusech .....	43
4.2.	Chovy infekčních mšic .....	52
4.3.	Skleníkové testy - semikvantitativní ELISA .....	54
4.4.	Křížení zdrojů odolnosti k BYDV a integrace MAS do šlechtitelského programu ŠS Stupice .....	54
5.	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	58
5.1.	Základní statistické ukazatele jednotlivých pokusů s umělou infekcí BYDV-PAV	58
5.2.	Reakce kontrolních odrůd na infekci BYDV-PAV .....	62
5.3.	Reakce odrůd pěstovaných v ČR na infekci BYDV-PAV .....	67
5.4.	Reakce zdrojů odolnosti na infekci BYDV-PAV .....	72
5.5.	Výsledky semikvantitativní ELISA a posouzení efektu přítomnosti genu Bdv2 na polní odolnost k BYDV-PAV .....	81

5.6.	Analýza reakce na infekci BYDV-PAV u kříženců se zdroji odolnosti a hodnocení metodického přístupu k problematice testování na odolnost k BYDV.....	84
5.6.1.	Potenciální zdroje odolnosti využitelné ve šlechtění na odolnost k BYDV	84
5.6.2.	Analýza kříženců se zdroji odolnosti WKL91-138 a TC14-290E.....	84
5.6.3.	Navrhované změny v metodice testování na odolnost k BYDV .....	88
6.	ZÁVĚR .....	91
7.	POUŽITÁ LITERATURA .....	92
8.	SEZNAM ZKRATEK .....	112

# 1. ÚVOD

Většina virů infikujících kulturní rostliny má významný ekonomický dopad. Viry způsobují redukci výnosu nebo snížení kvality produkce, ale míra ekonomických ztrát může být velmi variabilní. Jednou infikovanou rostlinu již nelze léčit, a proto vedle geneticky podmíněné odolnosti zůstávají pouze preventivní opatření, směřované na omezení šíření viru a jejich přenašečů. Ve vyspělých zemích s volným obchodem je obvykle nedostatek určité komodity vyrovnán vyššími výkupními cenami a nevzniká celková finanční ztráta v zemědělství. Jednotliví farmáři sice mohou utrpět silné ekonomické ztráty, ale ti se zdravými porosty naopak profitují z vyšší výkupní ceny. To neplatí při epidemických výskytech, nebo v rozvojových státech, kde většina výnosu je potřebná pro zajištění výživy obyvatel (Walkey *et al.*, 1991).

Velmi významné úbytky výnosu na obilninách způsobené virem byly zaznamenány v Kansasu (USA) v roce 1953 a 1954. Při porovnání s výnosy v roce 1955 se odhadovaly ztráty na 3 000 000 \$ a 14 000 000 \$. Škody byly způsobeny virem mozaiky pšenice (soil-borne wheat mosaic virus, SBWMV) a proužkovité mozaiky pšenice (wheat streak mosaic virus, WSMV). V letech 1972 až 1974 způsobil SBWMV virus závažný deficit v Nebrasce (Palmer & Brakke, 1975) a WSMV v jižní Albertě v roce 1963 a 1964 (Atkinson & Grant, 1967). Podstatný úbytek na obilninách registrovali v Severní Americe také u viru žluté zakrslosti ječmene (barley yellow dwarf virus, BYDV), viru mozaiky ovsa (oat mosaic virus, OMV) a pšenice (wheat spindle streak mosaic virus, WSSMV) (Slykhuis, 1976). Byly zaznamenány významné ztráty na pšenici, ječmeni a ovsu způsobené BYDV ve Velké Británii (Plumb, 1981) a na produkci rýže na Filipínách způsobené RT virem (rice tungro virus, RTV), kde v roce 1971 snížil výnos o 456 000 tun (Ling *et al.*, 1983).

Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) je považován za jedno z nejvýznamnějších virových onemocnění na světě, které každoročně způsobuje významné výnosové ztráty. Vedle viru zakrslosti pšenice (WDV) je to významné onemocnění i v ČR. V důsledku epidemických výskytů BYDV v letech 1984, 1989, 1991 a 2003 byl tomuto onemocnění postupně přikládán větší význam. Protože se toto onemocnění nevyskytuje pravidelně, není vytvořen dostatečně silný přirozený selekční tlak, jako v případě houbových chorob. O rozvoj šlechtění pšenice na odolnost k BYDV

se významě zasloužil Doc. Ing. Josef Vacke, CSc, který rovněž BYDV poprvé identifikoval na našem území. Nejprve započal testování odrůd pšenice, ječmene a ovsa na odolnost ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v Ruzyni. Později se začali podílet i šlechtitelé a byla testována některá novošlechtění ozimé a jarní pšenice, ječmene a ovsa. Byly identifikovány tolerantní genotypy a ze zahraničí získány nové zdroje odolnosti založené na translokaci části chromozomu z *Thinopyrum intermedium*. Tyto linie byly kříženy s novošlechtěním fy Selgen, a.s. Bohužel nebyly dostupné kapacity pro identifikaci genu rezistence a selekce probíhala dle jiných parametrů. Rovněž zatím nebyly genotypy nesoucí geny rezistence testovány na odolnost k BYDV v našich podmínkách s českým kmenem PAV. V této situaci došlo k dalšímu epidemickému výskytu BYDV v ČR v roce 2003 a vedení fy Selgen, a.s. se rozhodlo pro důkladnější studium této problematiky.

Tato práce ověřuje aktuálně známé a dostupné zdroje odolnosti, hodnotí některé odrůdy a novošlechtění na odolnost k BYDV v testech s umělou infekcí. Dále hodnotí přínos genu *Bdv2* původem z *Th. intermedium* na odolnost k BYDV a možnost jeho využití ve šlechtitelském programu na ŠS Stupice. Rovněž posuzuje metodický přístup k testování na odolnost k BYDV ve šlechtění na odolnost.



## 2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Studiem problematiky odolnosti pšenice k BYDV se ve firmě Selgen, a.s. dlouhodobě zabývala Ing. Hanišová, která úzce spolupracovala s Doc. Vacke z VÚRV Ruzyně. Po kalamitním výskytu v sezóně 2002-03 bylo rozhodnuto o rozšíření aktivit spojených s tímto tématem v souvislosti s prohloubením znalostí o výskytu onemocnění v ČR, metodách testování a zdrojích odolnosti, dále o provedení polních infekčních testů rovněž v rámci ŠS Stupice (dosud probíhalo jen ve VÚRV). Byly získány a zařazeny do šlechtitelského programu jarní pšenice některé zdroje odolnosti ze zahraničí. Některé materiály nesly translokovanou část chromozomu z *Th. intermedium*. Tyto zdroje odolnosti však nebyly ověřeny v polních infekčních testech a nebyla potvrzena přítomnost uváděné translokace. Rozpracovaný šlechtitelský materiál nemohl být selektován na tyto znaky.

Byly stanoveny následující vědecké hypotézy:

Jaké jsou alternativní možnosti testování odolnosti k BYDV proti polním infekčním testům s umělou infekcí? Je možné provést polní testy s umělou infekcí na ŠS Stupice s dostupným technickým vybavením, jaké jsou možnosti racionalizace postupů? Jaký efekt má přítomnost translokace z *Th. intermedium* na polní odolnost, nesou tuto translokaci rozpracované šlechtitelské linie? Jaká je reakce na infekci BYDV u aktuálně pěstovaných odrůd jarní a ozimé pšenice v ČR a publikovaných zdrojů odolnosti?

Pro ověření těchto hypotéz byly stanoveny následující cíle disertační práce:

- Vypracovat literární přehled o této problematice a navrhnout možná další řešení problematiky šlechtění pšenice na odolnost k BYDV,
- nastudovat a technicky zvládnout metody testování pšenice na odolnost k BYDV pomocí infekce mšicí střemchovou (*Rhopalosiphum padi*) a optimalizovat dané metody s ohledem na využití ve šlechtění,
- ověřit přínos genu rezistence *Bdv2* na polní odolnost k BYDV a integrovat markerem asistovanou selekci kříženců do šlechtitelského výběrového postupu,
- v polních podmínkách testovat co možná největší rozsah šlechtitelského materiálu na odolnost k BYDV, a tím připravit základ pro vyšlechtění rezistentních nebo tolerantních odrůd.

## 3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1. Viry pšenice – popis, výskyt, význam

Pšenice je přirozeným hostitelem celé řady virů. Je uváděno (Brunt *et al.*, 1996) až 55 virů, ke kterým je *Triticum aestivum* náchylná, z toho asi 30 virů, které pšenici přirozeně infikují. V následujících kapitolách uvádím přehled nejdůležitějších původců virových onemocnění pšenice v ČR a ve světě.

#### 3.1.1. WDV a BYDV - nejvýznamnější virová onemocnění pšenice v ČR

##### 3.1.1.1. Virus zakrslosti pšenice (WDV)

Virus zakrslosti pšenice (WDV) je aktuálně nejzávažnější virové onemocnění obilnin na území ČR. Poprvé byl popsán v bývalém Československu v roce 1961 (Vacke, 1961). Virus je zařazen mezi Geminiviry, což je zajímavá skupina DNA virů z hlediska výzkumu funkce genů pomocí tranzientní exprese. Rozlišují se dva kmeny: „pšeničný“ a „ječný“. Vektorem tohoto viru je křísek polní (*Psamotetix alienus*), který se hojně vyskytuje v porostech obilovin. Výskyty byly zaznamenány ve Francii, Švédsku a Střední Evropě (ČR, Maďarsko) (Lindsten & Lindsten, 1999). Tradičními areály rozšíření v ČR jsou některé nížinaté oblasti Čech a Moravy s relativně teplejšími a suššími klimatickými podmínkami. Silné výskyty byly u nás zaznamenány v letech 1960-62, další pak v letech 1968-1969. Pro nadměrné poškození bylo tehdy zaoráno několik tisíc hektarů ozimé pšenice. Mnohé porosty byly pak sklizeny „na zeleno“. V období 1963-67 a v sedmdesátých letech se výskyty WDV většinou pohybovaly na nízké, hospodářsky zanedbatelné úrovni. Vzestup nastal začátkem osmdesátých let, období 1983-86 a 1988-90. V průběhu devadesátých let byly zaznamenány pravidelné výskyty, ale kalamitní až v roce 2002 (Vacke, 1991, 1997, 2002). Ve většině případů byla napadena ozimá pšenice.

Důsledky napadení virem jsou na pšenici velmi závažné (**Obrázek 1**). Rostliny infikované na podzim většinou nepřežimují. Přezimované zůstávají zakrslé, nesloupkují, listy silně žloutnou nebo červenají. Tolerantnější odrůdy (Mironovská, Regina)

sice vymetají, ale redukce výnosu napadených rostlin se pohybuje v rozmezí 80 – 90 %. Pozdější infekce vyvolávají redukcí 50 – 80 % (Vacke, 1997).

**Obrázek 1:** Rostliny pšenice ozimé napadené virem zakrslosti pšenice (wheat dwarf virus, WDV) trpí silnou zakrslostí a žloutnutím (červenáním) listů, často ani nevymetají.



#### 3.1.1.1.2. Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV)

Onemocnění způsobené BYDV bylo poprvé identifikováno v roce 1951 v USA (Oswald & Houston, 1953). Příznaky odpovídající chorobě však byly zaznamenávány u ječmene a ovsa nejméně od roku 1947. V průběhu dalších let byla tato choroba zjištěna prakticky ve většině zemí světa a od začátku šedesátých let je známá i u nás (Vacke, 1964).

Virus byl u nás poprvé izolován z jarního ječmene a ovsa. Ve zvýšené míře infikoval tyto obiloviny v případech extrémně pozdního výsevu na jaře nebo až v létě (strniskové směsky). Začátkem osmdesátých let byl zjištěn zvýšený výskyt BYDV i na jařinách setých v optimálních agrotechnických lhůtách, současně byly již zjištěny příznaky připomínající BYDV i na některých ozimech. V letech 1983-84, 1988, 2003 dosáhl výskyt této choroby na pšenici a dalších obilovinách v některých oblastech silných až epidemických rozměrů. V současné době je virus žluté zakrslosti ječmene rozšířen na celém území České republiky bez ohledu na ekologické i jiné podmínky. Jarní i ozimé obiloviny infikuje téměř každoročně s kolísající intenzitou.

Lister & Ranieri (1995) uvádí ekonomickou závažnost v rozmezí 11 - 33 %, v některých oblastech až 86 %. Mezi výskytem choroby a výnosovými ztrátami je lineární vazba: 1 % výskytu žluté zakrslosti = redukce výnosu 20-50 kg.ha<sup>-1</sup> u pšenice a 36-60 kg.ha<sup>-1</sup> u ovsa. Burnett (1987) uvádí sklizňové ztráty způsobené BYDV 1 – 3 % ročně, ovšem za určitých okolností mohou dosahovat 20 – 30 %, někdy může být úroda úplně zničena. Ztráty okolo 11 - 12 % způsobené přirozeným výskytem byly zaznamenány v Maroku (El Yamani & Hill, 1990) a v Chile (Ramirez *et al.*, 1992). Banks *et al.* (1995a) uvádí ztráty způsobené BYDV okolo 2,2 t/ha u náchylných odrůd a asi 1,1 t/ha u tolerantních odrůd. Důležitou úlohu hraje doba infekce. Pike (1990) uvádí, že nejčasnější infekce BYDV (ve fázi druhého až třetího listu) vyvolávají u ječmene redukcí výnosu zrna v rozmezí 14,8 – 93,2 %. Vacke (1991) uvádí, že při časně infekci může virus u českých a slovenských, v ČR registrovaných, náchylných odrůd ozimé pšenice dosáhnout až 80 %. K tak raným infekcím však v našich podmínkách dochází pravděpodobně jen na omezených plochách a v omezeném rozsahu. Většinou u nás připadají v úvahu tzv. pozdní infekce, t.j. ve fázi sloupkování. U pšenice ozimé mohou dosahovat sklizňové ztráty při pozdní infekci 5 – 10 %, u pšenice jarní 10 – 15 %, u jarního ječmene 10 - 30 % a u ovsa 15 – 40 % (Vacke, 1991).

### 3.1.1.1.3. Výskyt virových zakrslostí v ČR

Výskyt virových zakrslostí (BYDV a WDV) je dlouhodobě sledován Státní rostlinolékařskou správou. Podíly jednotlivých virů na celkovém počtu pozitivních vzorků v jednotlivých letech 2004-2008 ukazuje **graf 1**. Je patrný vzestup výskytu virových onemocnění s vrcholem v roce 2007. Zároveň je patrný růst podílu BYDV v roce 2007 a 2008. Rozvoj onemocnění je silně ovlivněn rozvojem populace přenašečů. V letech 2005 a 2006 měl křísek polní vhodné podmínky pro rozvoj (zejména na podzim v roce 2006), což způsobilo kalamitní výskyt WDV v roce 2007. Mírná zima 2006-2007 umožnila přezimování i dospělců a časnou infekci WDV i na jaře. V podzimním období roku 2007 již převažoval výskyt BYDV, jehož podíl se v roce 2008 výrazně zvýšil.

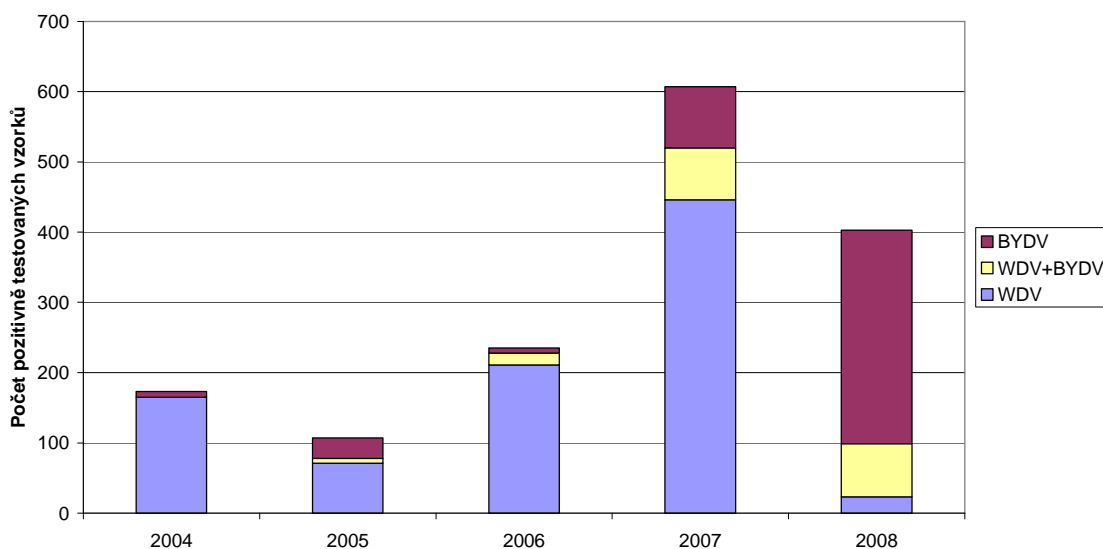
**Graf 2** uvádí podíl výskytu infekce BYDV, WDV nebo směsné infekce podle plodin (pšenice, ječmen, ostatní plodiny – kukuřice, žito, triticales). Výskyt WDV na porostech pšenice byl sedmkrát vyšší než výskyt BYDV. Na porostech ječmene (ve většině případů to byly porosty ozimého ječmene) naopak převažoval výskyt BYDV

nad WDV. Je to způsobeno zejména stavem porostů těchto plodin na podzim. Ozimé ječmeny jsou sety dříve a vytvářejí zelenou hmotu v době nejvyšší migrace mšic (přenašečů BYDV). Naopak obvyklý termín vzcházení pšenice spíše vyhovuje svou řídkostí a snadným ohřevem obnažené půdy přenašečům WDV křísům. Časně seté ozimy jsou v případě přítomnosti přenašečů na podzim vždy ohroženy infekcí viróz a doporučuje se insekticidní ošetření, nejlépe se systémovým účinkem.

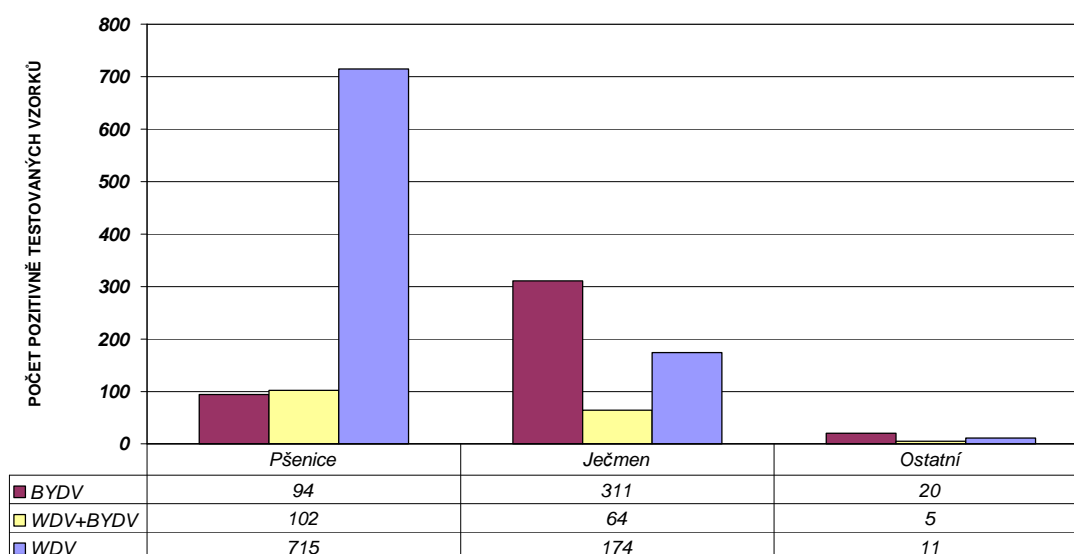
Jednotlivé kmeny BYDV (resp. CYDV) byly zastoupeny se silnou převahou kmene PAV (444 vzorů) nad CYDV-RPV (2 vzorky) a BYDV-MAV (2 vzorky). Imunochemická analýza má v případě stanovení kmenů virů řadu omezení. Stanovuje se reakce antigenu s obalovým proteinem viru. Shodný typ obalového proteinu viru však může nést rozdílnou nukleovou kyselinu, tyto rozdíly ELISA není schopná postihnout.

Z uvedených pozorování je patrný převažující význam BYDV pro ozimé ječmeny než pro pšenici. Opačně tomu je pro virus zakrslosti pšenice (WDV), který převažuje na pšenici. V posledních letech převažoval výskyt WDV, který má velmi silný průběh infekce na všech obilninách a způsoboval značné hospodářské škody. Výskyt BYDV měl v posledních letech vzrůstající tendenci.

**Graf 1:** Počet vzorků pozitivně testovaných na přítomnost WDV, BYDV a ve směsné infekci BYDV+WDV v letech 2004-2008 (zdroj dat: [www.srs.cz](http://www.srs.cz) ).



**Graf 2:** Počet pozitivně testovaných vzorků na přítomnost WDV, BYDV a směsné infekce BYDV+WDV, znázorněn průměr z let 2004-2008 pro pšenici, ječmen a ostatní plodiny (kukuřice, žito, triticale) (zdroj dat: [www.srs.cz](http://www.srs.cz) ).



### 3.1.2. Další významná virová onemocnění pšenice

Virus sterilní zakrslosti ova (OSDV – Oat sterile dwarf fijivirus) patří do skupiny reovirů, jako např: **Rice dwarf phytoreovirus (RDV)**, **maize rough dwarf fijivirus (MRDV)** a **rice black-streaked dwarf fijivirus (RBSDV)** (Conti, 1987). OSDV je přenosný několika druhy křísků, zejména druhem ostruhovník průsvitný

(*Jarvesella pellucida*). Hostitelskými rostlinami jsou oves, ječmen, pšenice, žito a některé druhy trav. V polních podmínkách byly zaznamenány významnější výskyty jen u ovsa, kde způsobuje významné redukce výnosu (85 - 100 %). Výskyt je zejména v podhorských oblastech, kde jsou chladnější a vlhčí podmínky, příznivé pro rozvoj přenašeče. Poslední významné výskyty byly zaznamenány na ovsu v letech 1963-64, později už jen sporadicky (Vacke, *et al.*, 1991). Zajímavostí těchto virů je jejich množení jak v hostitelské rostlině, tak v přenašeči.

**Virus modré zakrslosti ovsa (OB DV - Oat blue dwarf virus)** je přenosný křískem žlutošedým (*Macrostelus leavis*) a dalšími druhy tohoto rodu. Výskyty byly zjištěny v šedesátých letech zejména na ovsu a ječmeni, méně na jarní pšenici a žitu. Areál rozšíření je Slavkovský les, Brdy, Jizerské hory, Podkrkonoší, podhůří Orlických hor, Jeseníků a moravskoslezských Bezkvd. Ječmen a oves redukuje výnos v rozmezí 80 – 95 %, jarní pšenice a žito asi o 45 % (Vacke, *et al.*, 1991).

**Virus čárkovitosti pšenice (WSMV – Wheat streak mosaic rymovirus)** je závažnou chorobou na širokém území USA a v některých evropských státech rovněž patří k ekonomicky velice závažným. Výskyt byl zaznamenán v Severní Americe, Jordánsku, Rumunsku, bývalé Jugoslávii, Ruské federaci, Íránu (Brakke, 1971) a v Mexiku (Sánchez-Sánchez *et al.*, 2001) Je přenosný aeriofidními roztoči *Aceria tulipae* a *A. tosichella* i mechanickou inokulací.

V ČR byl poprvé identifikován na jižní Moravě v roce 1986 (Vacke, 1986). Virus infikuje pšenici, žito, oves a kukuřici. Infekce virem může vyvolat 15 – 90% ztráty výnosu zrna. Vacke (1991) uvádí výnosové ztráty u náchylných odrůd ozimé pšenice až 85% a u jarní pšenice až 63%. Projevy infekce jsou rozdílné podle odolnosti genotypů pšenice, kmene viru, době infekce a podmínek prostředí. Rostliny projevují zakrslost a na listech světlé pruhy. Intenzita symptomů kolísá od mírné mozaiky do silného žloutnutí, které může vyústit v odumření rostliny, redukuje se počet zrn, která jsou scvrká. Nebyly zatím zjištěny silné výskyty na území ČR.

Roztoči se šíří větrem z rostliny na rostlinu a z pole na pole. Omezení výskytu je možné zejména narušením životního cyklu přenašeče, zamezením vzniku „zeleného mostu“ a zpožděnými výsevy. Protože kukuřice je hostitel jak viru, tak vektora, nedoporučuje se pěstovat tyto plodiny vedle sebe. Použití insekticidních mořidel proti roztoči se ukázalo jako neúčinné (Harvey *et al.*, 1998).

Některé příbuzné druhy pšenice vykazují rezistenci, jako například *Th. intermedium* (Sharma *et al.*, 1984). Linie kombinace pšenice - *Th. ponticum* (OK65C77-

6, OK65C93-8) a pšenice – *Th. intermedium* (KS93WGRC27) byly registrovány jako rezistentní k WSMV (Sebesta *et al.*, 1995; Gill *et al.*, 1995). U linie KS93WGRC27 byl identifikován gen rezistence *Wsm1*. Geny odolnosti ke kolonizaci pšenice roztoči byly identifikovány u *Ag. tauschii*, *Cmc1* a *Ag. elongatum*, *Cmc2*. Harvey *et al.* (1995) uvádí ztrátu efektivity těchto genů na některé rasy roztočů. Nově byla identifikována linie s rezistencí k WSMV (CO960293) s zatím neznámým založením odolnosti (Seifers *et al.*, 2006).

**Virus mozaiky sveřepu (BMV – Brome mosaic virus)** je v přírodě šířen háďátký z rodu *Xiphinema* a některými druhy brouků, z nichž nejdůležitější roli hraje kohoutek černý (*Oulema melanopa*). Je mechanicky přenosný. BMV je u nás znám od roku 1988. Infikuje pšenici, ječmen, žito a kukuřici. Projevuje se žloutnutím nebo bílými skvrnami na listech, které přechází v mozaiku. Rostliny mohou být mírně zakrslé a mohou mít scvrklé zrno (Poscai *et al.*, 1991). U drobnozrných obilovin je uváděno snížení výnosu o 35-75 %, u kukuřice až 100 % (Vacke, *et al.*, 1991).

**Virus mozaiky ozimé pšenice (Winter wheat mosaic virus – WWMV)** je přenášen křískem polním (*Psamotetix alienus*) a některými dalšími druhy téhož rodu. Kromě ozimé pšenice infikuje rovněž žito, ječmen a některé trávy. Byl u nás zaznamenán koncem sedmdesátých let v lokalitě severních Čech a Moravy. Ve všech případech to byla sporadická infekce ozimé pšenice.

Dále uvádění původci virových onemocnění prozatím nebyly zaznamenány na území ČR, ale v některých případech představují potenciální riziko při zavlečení jejich vektorů na naše území.

Velkým nebezpečím jsou **virové mozaiky pšenice (Soil-borne wheat mosaic furovirus-SBWMV, Aubian wheat mosaic virus, Soil-borne wheat tubular virus a Chinese wheat mosaic virus)**. Patří mezi nejvýznamnější půdou přenosné virové onemocnění pšenice, které je přenosné půdní houbou *Polymyxa graminis*. **SBWMV (Soil-borne wheat mosaic furovirus)** byl zaznamenán v Číně (Chen, 1993), Japonsku, Itálii, Francii (Lapiere *et al.*, 1985), Německu, Brazílii (Caetano *et al.*, 1977) a USA. Tento virus společně s WSSMV způsobil v sedmdesátých letech značné ztráty na porostech pšenice v Číně (Chen & Wilson, 1995). Viry se přenáší zoosporami a přežívají v dormantních sporách po mnoho let. Optimální podmínky pro přenos onemocnění (stejně jako pro vektora viru) jsou vysoká půdní vlhkost, vlhké počasí, teplota půdy v rozmezí 15-18 °C a mírně neutrální až alkalická reakce půdy. Symptomy napadení kolísají od mírného blednutí až po zřetelnou mozaiku na listech. Nové listy



jsou mramorované nebo pruhované. Zakrslost se projevuje v střední míře až velmi silně, některé kmeny způsobují rozetovitost.

Aplikace chemických látek pro sterilizaci půdy je účinná, ale nevhodná pro užití na velkých plochách. Chen & Wilson, (1995) identifikovali dominantní lokus, který způsobuje rezistenci k SBWMV. Odrůda pšenice tvrdé Ares vykazovala rezistenci k SBWMV v Itálii (Vallega *et al.*, 1999), rovněž byly registrovány genotypy ozimé pšenice s rezistencí KS92WGR21 a KS92WGRC22 (Cox *et al.*, 1994). Rumjaun *et al.* (1996) uvádí adiční linii L2 z *T. intermedium* jako potenciální zdroj rezistence k SBWMV. Byly identifikovány příbuzné viry k SBWMV s podobnými vlastnostmi – **Aubian wheat mosaic virus**, **Soil-borne wheat tubular virus** a **Chinese wheat mosaic virus** (Hariri *et al.*, 2001; Clover *et al.*, 1999; Ye *et al.*, 1999).

Dalšími viry které přenáší houba *Polymixa graminis* jsou **WSSMV (Wheat spindle streak mosaic bymovirus)** a **WYMV (Wheat yellow mosaic bymovirus)**. Jejich výskyt byl zaznamenán v USA, Francii, Německu, Indii, Itálii, Zambii, Číně, Japonsku a v Korei (Clover & Henry, 1999). Přenos WSSMV je podobný SBWMV, byla zaznamenána odlišnost v rozšíření na zasažených polích, které je rovnoměrnější. Symptomy se objevují časně na jaře, kdy teploty půdy dosáhnou 5-15 °C. Projevují se žlutozeleným žilkováním, čárkovitostí a pruhovitostí. Symptomy jsou závažnější za chladného počasí, při teplotě nad 20 °C mizí. Infikované rostliny jsou mírně zakrslé a mají redukovaný počet odnoží. Regulace těchto virů je problematická. Slykhuis (1973) uvádí redukci WSSMV při předseťové aplikaci močoviny, ale v dávkách, které jsou nesplnitelné v praktickém hospodaření. Některé odrůdy jsou rezistentní k WSSMV a tato rezistence se jeví jako dominantní a jednoduše dědičná. Linie KS92WGRC21 a KS92WGRC22 byly registrovány jako rezistentní (Cox *et al.*, 1994).

**Barley stripe mosaic Hordeivirus (BSMV)** byl identifikován v Severní Americe, Evropě, Japonsku, Austrálii, bývalém Sovětském svazu a Číně (Weise, 1987). Nepředstavuje však ekonomicky významnou chorobu pšenice. Zajímavostí tohoto viru je jeho přenos osivem a pylem.

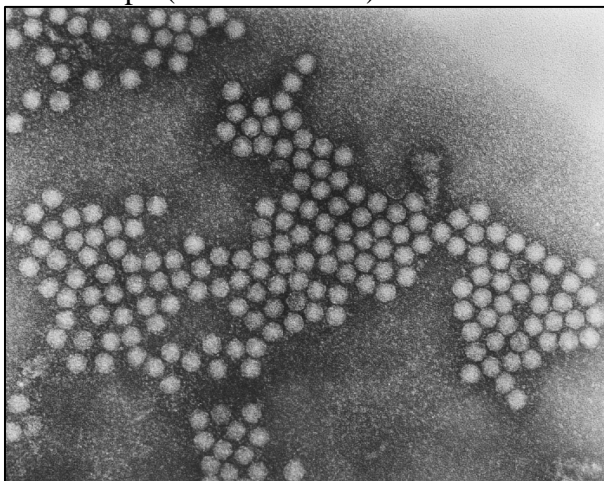
## 3.2. Virus žluté zakrslosti ječmene (BYDV) – genetika, patotypy, přenos

Virus žluté zakrslosti ječmene je zajímavým objektem studia genetiky virů. Má některé zvláštní vlastnosti, například způsob regulace genové exprese, interakce mezi virem a vektorem a výskyt satelitní RNA.

### 3.2.1. Systematické zařazení a patotypy

BYDV je +ssRNA virus, který je zařazen mezi luteoviry, jejichž společnými vlastnostmi jsou ikosaedrické částice,  $T = 3$  a viriony o velikosti 25 – 30 nm (**obrázek 2**). Dále mají společný způsob přenosu, a to výlučně pomocí mšic, perzistentně a cirkulativně. Díky této specifitě není překvapující jejich výskyt pouze ve floému rostliny (Miller & Rasochová, 1997).

**Obrázek 2:** Ikosaedrické částice viru žluté zakrslosti ječmene na snímku elektronového mikroskopu (Foto: M. Jokeš).



Původně byl tento virus rozdělen do pěti sérotypů podle preference přenašeče: RPV (*Rhopalosiphum padi*) (**obrázek 4**), RMV (*Rhopalosiphum maidis*), MAV (*Sitobion avenae*), SGV (*Schizaphis graminum*) a PAV (*R. padi*, *S. avenae* a další). Tyto izoláty jsou rozlišitelné sérologicky. Některé izoláty však neodpovídaly určeným sérotypům podle přenašeče a také byla zaznamenána variabilita v závažnosti symptomatické reakce na infekci. Sérotypy byly rozděleny do dvou podskupin: I. –

PAV, MAV, SGV a II. – RPV, RMV, která byla prohlášena za nový druh – Cereal Yellow Dwarf Virus (CYDV) – a zařazena mezi Poleroviry. Studium genetické příbuznosti ukázalo větší podobnost podskupiny II k BWYV (Beet Western Yellow Virus) a PLRV (Potato Leafroll Luteovirus) než k podskupině I. Opačně i u podskupiny I byly nalezeny jiné druhy s ní příbuznější než s podskupinou II, např. SDV – Soybean dwarf virus (Miller & Rasochová, 1997).

Obě podskupiny mají velmi podobnou oblast kódující plášťový protein (CP) a movement protein (MP), ale rozdílnou oblast kódující geny polymerázy. Sérotypy PAV a MAV podskupiny I mají podobnou polymerázu s PEMV (Pea enation mosaic virus – Enamoviry) kódovanou na RNA2. RNA1 tohoto viru kóduje polymerázu podobnou jako má sérotyp RPV podskupiny II. PEMV je přenosný mšicemi pomocí stejného mechanismu jako BYDV, ale je přenosný i mechanicky (Miller & Rasochová, 1997).

Poznatky v systematice kmenů BYDV byly rozšířeny o nové kmeny a zařazení do různých rodů v čeledi *Luteoviridae*. Aktuálně se pro žlutou zakrslost ječmene uvádí osm různých druhů virů, které náleží jednak do rodu *Luteovirus* (BYDV-PAV, BYDV-PAS, BYDV-MAV a BYDV-GAV), *Polerovirus* CYDV-RPV a zatím nezařazené ve stejné čeledi BYDV-RMV, BYDV-SGV a BYDV-GPV (D'Arcy & Domier, 2005). Kmen PAV je rozdělen na základě analýz nukleotidových sekvencí genu pro obalový protein (Rastgou *et al.*, 2005). Isoláty BYDV-PAS se liší z 10 % v sekvenci genu pro obalový protein a objevují se i výrazné odlišnosti v jiných částech genomu (Bisnieks *et al.*, 2004).

### **3.2.2. Funkce genů a genová exprese**

BYDV má 5,7 kb genomickou RNA, která kóduje šest otevřených čtecích rámců. Funkce genů nezbytných pro replikaci viru není dosud úplně objasněna. Genomická RNA kóduje jen ORF 1 a 2. Otevřený čtecí rámec ORF2 kóduje katalytickou část RNA-dependentní-RNA-polymerázy – produkt P2 (Miller *et al.*, 1988). Produkt pravděpodobně není translatován samostatně, ale pouze spojený s P1 díky „translation frameshifting“. Delece nebo mutace v ORF 1 nebo 2 způsobí neschopnost BYDV-PAV množit se v rostlinných buňkách (Mohan *et al.*, 1995). Produkt ORF1 (P1) se exprimuje také samostatně, ale jeho funkce není známa. Strukturální geny kódují otevřené čtecí rámce ORF 3, 4 a 5. Vedle funkce vytvoření virionu, může mít plášťový protein (ORF3) i význam pro pohyb viru v rostlině a

při replikaci (Ziegler-Graff, 1996). Mutace vede ke snížení množství genomické RNA u BYDV-PAV, což může být způsobeno zvýšením sensitivity k buněčným nukleázám (Mohan *et al.*, 1995). ORF5 kóduje produkt, který vzniká translací přes stop kodón ORF3 (readthrough domain - RTD). Vzniká prodloužený plášťový protein (Coat protein, CP-RTD), který společně s CP tvoří virion. CP-RTD je lokalizován na povrchu a je nezbytný pro přenos mšicemi, ale není nutný pro tvorbu virové částice. Otevřený čtecí rámec ORF4 pravděpodobně kóduje pohybový protein (Movement protein – MP). Protein umožňuje pohyb pouze ve speciálních plasmodezmatech buněk floému, což vysvětluje výlučnou lokalizaci viru pouze v cévních svazcích. Vyřazení funkce (Knock out) tohoto genu, při zachování překrývajícíchho genu plášťového proteinu, způsobí neschopnost systémového rozšíření viru v rostlině, ale neovlivní to šíření viru v protoplastech (Miller & Rasochová, 1997).

BYDV využívá kombinaci RNA-transkripce s nestandardními translačními mechanismy k expresi svých šesti genů. Nejpozoruhodnější vlastností je velké množství neobvyklých mechanismů translace: cap-nezávislá translace, ribozomální přeskok čtecího rámce (ribosomal frameshifting), pročtení stop kodónu (in-frame stop codon readthrough), přeskočení iniciačního kodónu (leaky scanning) (Miller *et al.*, 1995).

Pro expresi genů BYDV-PAV využívá genomickou a subgenomickou RNA, sgRNA1 je nejdelší a je mRNA pro ORF 3, 4 a 5, sgRNA2 je mRNA pro ORF6, jehož produkt P6 nebyl zaznamenán *in vivo*, sgRNA3 asi nemá funkci mRNA a její význam není znám. Subgenomická RNA II. podskupiny nebyla dosud studována.

Přeskok iniciačního kodónu (leaky scanning) je typický pro všechny luteoviry na ORF 3 a 4 a pro podskupinu II na ORF 0 a 1. Iniciační kodón AUG na prvním místě mRNA je některými ribozómy přeskočen a translace začíná až na dalším iniciačním kodónu (Miller *et al.*, 1995). Ribozomální rámcový posun (ribosomal frameshifting) je využit při translaci polymerázy u všech luteovirů. Během procesu elongace z ORF1 dojde na specifickém místě (pro PAV - GGGUUUU) u některých ribozómů k posunu čtecího rámce o -1 nukleotid. Translace pak probíhá v novém čtecím rámci a proběhne přes stop kodón ORF1. U tohoto způsobu translace jsou ještě další mechanismy, které ovlivňují správný průběh procesu, ale nejsou zatím objasněny (Brault & Miller, 1992). Pročtení stop kodónu (readthrough) je způsob translace, kdy některé ribozómy nekončí translaci plášťového proteinu na stop kodónu, ale pokračuje v syntéze CP-RTD proteinu. Podíl těchto proteinů je ale výrazně nižší (do 1 %) (Dinesh-Kumar *et al.*, 1992). Mediátorová RNA BYDV-PAV má CAP-nezávislý translační signál.

Nepotřebuje 5'-konec a poly(A)-konec pro iniciaci translace jako u běžných mRNA hostitele. Místo toho má 3'-netranslatovanou oblast (označuje se 3' TE), která iniciuje translaci na prvním AUG od 5'-konce. 3'-konce cirkularizuje molekulu mRNA s 5'-koncem, což napomůže iniciaci translace; je to první případ, kdy se molekula RNA cirkularizuje párováním bazí spíše než pomocí proteinů (Wang & Miller, 1995). Stejně struktury a interakce existují také u rodu Necrovirus čeledi *Tombusviridae*, ale ne u rodu Polerovirus v čeledi *Luteoviridae*. Translační signál polerovirů, který také nepotřebuje cap a poly(A)-konec, zatím nebyl uspokojivě objasněn, ale nenes podobnost s BYDV-PAV (Miller & Rasochová, 1997).

### 3.2.3. Přenos mšicemi

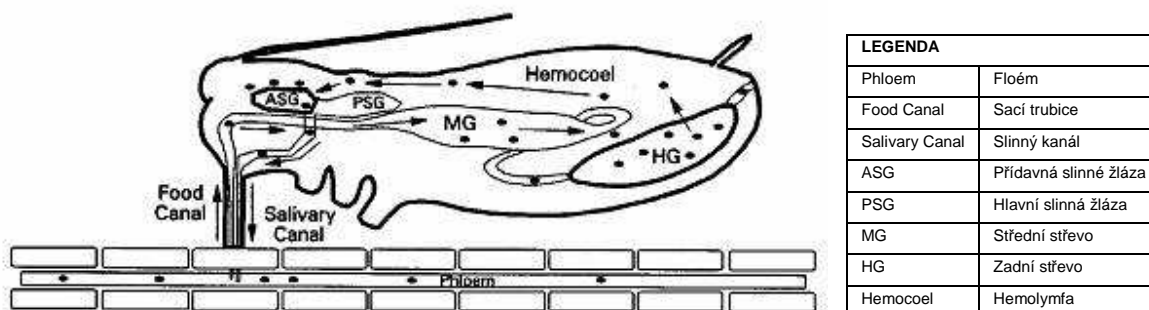
Viry skupiny BYDV resp. CYDV jsou přenášeny mšicemi, které žijí na rostlinách čeledi *Poaceae*. Jednotlivé druhy mšic mají různou specifitu přenosu pro jednotlivé kmeny BYDV (CYDV) (Dedryver *et al.*, 2005). Aktuálně je známo nejméně 25 druhů mšic schopných přenosu těchto virů (Rastgou *et al.*, 2005).

Pro přenos je nezbytné určité období nabývacího sání vektora na infikované rostlině (uvádí se 5 – 15 min, Kumar & Jarošová, 2008). Virus se dostává z floému sacím ústrojím do trávicího traktu mšice. Ve formě vezikul překonává epitel tlustého střeva a dostane se do hemolymfy, dále až do přídavné slinné žlázy. Rozpoznání membrány střeva je specifické, ale ne sérotypově a pravděpodobně zde nemá funkci ani CP-RTD (Gildow, 1993). Slinami, které proudí slinným kanálem, je potom virus infikován do nové rostliny (**obrázek 3**). Virus se v přenašeči nemnoží, ale zůstává v něm po celý zbytek života. BYDV je tedy obligátně přenosný mšicemi perzistentně, cirkulativně a nepropagativně (Power & Gray, 1995).

Viriony mohou přežívat v těle mšice díky proteinu symbionin – produktu endosymbiotických bakterií. Tento protein napomáhá správnému uspořádání ostatních bílkovin. Funkce symbioninu není sérotypově specifická, mšice po aplikaci antibiotik ztratily schopnost přenášet viry (van den Heuvel *et al.*, 1994). Ztráta této funkce není zatím úplně prokázána v souvislosti se symbioninem, protože už samotná aplikace antibiotik velmi omezuje životaschopnost mšice (Filichkin *et al.*, 1997). Bazální stěnu a plazmalemu musí virus překonat, aby se rozptýlil do slinných kanálů a dutiny ústní. Přenos přes basální stěnu je sérotypově specifický u BYDV-PAV a MAV, pro CYDV-RPV nespecifický (Gildow & Rochow, 1980). Cirkulativní přenos přes zažívací trakt

trvá nejméně 16 h, virus je přenášen při teplotách nad 12°C, z důvodu letové aktivity mšic (Muška & Procházka, 2008).

**Obrázek 3:** Diagram přenosu viru mšicemi (Chay *et al.* 1996)



Obilniny jsou obvykle infikovány na podzim (primární infekce), když přenašeči migrují na vzcházející ozimy, druhým obdobím je jaro až léto (sekundární infekce) od fáze sloupkování až později. Tyto infekce již obvykle nepředstavují významné riziko pro pěstované porosty (Vacke *et al.*, 1991). Každý serotyp je efektivně přenášen pouze omezeným počtem druhů mšic. Specifita vektora nekoreluje vždy se serotypem (Miller & Rasochová, 1997). Mezi nejefektivnější vektory jednotlivých kmenů BYDV patří: PAV - *Rhopalosiphum padi* (mšice střežchová, **obrázek 4**), *Sitobion avenae* (kyjatka osení), *Metopolophium dirhodum* (kyjatka travní) a další, MAV – *S. avenae*, *M. dirhodum*, PAS – *R. padi*, *S. avenae*, RPV – *R. padi*, GPV - *Schizaphis graminum* (mšice obilná) a *R. padi*, RMV - *R. maidis* (mšice kukuřičná), SGV - *S. graminum* (Rochow & Muller, 1971; Halbert *et al.*, 1992; Power & Gary, 1995). Mšice střežchová a kyjatka osení jsou považovány za nejvýznamnější přenašeče BYDV v oblasti Evropy, obzvláště pak kmene PAV na jaře. V jarním období přenášejí BYDV z ozimých obilnin na jarní ječmen, pšenici a kukuřici (Dedryver *et al.*, 2005).

Honěk *et al.* (2006) uvádí *R. padi*, *S. avenae* a *M. dirhodum* za nejvýznamnější přenašeče BYDV v ČR. Běžně se vyskytují také *S. graminum*, *R. maidis* a *Myzus persica* (mšice broskvoňová). *S. avenae*, *R. padi* a *R. maidis* se hojně vyskytují zejména v teplých oblastech ČR (Starý, 1996). Kumar & Jarošová (2008) připouští riziko výskytu dalších druhů mšic vlivem oteplování klimatu, např. *Diuraphis noxia* (mšice zhoubná) – přenos kmene SGV.

**Obrázek 4:** *Rhopalosiphum padi* jeden z přenašečů žluté zakrslosti ječmene (foto: L. Širlová).



### 3.3. Reakce rostliny na infekci BYDV, zdroje a genetické založení odolnosti

#### 3.3.1. *Symptomy*

Symptomy způsobené luteoviry jsou často obtížně odlišitelné od symptomů způsobených dalšími patogeny, nedostatkem živin nebo chladem. D'Arcy (1995) uvádí symptomy na pšenici jako méně patrné, často jen určité opoždění ve vývoji, které se projeví snížením výnosu (**obrázek 5**). Infekce ječmene se projeví silným žloutnutím a redukcí odnožování a nasazení klasu. Oves vykazuje také silné barevné změny (žloutnutí a červenání), svinování listů a redukcí výnosových prvků. Comeau *et al.* (1986) uvádí nejzávažnější škody na ječmeni a ovsu, menší na pšenici. Žito je považované za tolerantní, u triticales se reakce pohybuje od náchylnosti k toleranci takového stupně jako je u žita. Barevné změny na listech mohou přecházet až v nekrotické skvrny a jednotlivé izoláty jsou variabilní v závažnosti symptomů. Chay *et al.* (1996) uvádí výrazné symptomy u jinak odolných ovsů po infekci izolátem 129 BYDV-PAV. Na bouřlivosti projevů symptomů má významný vliv i fáze vývoje rostlin v době infekce. Rostliny napadené BYDV mají rovněž vyšší náchylnost k abiotickým (sucho, mráz) a biotickým stresům (škůdci, houby). Pelletier *et al.* (1974) uvádí zvýšenou náchylnost BYDV infikovaných rostlin ovsa a pšenice tvrdé ke kořenové hnilobě (*Cochliobolus sativus*). Novější studie prokázaly zvýšení náchylnosti BYDV infikovaných rostlin pšenice seté k fuzariu (*Fusarium culmorum* resp. *graminearum*) (Koch & Huth, 1997; Liu *et al.*, 2006).

V Čechách se infekce BYDV nejzávažněji projevuje na ozimém ječmeni a pšenici, Vacke *et al.* (2002) uvádí silnou náchylnost všech pěstovaných odrůd ozimého ječmene. Napadené rostliny nemetají, nebo nevytvářejí semena. Symptomy jsou někdy těžko odlišitelné od projevů původu neparazitického.

Při směsné infekci dvěma izoláty dochází k tzv. Cross-protection (křížová ochrana) u izolátů v rámci podskupiny I, ne však u podskupiny II. Při infekci PAV (I) a RPV (II) dochází k synergické reakci a infekce se projevuje závažnějšími symptomy než při infekci pouze jedním sérotypem. Ve všech případech je synergická reakce založena na násobení replikace RNA polymeázami podskupiny I a II (Wen *et al.*, 1991).



**Obrázek 5:** Symptomy na ozimé pšenici v metání (BBCH 55-59).



### **3.3.2. Zdroje odolnosti u pšenice**

Odolnost rodu *Triticum* k BYDV je na nízké úrovni, jak u pšenice tvrdé, tak obecné. Testy odolnosti se provádějí už třetí desetiletí, přičemž nebyl zatím zaznamenán genotyp s vysokou rezistencí (Comeau & Harber, 2002). Nalezené linie se zlepšenou odolností mají tuto vlastnost polygenně založenou s velmi problematickou dědičností (Comeau & Ploudre, 1987). Sight *et al.* (1993) uvádí odolnost odrůd jarní pšenice Frontana, Anza, Condor, Hahn, Siren, Tyrant a Parrot. Novější publikace uvádí zlepšenou odolnost k BYDV u některých odrůd ozimé pšenice původem z USA. Weisz *et al.* (2004) identifikoval dva tolerantní genotypy. Linie ozimé pšenice C9663 a odrůda Roane měly nízkou redukci výnosu a mírné projevy symptomů po infekci BYDV (přírozený výskyt). Pouze odrůda Roane reagovala konsistentně mezi pokusnými lety. Určitý stupeň tolerance je uváděn u řady odrůd ozimých pšenic; např: Tribute, McCormic, Avalanche, Sisson (Griffey *et al.*, 2001, 2003, 2005a, 2005b; Haley *et al.*, 2003). Databáze USDA-ARS uvádí další genotypy s „rezistencí“ k BYDV: Elmo (reg. 1980), Fillmore (reg. 1982), Comptom (reg. 1983), Hancock (reg. 1988), Orion (reg. 1985) a linií původem z Oregonu: FW741037-006, OR FW-B0004, FW771595-G305,

FW771595-G306, FW771697-G19, FW82178-B5012, FW82202-B5023FW88-PA-004, FW88-PA-010-7 a FW88-PA-101-2.

Šíp *et al.*, (1995) uvádí odrůdu ozimé pšenice Sparta jako mírně rezistentní, dále identifikoval další mírně rezistentní genotypy ozimých pšenic Samanta, Vega, Zdar, Regina, Livia a Asta. Jako náchylné uvádí odrůdy Vlada a Sida, které projevily závažné symptomy a redukci hmotnosti zrna na klas. Mezi jarními pšenicemi byl identifikován odolný genotyp původem ze Sýrie – linie WKL91-138 (Chrpová *et al.*, 1998) Mezi testovanými odrůdami jarní pšenice nebyl nalezen tolerantní genotyp. Vacke *et al.* (1996) uvádí mírnou rezistenci u linie ST271-92, což je kódové označení pro registrovanou odrůdu Leguan. Rovněž byla potvrzena odolnost odrůd Maringá, ale odrůda Frontana vyšší stupeň tolerance postrádala. Genetické založení odolností není uváděno a pravděpodobně není známé.

Odrůda ozimé pšenice Elmo, původem z USA, má určitou rezistenci vůči BYDV, pravděpodobně původem z *Thinopyrum ponticum (elongatum)* (Comeau & Ploudre, 1987). Tolerantní čínská odrůda jarní pšenice Long Miai byla odvozena z mezidruhového křížení pšenice s *Thinopyrum intermedium* (Chi *et al.*, 1979). Comeau zaznamenal pozitivní vliv žitné translokace na odolnost pšenice vůči žluté zakrslosti ječmene (ústní sdělení). Rody *Thinopyrum*, *Elytrigia* a *Leymus* vykazují vysokou odolnost blížící se imunitě (brání množení viru v rostlině). Rezistence těchto rodů vůči BYDV má evoluční vazbu k vytrvalým typům trav. Vytrvalé druhy trav mají mohutnější kořenový systém, a pokud se k napadení přidá další stresový faktor sucha, je vytrvalý typ ve výhodě. Pouze u žita byl zaznamenán určitý stupeň odolnosti z druhů jednoletých. Tato zjištění iniciovala produkci vzdálených hybridů, od kterých se očekávala rezistence vůči BYDV (Comeau *et al.*, 1987, 1992; Banks *et al.*, 1995; McGuire *et al.*, 1995; Sharma *et al.*, 1994).

Ploudre *et al.* (1992) hybridizoval odrůdu jarní pšenice Fukuhokomugi a *Leymus angustus* (divoké žito, Altai). Hybridní osivo v F1 generaci infikoval BYDV-PAV. Zjistil vysokou polní odolnost hybridů na úrovni mateřského divokého žita. Hybridizací pšenice a pýru (*Thinopyrum intermedium*) byla získána linie OK7211542 „Agroticum“ ( $2n = 8x = 56$ ), která vykazovala úplnou imunitu (Comeau *et al.*, 1994).

Banks *et al.* (1995) provedl introgresi části chromozomu 7 z *Thinopyrum intermedium* (úspěšnost byla asi 1 %, 14 translokací z 1200 regenerovaných rostlin). Zdrojem genů rezistence byla disomická aditivní linie L1, která nese 7Ai-1 chromozom. Lokus rezistence je na dlouhém rameni tohoto chromozomu. Hybridní linie

rekombinovaly s pšeničným chromozomem 7D a byly odvozeny introgresní linie s částí chromozomu 7X z *Thinopyrum intermedium*. Tři genomy *Th. intermedium* jsou obvykle označovány písmeny E, J a X. První dva jmenované si jsou velmi podobné a linie L1 s introgresí nese právě translokaci genomu X. Pro svou jednoduchou dědičnost, velmi malou translokovanou část chromozomu (nejmenší část nese linie TC14) a pokročilý stupeň kulturnosti byly tyto linie široce použity ve šlechtitelských programech jako zdroje odolnosti vůči BYDV (SCRDC - Kanada, CIMMYT - Mexiko, CSIRO - Austrálie, ICARDA – Sýrie). Mackellar je první odrůda vyšlechtěná z linie TC14. Je to dvojúčelová pastevní ozimá odrůda, jejíž využití úzce souvisí se specifickými požadavky pěstitelů v Austrálii. Její pedigree je: Tatiara / TC14 // Beaver / 3 / Soisson / 4 / B1073. Druhou odrůdou vycházející z translokovaných linií TC je jarní pšenice Glover. Odolnost této odrůdy vůči BYDV je odvozena z linie TC6 a má pedigree TC6 / 5\*Hartog (Larkin *et al.*, 2002).

Další linií je ozimá pšenice P29. Byla připravena substitucí sedmého chromozómu ozimé pšenice Oahe, kde byl chromozom 7D nahrazen 7E (Sharma *et al.*, 1997; Crasta *et al.*, 2000). Kříženci P29 s odrůdou Caldwell byly v F1 generaci ozářeny a selekcí byla získána linie P98134, která nese translokaci koncové části dlouhého ramene chromozomu 7E (Ohm *et al.*, 2002). Nově byl registrován genotyp ozimé pšenice odvozený od linie P29, pod označením P961341 (Ohm *et al.*, 2005) Nese jen velmi malou část chromozomu 7E z *Thinopyra* a vyznačuje se dobrou prošlechtěností, která zvyšuje možnosti jeho využití ve šlechtění.

Určitá rezistence vůči některým izolátům BYDV je přičítána i genům na chromozomu 1 a 2 *Th. intermedium* (Larkin *et al.*, 1995; Zhang *et al.*, 2001). Geny na těchto chromozomech mají aditivní účinek a mohly by být použity k pyramidingu genů při šlechtění pšenice na odolnost vůči různým izolátům (Francki *et al.*, 2001).

Zhong4 Awnless (v některé literatuře uváděno jako Zhong 5 - Barloy *et al.*, 2003) je částečný amphiploid z *Th. intermedium*, připravený v Heilongjian Academy of Agricultural Science (Čína) (Xin *et al.*, 2002). Tento genotyp nese jiné geny rezistence než TC linie na chromozomu druhé skupiny. Chromozomová sestava je 42 pšeničných a 14 chromozomů z *Th. intermedium*. Zpětným křížením na pšenici byly odvozeny tři disomické aditivní linie s odolností vůči BYDV, Z1, Z2 a Z6 (Larkin *et al.*, 1995). Z mladých embryokultur Z6 / Zhong 8601 byly odvozeny substituční linie ZD28, N431, N432 a N439. Substituční linie ZD28 nese 40 chromozomů pšenice a 2

z *Th. intermedium* (2Ai-2). Chromozomy 2Ai-2 z velké části obsahují St genom, ale asi jedna třetina je původem z E genomu *Th. intermedium* (Zhang *et al.*, 2000).

Dobrou odolnost vůči BYDV vykazoval amphidiploid CPI 113500 ( $2n = 70$ ), což je kříženec *Triticum turgidum* ( $2n = 28$ ) a *Agropyron pulcherrimum* ( $2n = 42$ ). Křížením této linie s běžnou pšenicí byla získána *Ag. pulcherrimum* disomická aditivní linie 96S16-11 a substituční linie 96W14-9, které byly rezistentní vůči BYDV. Tato odolnost byla ve vazbě s tenkou pluchou (Hairy glume) přítomnou u *Ag. pulcherrimum*, ale ne u pšeničných rodičů. Hg gen je lokalizován na chromozomu skupiny jedna, je tedy pravděpodobné, že geny odolnosti vůči BYDV jsou zde lokalizovány také (Xin *et al.*, 2002).

*Agropyron elongatum* je považován za další zdroj odolnosti vůči BYDV (Bruehl & Toko, 1957, Makkouk & Gulham 1989, Sharma *et al.* 1984, 1989). Název *A. elongatum* byl používán pro dva rozdílné druhy: diploidní *Lophopyrum elongatum* (Host.) ( $2n = 2x = 14$ ) a dekaploidní *L. ponticum* (Podp.) ( $2n = 10x = 70$ ). Byla potvrzena rezistence obou druhů a chromozomy 2E a 5E měly největší vliv na odolnost vůči BYDV (McGuire *et al.*, 1995). Obě ramena chromozomu mají shodný efekt na odolnost. Využití tohoto zdroje odolnosti by vyžadovalo přenést velké množství částí genů z *L. elongatum* do genomu pšenice. Využití u *L. ponticum* je komplikované také jeho ploeditou.

### **3.3.3. Genetické založení odolnosti u pšenice**

U některých odrůd byly zaznamenány znaky odolnosti vůči BYDV – pomalé žloutnutí a snížení redukce výnosu. Nositelem této odolnosti byl označen gen *Bdv1*, který je jen částečně účinný a částečně dominantní. Gen *Bdv1* je ve vazbě s geny *Lr34* a *Yr18* a předpokládá se jeho lokalizace na krátkém rameni chromozomu 7D (Singh *et al.*, 1993). Přítomností tohoto genu se vysvětluje tolerance odrůd Frontana, Anza, Condor, Hahn, Siren, Tyrant, Lira a Parrot. Tolerance se projevuje zejména na BYDV-MAV izolátu, účinek na BYDV-PAV byl zaznamenán jen u mírných patotypů. Efekt tohoto genu může být variabilní také v závislosti na genetickém pozadí, nebo jeho vazba na geny *Lr34* a *Yr18* nemusí být tak silná, jak se předpokládalo (Ayala *et al.*, 2002).

Ayala *et al.* (2002) prováděla rozsáhlé testy kombinace odrůdy Frontana (tolerantní nesoucí *Bdv1* gen) a INIA66 (náchylná) a ITMI populace. ITMI populace je F7 generace křížení syntetické hexaploidní pšenice a běžné jarní pšenice Opata85.

Syntetická pšenice je složena z tvrdé pšenice Altar84 a *Triticum tauschii*, které je považováno za možný zdroj odolnosti vůči BYDV. Byly měřeny parametry redukce odnoží, výšky, produkce biomasy, výnosu a hmotnosti tisíce semen, dále bylo hodnoceno žloutnutí listů, zakrslost a redukce výnosu. Největší dědičnost byla zaznamenána pro žloutnutí a to pro obě sledované populace (0,64 ITMI, 0,48 Frontana\*INIA66). V ITMI populaci byly na významné úrovni i měřené parametry hmotnost biomasy ( $h = 0,59$ ), výnos ( $h = 0,57$ ), HTZ ( $h = 0,57$ ) a hodnocené parametry zakrslost ( $h = 0,40$ ) a redukce biomasy ( $h = 0,46$ ). V populaci Frontana\*INIA66 byly hodnoty heritability nižší, pro měřené parametry výnosu a biomasy 20%, výšku rostlin 16% a pro hodnocený parametr zakrslost 13% (Ayala *et al.*, 2002).

Na základě těchto pozorování v ITMI populaci bylo identifikováno 22 QTL asociovaných s různými parametry tolerance vůči BYDV, šest QTL bylo identifikováno v populaci Frontana\*INIA66. U obou testovaných populací byly QTL pro jednotlivé vlastnosti většinou lokalizované na různých částech chromozomů. Byly identifikovány jeden až čtyři QTL pro každý hodnocený znak v ITMI populaci, která měla váhu v rozmezí 3,7 % až 15,8 %. V populaci Frontana\*INIA66 byly identifikovány pouze jeden až dva QTL, které měly váhu v rozmezí 4,1 % až 13,3 %. Více QTL zjištěných v souvislosti s tolerancí vůči BYDV a kontinuální rozložení naměřených hodnot dokazuje polygenní založení odolnosti.

Linie odvozené z translokace s *Thinopyrum intermedium* navozují tzv. pravou rezistenci (Ayala *et al.*, 2001; Banks *et al.*, 1995b; Chen *et al.*, 1998; Larkin *et al.*, 1995; Sharma *et al.*, 1997; Comeau *et al.*, 1994). Tento typ rezistence se vyznačuje redukcí multiplikace viru v rostlině. Omezení rozvoje viru je výhodné zejména v omezování množství viru v porostu, a tím snižování rizika dalšího šíření. K identifikaci tohoto typu rezistence je možné použít ELISA, kdy hodnota absorbance je v porovnání s náchylnými liniemi asi desetinásobně nižší (Henry *et al.*, 2001). Bohužel některé rezistentní linie vykazují náchylnost k virové infekci v polních podmínkách (Ayala *et al.*, 2001). Tento typ odolnosti vykazují všechny linie odvozené z australské translokované linie L1 (genom X) a gen navozující rezistenci byl označen *Bdv2*.

Také translokovaná linie P29 a z ní odvozené linie (P98134 a P961341) vykazovaly snížené hodnoty absorbance v porovnání s náchylnými genotypy (Ohm *et al.*, 2002). Geneticky mají tyto geny původ v genomu E *Th. intermedium* a gen

poskytující rezistenci byl označen jako *Bdv2*, v některé literatuře je popisována i přítomnost genu *Bdv3* (Ohm *et al.*, 2005).

Translokované linie odvozené z částečného amphiploidu Zhong 5 nesoucí translokaci v druhé skupině chromozomů vykazují také pravou rezistenci. Barloy *et al.* (2002) porovnával redukci množství viru v infikovaných rostlinách linií L1, TAW46 a TC14 (gen *Bdv2*) a linií Zhong 5, Z6 a ZH (gen odolnosti zatím neznámý). Jeho výsledky ukazují, že absorbance (tedy i množství viru v rostlinách po infekci) byla nižší u linií odvozených z linie Zhong 5. Gen odolnosti je zatím pracovníčně označován *Bdvx*.

### **3.3.4. Zdroje a genetické založení odolnosti u ječmene a ovsu**

U ječmene jarního identifikoval Suneson (1955) recesivní gen v odrůdě Rojo, který byl později označen *yd1* (Rasmusson & Schaller, 1959). Tento gen nenašel širší uplatnění ve šlechtění ječmene z důvodu nízkého efektu na rezistenci k BYDV, na rozdíl od genu *Yd2*, který detekovali Schaller *et al.* (1964) ve velmi raných kultivarech ječmene etiopského původu. *Yd2* je neúplně dominantní gen lokalizovaný na chromozomu 3 ve vazbě s genem pro hustotu klasu, genem determinujícím barvu klasu a genem pro odolnost k *Rhynchospodium secalis*. Tento gen poskytuje nejeфекtivnější ochranu k BYDV (Lister & Ranieri, 1995) a byl přenesen do řady odrůd a linií ozimého a jarního ječmene (Burnett *et al.*, 1995). Bohužel však nejsou vhodné pro pěstování v oblasti střední Evropy (Šíp *et al.*, 2004). *Yd2* gen se chová podobně jako *Bdv2* gen u pšenice, rovněž redukuje množství viru v rostlinných tkáních a navozuje tzv. „pravou“ rezistenci (Raniery *et al.*, 1993). Byl nalezen kodominantní marker (*Ylp*) pro identifikaci genu *Yd2* (Ford *et al.*, 1998). Nositeli genu *Yd2* jsou odrůdy ječmene Atlas68, Abate, CI2376 (Schaller, 1983), dále pak Coracle, CM67, CM72, Franklin, Nomin, Prato, Shannon, Shyri, Sutter, UC337, UC476, UC566, UC603, Venus, Vixen a Wysor (Burnett *et al.*, 1995). V našich klimatických podmínkách se gen *Yd2* jeví jako účinný a je předpoklad jeho perspektivního využití ve šlechtění na odolnost (Chrpová *et al.*, 1998). Zlepšení odolnosti ječmene k BYDV je možné též kombinací s dalšími účinnými zdroji odolnosti jako jsou odrůdy Perry a Sigra (Šíp *et al.*, 2001).

U ovsu dosud nebyly zjištěny žádné geny velkého účinku, které by podmiňovaly rezistenci k BYDV. Existují genotypy s různou úrovní tolerance (Brown & Jedlinski, 1978; Comeau, 1982; Kolb *et al.*, 1991; Ohm *et al.*, 2002). Vacke *et al.* (1996) potvrdil toleranci u odrůd Saia (*A. strigosa*), Ogle a linií IL85-6467 a IL86-4189. Barbosa-Neto

*et al.* (2000) identifikoval QTL ve vazbě k toleranci k BYDV z kombinace křížení odrůd Kanota/Ogle. Zhu *et al.* (2003) popsal některá QTL ve vazbě na tolerance k BYDV, které mají souvislost s délkou rostlin a raností.

### **3.3.5. Transgenoze rostlin – účinný prostředek získání rezistentních genotypů k BYDV**

S rozvojem poznatků genomu viru žluté zakrslosti ječmene byly tyto informace využity i v konstrukci transgenních rostlin s různými částmi genomu BYDV navozující rezistenci, nebo zpoždění rozvoje choroby. Obvykle jsou používány geny kódující plášťový protein a RNA-dependentní RNA polymerázu (také nazývaná jako replikáza). Transgen pro plášťový protein má obvykle široké spektrum účinku na různé patotypy BYDV, ale rezistence není kompletní a zpravidla dochází jen ke zpoždění nástupu symptomů. Tento typ rezistence může být překonán vysokou dávkou inokula viru, nebo infekcí rostlin samotné virové RNA (Grumet, 1990). Naproti tomu transgen pro virovou replikázu poskytuje úplnou imunitu, ale jen ke kmenům viru s vysokou homologií této části genu (Golemboski *et al.*, 1990).

Byla vytvořena řada transgenních genotypů s genem pro plášťový protein BYDV (Dupré *et al.*, 2002; Cheng *et al.*, 2002) a s genem pro replikázu (Koev *et al.*, 1998), ale pouze malý počet rostlin bylo opravdu rezistentních a rezistence byla slabá, nestabilní a komplikovaně dědičná. Abbot *et al.* (2002) uvádí stabilní rezistenci transgenního ječmene s genem kódujícím „smyčku“ pro dvouvláknovou RNA z BYDV-PAV kmene („hairpin-RNA“). Tato rezistence je založena na sekvenčně-specifické RNA degradaci.

Využití transgenních rostlin s rezistencí k BYDV však dosud nenašlo široké uplatnění, je to způsobené zejména legislativními překážkami a negativním postojem veřejnosti. Existují i určitá rizika použití těchto transgenních rostlin v praxi (heterologní enkapsidace, synergické interakce, nové patogenní RNA-rekombinace nebo únik transgenu na divoké příbuzné druhy).

### **3.4. Metody testování a selekce na odolnost k BYDV**

Metody testování jsou založeny jednak na přímých polních testech, které využívají buď přirozený výskyt přenašečů nesoucích BYDV, nebo umělou infekci vironosnými mšicemi ze skleníkových chovů. Přímé testy vychází z poznatku, že BYDV není přenosný jiným způsobem, než pomocí mšic, a tudíž jsou poměrně komplikované v porovnání s mechanicky přenosnými viry (např. Wheat spindle streak mosaic bymovirus, WSSMV, Carroll *et al.*, 2002). Nepřímé metody jsou založeny na znalosti genetického založení rezistence některých genotypů nesoucích geny *Bdv2*, *Bdv3* nebo *Bdvx*, původem z *Thinopyrum intermedium*. Jejich přítomnost je možné prokázat pomocí kvantitativní ELISA nebo na úrovni DNA pomocí markerů.

#### ***3.4.1. Přímé metody – polní testy***

##### **3.4.1.1.1. Přirozená infekce BYDV**

Přímé polní testování je nezbytné k ověření validity nepřímých metod a jsou uváděny postupy řady autorů. Některá pracoviště s pravidelným přirozeným výskytem přenašečů mohou spoléhat na přirozený výskyt BYDV. Tento infekční tlak lze ještě různými způsoby zvyšovat, jako třeba udržováním „zeleného mostu“ pro přenašeče, přípravou infekčních pásů kolem testovacích školek pro zvýšení podílu vironosných mšic, nebo posunem v době setí testovaných materiálů (Rasmusson & Schaller, 1959). Příkladem takové oblasti je Piedmont Research Station v Salisbury (Severní Karolína).

Design pokusu je nutné uzpůsobit přirozenému výskytu (vytvoření „zelených mostů“, časné setí, podlouhlý tvar pokusných parcel). Pro odhad redukce výnosu infekční varianty je obvykle zařazena varianta mořená insekticidním mořidlem (Gaucho, u.l. Metasystox), které zabraňuje plošné infekci kontrolních parcel v raných fázích růstu (Weisz *et al.*, 2005; McKirdy *et al.*, 2002, Henry & Segura, 1999). Později jsou kontrolní parcely pod insekticidní clonou. Hodnocení genotypů je prováděno symptomaticky v době po metání, hodnotící škálou 0-9 (0 = bez symptomů). Hodnotí se podíl napadených rostlin v parcelce a míra diskolorací a zakrslost u napadených rostlin.

V plné zralosti se měří výnos a vypočte redukce výnosu v porovnání k neinfikované kontrole. Nicméně i v oblastech s poměrně častým výskytem nedochází



k dostatečnému infekčnímu tlaku každoročně a některé genotypy reagují rozdílně v závislosti na době infekce (Weisz *et al.*, 2005).

McGuire *et al.* (1995) uvádí jiný způsob využití přirozeného výskytu přenašečů pro infekci testovacích škoek. Náchylné genotypy pšenic byly vysety časně v září a sloužily jako „lapače“ mšic při podzimním přesunu vektorů. Tyto rostliny byly rovněž infikovány menším množstvím mšic ze skleníkových chovů pro zajištění přítomnosti viru BYDV v přenašečích. V únoru až březnu byly vysety testované genotypy a ve fázi 2-4 listů byly infikovány. Infekce byla provedena pomocí mšic z rostlin „lapačů“. Tyto rostliny byly posekány a rozmístěny na testované genotypy. Na testovací školky byl po dvou týdnech nabývacího sání aplikován insekticid.

#### 3.4.1.1.2. Umělá infekce BYDV

Aktuálně nepoužívanější metodou jsou **polní infekce vironosnými mšicemi z umělých chovů** (Comeau *et al.*, 1984, 2002; Henry *et al.*, 2001; Barloy *et al.*, 2003, Vacke *et al.*, 1996). Comeau *et al.* (1984) uvádí, že k vyšlechtění nových odrůd odolných vůči žluté zakrslosti ječmene (BYDV) je nezbytné mít spolehlivou techniku inokulace, která může být úspěšně využita k testování tisíců linií obilnin každý rok. Protože je virus přenosný výlučně mšicemi, je detailní znalost biologie přenašeče nezbytná stejně jako znalost izolátů viru. Pracoviště Prof. Comeau má velmi bohaté zkušenosti s testováním obilnin na odolnost k BYDV pomocí umělé infekce, která je prováděna již od roku 1971.

V roce 1973 bylo objeveno, že mšice smíchané s talkem (mastenec mletý) mohou být přechovávány a je možné je umístit k vybraným rostlinám. Bez použití talku se mšice „slepí“ dohromady a nejsou schopny pohybu a infekce rostlin (Comeau, 1976). Obvykle se pro přenos BYDV používá mšice střemchová (*Rhopalosiphum padi*), která dobře snáší vyšší teploty (nepřežije více jak 37°C; Belvett *et al.*, 1965), které obvykle hrozí při pěstování rostlin ve skleníku. Comeu (1983) uvádí citlivost kyjatky travní (*Metopolophium dirhodum*) k vyšším teplotám, nepřežije vyšší teploty než 30°C a pro její chov je nutný klimatizovaný skleník. Rostliny pro chov mšic je možné pěstovat v kořenáčích nebo v řádkových výsevech, u kterých je ponechán 1 metr prostoru mezi řádky (Comeau, 1983). Pro produkci dostatečného množství mšice střemchové pro infekci cca 1 ha pokusných ploch je doporučena plocha klimatizovaného skleníku asi 50 m<sup>2</sup>, v případě pouze větraného 100m<sup>2</sup>.

Skleník musí být izolovaný sítěmi k zamezení vniku nežádoucích druhů hmyzu, zejména parazitoidů a predátorů mšic a prostý jiných rostlin (Comeu, 1983). Vzhledem k častým nutným vstupům do skleníku je poměrně těžké vyvarovat se průniku predátorů a parazitoidů. Počet napadených mšic parazitoidy lze zjistit pomocí diethyletheru a hydrogenperoxidu (Quiroz & Niemeyer, 1997). Pokud je zjištěno napadení vyšší jak 5 %, je nutné mšice sklidit a umístit na cílové rostliny do deseti dnů, později bude chov již redukován (Comeu, 1983). Optimální podmínky pro chov mšic jsou teplota v rozmezí 12 až 14 °C, světelnou intenzitu 250 až 350 uE a poměr světla a tmy 16:8. Prvních asi 40 dnů je nutné používat dvě oddělené růstové komory pro přípravu viruprostých a infekčních kolonií. Vhodnými plodinami pro rozvoj mšic jsou oves a ječmen (Comeau, 1983). Ječmen jarní je vynikající plodina pro množení mšic do začátku metání, pak začne rychle dozrávat a mšice se na rostlinách nemnoží (Comeau, 1982) Dobré zkušenosti byly získány s chovy vedenými na ovsu setém (nahém), ozimý ječmen činil problémy po vymetání, díky své osinatosti (Vacke, osobní sdělení).

V průběhu chovu se vlivem sání mšic na rostlinách vytváří lepkavá vrstva „medovice“; produkt jejich metabolismu, kterým se tak vyrovnává s nadbytkem sacharidů a vody v potravě. „Medovice“ jednak ucpává průduchy rostliny a nabourává její vodní režim, ale také imobilizuje mšice, které se na rostlině zachytí a nelze je následně použít pro infekci BYDV v infekčních školkách. Z toho důvodu je nutné rostliny s chovem mšic pravidelně rosit vodou, která redukuje množství „medovice“.

Vlhkost skleníku může způsobit napadení mšic houbou druhu *Entomophora* spp. Obrana spočívá v dobrém větrání, fungicidy nejsou příliš účinné. Padlí (*Blumeria graminis*) může také způsobovat problémy při chovu mšic. Největší riziko představuje rozvoj choroby v časných růstových fázích rostlin. Postřik nesmí být toxický pro mšice (Comeau, 1983).

Testování infekčnosti mšic lze provádět dvěma způsoby: 1/ Infekčním přenosovým testem, 2/ imunochemicky (ELISA). Dostatečný rozvoj populace mšic závisí na zdravotním stavu rostlin, jejich vodním režimu a výživě. Zejména dostatečná výživa dusíkem je nezbytná (Comeau *et al.*, 1983). Regulace rozvoje mšic je možná změnou teploty; zvýšení podpoří množení, snížení teploty působí opak. Pokud počet mšic dosáhne kritického počtu na rostlině, je možné je redukovat proudem vody z postřikovače. V případě, že mšice dosáhly vrcholu populační křivky, je nezbytné je použít do 48 hodin, jinak nastává jejich úhyn (Vacke, osobní sdělení).

Sklepané mšice jsou přeneseny do plastického boxu, kde mohou být ve vrstvě 5-8 mm. Boxy musí být uchovávány v suchu, bez náhlých změn teplot a mimo přímé sluneční záření (Comeu, 1983). Životnost mšic se pohybuje okolo jedné hodiny, lze ji prodloužit uchováváním na ledě až na tři hodiny (Vacke, osobní sdělení). Je těžké odhadnout počet mšic, protože záleží na jejich vývojovém stadiu, ale lze uvést, že jeden milion váží asi 300 až 450 g a zabírá objem asi 1,1 až 1,5 litrů. Infekce pšenice by měla být provedena ve fázi 2 až 5 listů na podzim, případně časně na jaře, pokud z různých důvodů neproběhla dříve (Comeau 1983).

Infekce může být provedena ručně, kdy skupina pracovníků sklepává ke každé rostlině odhadem 10 až 20 mšic, nebo pomocí zařízení navrženého Comeau (1976). Doporučovaným obdobím pro provedení infekce je u ječmene mezi stadiem dvou listů a odnožováním; oves, pšenice a triticales mají delší období vhodné pro infekci, mezi stadiem dvou listů a začátkem sloupkování (Comeau *et al.*, 1984). Pozdější infekce jsou již ovlivněny velkou statistickou chybou. Po 5 až 7 dnech se porost ošetří insekticidem (Comeu, 1983, Šíp *et al.*, 1996). Pro zabránění nežádoucích infekcí kontrolních rostlin, případně infekcí jinými viry (WDV) je nutno udržovat porosty pod stálou insekticidní clonou (Šíp *et al.*, 1996).

Většina dalších vědeckých publikací metodicky vychází z poznatků Prof. Comeau (1983, 1992). Podobný postup chovu mšic a infekce uvádí Keith *et al.* (2000), Ayala *et al.*, (2001, 2002), Henry *et al.* (2002), Liu *et al.* (2006), Šíp *et al.*, (1996, 2004), Zhu *et al.*, (2003).

Fytoškolky se vysévají podle charakteru testovaných genotypů. Rostliny v F2 a F3 generaci jsou vysévány do větších ploch (až 3 m<sup>2</sup>) a po infekci probíhá pozitivní výběr odolných jedinců (Comeau, 1984). Jedlinsky a Brown (1965) dosáhli dobrých výsledků při testování ovsu ve fytoškolce seté do hnízd. Velmi efektivní je využití secího stroje typu seedmatic (Winersteiger). V tomto případě se osvědčil výsev do 85 cm dlouhých řádků (Comeau *et al.*, 1984). Půda musí umožňovat jednotné klíčení po zasetí, neboť růstová fáze rostliny při infekci má významný vliv na manifestaci symptomů. Pro pokusy materiálů v raných generacích je doporučována infekce již od fáze jednoho listu do počátku odnožování. Comeau *et al.* (1983) doporučuje na vhodných stanovištích jen jedno opakování pro oves a ječmen, dvě opakování pro triticales a tři opakování pro pšenici. Pokusy většinou mají neinfikovanou kontrolu, která slouží k odhadu redukce výnosových parametrů vlivem infekce BYDV (Comeau

& Harber, 2002, Chrpová *et al.*, 1998, Šíp *et al.*, 2004, McKirdy & Jones, 2002, McGuire *et al.*, 1995, Weisz *et al.*, 2004).

### 3.4.1.1.3. Symptomatické hodnocení a redukce výnosových prvků

Hodnocení symptomů je prováděno v době kvetení podle stupnice, kterou vyvinuli Schaller & Qualset (1980). Zatímco pro oves a ječmen intenzita symptomů dobře informuje o odolnosti, pro pšenici a triticales je pouze orientační (Comeau, 1984). Účinek BYDV se totiž projevuje hlavně nižším založením klásků a zakrslostí, méně pak žloutnutím. Symptomy tedy příliš nekorelují s poškozením rostliny (Comeau, 1984), což potvrzují i práce Ayala *et al.* (2002) a Weisz *et al.* (2004). Pro další hodnocení jsou proto důležitými ukazateli počet klasů na rostlinu, hmotnost zrna na klas, hmotnost zrna na plochu a sklizňový index (HI).

Sklízí se stébla při úrovni země ve střední části (30 cm) řádku širokého 85 cm (Comeau *et al.*, 1984), nebo celé rostliny (Chrpová *et al.*, 1998). Comeau (1992) uvádí objemovou hmotnost zrna za jeden z vhodných ukazatelů tolerance k BYDV, protože tato hodnota v sobě zahrnuje vlivy pozdního působení BYDV v době dozrávání. Problémem tohoto ukazatele je, že může být ovlivněn dalšími faktory, jako je třeba délka stébla. Comeau & Harber (2002) doporučují hodnotit parametry: sklizňový index, výnos, hmotnost biomasy a objemovou hmotnost společně s využitím korelačních vztahů. Z těchto výnosových ukazatelů lze vypočítat index náchylnosti (SI = Susceptibility index). Je to uměle vytvořený parametr, který zahrnuje symptomatické hodnocení a výnosové parametry do jedné hodnoty. Index náchylnosti odvodili Comeau a St.Piere (1982) a pro naše podmínky jej upravil Šíp *et al.* (1997) s ohledem na nižší pracnost rozborů. Rovnice pro výpočet SI jsou uvedeny v **tabulce 1**. Chrpová *et al.*, 1998 uvádí hlavní vlivy redukující výnos infekční varianty u ozimé a jarní pšenice. Procentní redukce u odrůd ozimých pšenic byla hodnocena jako velmi vysoká, u hmotnosti zrna na plochu a hmotnosti zrna na klas (asi 40%), ale poněkud nižší (24%) u hmotnosti slámy na plochu, což svědčí o tom, že nákaza BYDV postihuje ve větší míře reprodukční orgány než vegetativní. O redukci výnosu zrna rozhodoval zejména parametr počet zrn na klas, méně pak v redukci hmotnosti tisíce zrn a počtu klasů na rostlinu. Podobně reagovala na infekci i jarní pšenice, kde největší podíl redukce infikované varianty byl tvořen parametrem hmotnost zrna na klas. Statistické korelační analýzy rovněž ukázaly, že přesnější jsou hodnocení založená na datech infekční

varianty, než na vypočtených redukcích infekční a kontrolní varianty tesu (Chrpová *et al.*, 1998).

Výhodou polního testu je sledování reakce rostliny v reálných podmínkách – nevýhodou je vysoká pracnost, závislost na podmínkách počasí a nejistý proces množení přenašeče.

**Tabulka 1:** Rovnice pro výpočet SI a jejich korelační koeficient (Šíp *et al.*, 1997).

Rovnice	Autor	Korelační koeficient
<b>Ozimá pšenice</b>		
1. $HZP + 12 HI + 0,2(10-SH)$	Comeau a St.Piere (1982)	0,48
2. $2,92 HZK + 9,78 HI + 0,1(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,72
3. $4,42 HZK + 0,19(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,81
4. $0,52 BIO + 0,19(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,23
<b>Jarní pšenice</b>		
1. $HZP + 12 HI + 0,2(10-SH)$	Comeau a St.Piere (1982)	0,73
2. $0,9 HZP + 9,78 HI + 0,52(10-VS)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,75
3. $1,52 HZP + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,71
4. $0,51 BIO + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,70
5. $1,92 HZK + 0,35 PKR + 9,78 HI + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,77
6. $2,22 HZK + 0,41 PKR + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,76
7. $3,52 HZK + 9,78 HI + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,76
8. $4,02 HZK + 0,52(10-SH)$	Šíp <i>et al.</i> (1997)	0,75

**HZP** – hmotnost zrna na plochu

**HI** – harvest index

**SH** – symptomatické hodnocení

**HZK** – hmotnost zrna na klas

**BIO** – biomasa na plochu

### 3.4.2. Nepřímé metody

#### 3.4.2.1.1. Semikvantitativní ELISA

Semikvantitativní ELISA je jednou z metod, které byly vyvinuty pro stanovení relativního množství viru v infikované rostlině. Vychází se z předpokladu, že rostliny, které zabraňují množení a šíření viru, projevují určitý stupeň imunity - rezistence. Tento projev odolnosti je spojen s přítomností translokovaných částí chromozomu zdrojů odolnosti k BYDV (*Thinopyrum intermedium* a *Leymus angustus*).

Henry *et al.* (2002) uvádí infekci deseti vironosnými mšicemi na týden starou klíčící rostlinu a dvoudenní infekční periodu. Barloy *et al.* (2003) uvádí infekci pěti mšic a pětidenní infekční periodu. Množství virových částic po infekci nejprve vzrůstá v kořenech, a pak se šíří do celé rostliny. Henry *et al.* (2002) uvádí doby odběru vzorků prvního listu 10, 20 a 31 dní po infekci a odběru kořenů 5, 10 a 20 dní po infekci. Barloy *et al.* (2003) uvádí nevýznamný rozdíl v absorbancích při odběrech 15. a 25. den po infekci, za vhodný uvádí 20. den po infekci. Ploudre *et al.* (1992) zaznamenal největší rozdíly v absorbancích mezi náchylnými genotypy a zdrojem odolnosti *Leymus angustus* u vzorků odebraných 10. den po infekci. Výhodou této metody je snížení počtu mšic potřebných pro testy, test je vyhodnocen řádově do měsíce a nezávisle na povětrnostních podmínkách. Rozdíly v hodnotách absorbancí mezi genotypy s rezistencí a náchylnými genotypy jsou uváděny v rozmezí 80-50% (Banks *et al.*, 1994, Sharma *et al.*, 1994, Barloy *et al.*, 2003, Ploudre *et al.*, 1992, Ayala *et al.*, 2000, Chain *et al.*, 2005). Tyto rozdíly v relativním množství viru v rostlinách s translokací z *Thinopyrum intermedium* byly potvrzeny i pomocí Real-Time RT-PCR (Balaji *et al.*, 2002). Nevýhodou je vysoká náročnost na přesnost práce a jednotnou růstovou fázi rostlin. Sight *et al.* (1993) uvádí náchylnost některých materiálů v polních podmínkách, ačkoli imunochemický test prokázal snížení množství viru. Podobné výsledky potvrzuje i Ayala *et al.* (2002).

#### 3.4.2.1.2. Analýza DNA

Rozvoj metod selekce založených na analýze DNA započal v devadesátých letech, kdy byly identifikovány RFLP a RAPD markery (Banks *et al.*, 1993; Hohmann *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 1996; Zhang *et al.*, 1999). V roce 2001 Ayala *et al.* odvodila SSR marker *gwm37*, který je kodominantní, dokáže odlišit heterozygotní založení

introgrese. Henry *et al.* (2002) hodnotila účinnost tohoto markeru s výsledky kvantitativní ELISA. Asi 70 % rostlin v F4 generaci, které byly identifikovány markerem jako homozygoti (TiTi), vykazovaly žádnou nebo nízkou úroveň titru viru, zbytek (asi 30 %) vykazoval střední nebo vysoký titr. Tento marker umožňuje selekci v raných generacích bez nutnosti polních testů na odolnost typu rezistence, ale není v těsné vazbě na gen rezistence a dochází k rekombinacím (Henry *et al.*, 2002). Z translokovaného fragmentu *Th. intermedium* odvodili Kong *et al.* (2006) SSR marker *[(AG)36]*, který spolehlivěji identifikuje *Bdv2* i *Bdv3* gen, ale nedokáže odlišit heterozygoty. V případě využití ve šlechtění je SSR marker složitější a dražší než SCAR (sequence characterized amplified region) markery. Stoutjesdijk *et al.* (2001) odvodil SCAR marker *BYAg1* z RAPD markeru zjištěného u linií L1, TAW46 a TC linií.

Materiál P29 a z něho odvozené linie specificky detekuje marker *pAW161*. Patří do skupiny telomerově specifických repetitivních sekvencí žita, ale také hybridizuje s 7EL telomerou a nemá homologní pšeničnou sekvenci (Crasta *et al.*, 2000).

Zhang *et al.* (2004) odvodil dva SCAR markery *SC-S04* a *SC-W37*, které se ukázaly pro svou spolehlivost a pracovní nenáročnost dobře použitelné ve šlechtitelském programu.

Prozatím nepojmenovaný gen odolnosti z linie Zhong 5 (*Bdvx* na chromozomu druhé skupiny) byl odvozen RAPD marker *OpAC12-850*, který umožnil identifikaci rezistentních ditelozomických adičních linií ZK, ZI, ZH, ale ne náchylných linií ZA, ZC a ZJ (tyto linie mohou být identifikovány markerem *OpAD19-980*. To naznačuje, že všechny faktory rezistence jsou nesené na jednom rameni chromozomu (Barloy *et al.*, 2003).

Ayala *et al.* (2002) identifikovala několik QTL markerujících různé vlastnosti spojené s tolerancí BYDV. Gen *Bdv1* je možné markerovat díky vazbě na geny *Lr34* a *Yr18*, ale síla této vazby je zpochybňována, stejně jako účinek tohoto genu. Bylo nalezeno QTL na stejném rameni chromozomu 7D, které ale postihuje pouze 7 % fenotypového projevu žloutnutí. Další QTL byla lokalizována na chromozomech 4AL, 6BS a 7A tolerantní odrůdy Frontana.

Z výsledků je patrné, že nebyl nalezen marker se silným efektem na toleranci k BYDV u pšenice. V kontrastu s těmito výsledky je situace odlišná ve šlechtění ječmene. Pro ječmen je funkční gen *Yd2*, který je spolehlivě detekovatelný pomocí markeru *Ylp* (Ford *et al.*, 1998).

## 4. MATERIÁL A METODY

Odolnost materiálů ozimé a jarní pšenice byla zjišťována dvěma způsoby. Jednak pomocí přímé umělé infekce v polních podmínkách, dále pomocí umělé infekce ve skleníku a využití semikvantitativní ELISA.

### 4.1. Polní pokusy

#### 4.1.1. Charakteristika pokusných lokalit

Polní pokusy byly vedené na lokalitách Šlechtitelské stanice fy Selgen ve Stupicích a Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni.

Lokalita ŠS Stupice se nachází ve Středočeském kraji, okres Praha – východ (50°5'N; 14°25'E), v řepařské výrobní oblasti, v nadmořské výšce 270-305 m. Půdním druhem je středně těžká jílovitohlinitá půda, půdním typem je hnědozem. Průměrná roční teplota je 8,3°C, průměrný roční úhrn srážek je 588 mm. Hladina spodní vody se nachází ve výšce 100-160 cm pod povrchem. Půdní reakce je slabě kyselá, v rozmezí 6,1-6,3. Obsah humusu je střední (2,3 %). Rozborem půdy (2006) byla zjištěna střední až velmi vysoká zásobenost živin (jednotlivé prvky v mg/kg; P 238, K 453, Mg 141, Ca 2656).

Lokalita VÚRV Praha-Ruzyně se nachází rovněž ve Středočeském kraji (50°6'N; 14°36'E), v řepařské výrobní oblasti, v nadmořské výšce 340 m. Půdním druhem je hlinitá půda, půdním typem je hnědozem. Průměrná roční teplota je 7,9°C, průměrný roční úhrn srážek je 472 mm. Půdní reakce je neutrální (pH 7,3). Obsah humusu je střední (3,5 %). Rozborem půdy (2004) byla zjištěna dobrá zásobenost (jednotlivé prvky v mg/kg; P 71,2, K 226, Mg 202 a Ca 5838).

#### 4.1.2. Design pokusu

Polní testování ozimé a jarní pšenice probíhalo v letech 2003-2008. V roce 2007 se nepodařilo napěstovat přenašeče a infekce se nepodařila. Polní testy byly zakládány ve dvou infikovaných opakováních a jedné neinfikované kontrole. Každé opakování představovalo cca 50 rostlin, ručně setých do dvou metr širokých řádků. Celkový pohled na fytoškolku z roku 2004 ukazuje **obrázek 6**. Později (v letech 2005-2008)



bylo na ŠS Stupice využito mechanizované setí pomocí secího stroje typu seedmatic a tento výsev byl jednořádkový o délce 1,35 m. Vzhledem k výskytu půdních fuzarií a horšímu vzcházení bylo osivo od roku 2005 mořeno (Vitavax, účinné látky: carboxin, thiram).

**Obrázek 6:** Celkový pohled na fytoškolku ozimé pšenice z roku 2004 na lokalitě Ruzyně, vlevo infekce, vpravo neinfikovaná varianta.



V průběhu vegetace byly porosty ošetřovány zejména insekticidními a herbicidními postřiky. Insekticidní clona zamezila druhotné infekci kontrolních rostlin v případě přirozeného výskytu přenašečů a zejména zamezila infekci virem zakrslosti pšenice, který byl v tomto období hojně přenášen křískem polním. Aplikace herbicidů byla velmi důležitá u těchto řídkých výsevů, rostliny po infekci navíc nedosahují běžné pokrývnosti půdy.

Ozimá pšenice byla infikována na podzim (2003, 2004, 2005), nebo brzy na jaře (2006, 2008) kvůli pomalému rozvoji chovů mšic na podzim. Rostliny jarní i ozimé pšenice byly infikovány ve fázi 3 listu až začátku odnožování (BBCH 13-21), v případě jarních infekcí ozimů do konce odnožování (BBCH 29). Infekce byla provedena pomocí vironosných mšic ze skleníkových chovů. K patě každé rostliny bylo umístěno 10 – 15 vironosných mšic. Mšice byly ponechány na rostlinách po dobu 4-7 dní inokulačního sání, potom byly zlikvidovány insekticidním přípravkem se systémovým účinkem

(Perfection, Sumithion). Účinnost infekce byla prověřena imunochemicky (ELISA) náhodným odběrem vzorků listů 14 dní po infekci.

Ve vegetaci ve fázi konec metání až začátek kvetení (BBCH 59-61) bylo provedeno symptomatické hodnocení dle stupnice Schaller & Qualset (1980) (**Tabulka 2**). Stupnice je v rozsahu 0 až 9, přičemž nulou je hodnocen rezistentní genotyp bez projevu symptomů infekce. Toto hodnocení zahrnuje vliv infekce na barevné změny listů, míru redukce odnožování a redukce délky rostlin. Tyto znaky byly porovnávány s neinfikovanou kontrolou.

**Tabulka 2:** Stupnice pro hodnocení symptomatické reakce (Schaller & Qualset, 1980).

<b>Body</b>	<b>Popis</b>
0	Nejsou viditelné symptomy (imunní rostliny, bezsymptomní hostitelé, neinfikované rostliny)
1	Stopy žloutnutí na konci malého počtu listů, u některých obilovin (odrůd) červené zbarvení převažuje nad žlutým, habitus rostliny je silný
2	Ohraničené žloutnutí (červenání), větší rozměry žloutnoucích ploch ve srovnání se stupněm 1, více listů je zbarvených
3	Mírné až slabé žloutnutí (červenání), nevýznamná zakrslost, může se projevovat vliv na odnožování
4	Mírné až silnější žloutnutí (červenání), rostliny jsou středně silné až silné
5	Silnější žloutnutí (červenání), rostliny jsou středně silné až slabé, občasné zakrslosti
6	Vysoký stupeň žloutnutí (červenání), malé klasy, patrné zakrslosti
7	Silné žloutnutí (červenání), malé klasy, střední zakrslost, slabý habitus rostliny
8	Téměř kompletně žluté (červené) listy, zakrslost, odnožování je zjevně redukováno (objevují se trsy - rozety), redukována velikost klasu, částečná sterilita
9	Výrazná zakrslost, kompletní žloutnutí (červenání), málo nebo žádné klasy, značná sterilita, předčasná zralost nebo zasychání rostliny

V době zralosti bylo sklizeno třicet klasů každého opakování a neinfikované kontroly. Byly zjištěny redukce hmotnosti zrna na klas (HZK) a hmotnosti tisíce zrn (HTZ). Tyto parametry byly využity pro výpočet indexu náchylnosti (SI), podle vzorce doporučeného Šípem *et al.* (1997) pro ozimou a jarní pšenici (**Tabulka 3**).

**Tabulka 3:** Rovnice pro výpočet SI odvozené Šípem *et al.* (1997), které byly použity pro výpočet.

Typ pšenice	Rovnice
Ozimá	$4,42 \text{ HZK} + 0,19(10\text{-SH})$
Jarní	$4,02 \text{ HZK} + 0,52(10\text{-SH})$

**SH** – symptomatické hodnocení

**HZK** – hmotnost zrna na klas

#### 4.1.3. Genotypy testované v polních pokusech

Každoročně bylo otestováno více jak sto materiálů ozimé pšenice a více jak šedesát materiálů jarní pšenice. Genotypy s mírnějším průběhem onemocnění a literaturou publikované zdroje odolnosti byly testovány opakovaně, některá silně náchylná novošlechtění pouze v jednoletých orientačních pokusech (výsledky nejsou zahrnuty). Materiály ozimé a jarní pšenice byly testovány ve čtyřech (ozimá pšenice) resp. ve třech (jarní pšenice) pokusech, které se lišily použitými genotypy, lokalitou a počtem pokusných let. V každém pokusu byly zahrnuty kontrolní genotypy, tolerantní odrůda ozimé pšenice Sparta, linie jarní pšenice WKL91-138 a náchylná odrůda ozimé pšenice Vlada a jarní pšenice Jara.

Pokus 1 zahrnoval kontrolní odrůdy dlouhodobě používané v testování na odolnost k BYDV. Testování probíhalo na lokalitě Ruzyně (RU) v letech 2003-2008 v případě ozimé pšenice a v letech 2002-2008 pro jarní pšenici. Celkem bylo hodnoceno 8 materiálů ozimé pšenice a 6 jarní pšenice. Genotypy testované v tomto pokusu jsou uvedeny v **tabulkách 4 a 5**.

**Tabulka 4:** Genotypy ozimé pšenice testované v pokusu 1.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	LOKALITA	POČET LET
MERITTO	CZE	RU	5
NIAGARA	CZE	RU	5
REXIA	SVK	RU	5
SG-S17-03	CZE	RU	5
SG-S19-03	CZE	RU	5
SPARTA	CZE	RU	5
SVITAVA	CZE	RU	5
VLADA	CZE	RU	5

**Tabulka 5:** Genotypy jarní pšenice testované v pokusu 1.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	LOKALITA	POČET LET
ANZA	MEX	RU	6
JARA	CZE	RU	6
LEGUAN	CZE	RU	6
MARINGÁ 1	BRA	RU	6
SG-S26-98	CZE	RU	6
WKL 91-138	SYR	RU	6

V druhém pokusu byly zahrnuty odrůdy pšenice registrované a pěstované v ČR. Odrůdy jarní a ozimé pšenice byly testovány ve třech letech (2004-2008) na lokalitě Ruzyně (RU) (**Tabulky 6 a 7**). Celkem bylo hodnoceno 55 odrůd ozimých a 19 odrůd jarních pšenic. Charakteristiky jednotlivých odrůd je možné získat v Přehledech odrůd obilnin (Jurečka & Beneš, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001 a 2002; Jurečka *et al.* 2003 a 2004, Horáková *et al.*, 2005 a 2006) vydávaných Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ) odboru osiv a sadby nebo na <http://www.ukzuz.cz>.

**Tabulka 6:** Odrůdy ozimé pšenice testované v pokusu 2.

<b>ODRŮDA</b>	<b>PŮVOD</b>	<b>LOKALITA</b>	<b>POČET LET</b>
AKTEUR	DEU	RU	3
ALIBABA	DEU	RU	3
ALKA	CZE	RU	3
APACHE	FRA	RU	3
ASTELA	SVK	RU	3
ATHLET	DEU	RU	3
BANQUET	CZE	RU	3
BATIS	DEU	RU	3
BILL	DEU	RU	3
BISCAY	GBR	RU	3
BOKA	CZE	RU	3
BREA	CZE	RU	3
BRUNETA	CZE	RU	3
CAPHORN	GBR	RU	3
CLARUS	DEU	RU	3
CLEVER	GBR	RU	3
COMPLET	DEU	RU	3
CONTRA	DEU	RU	3
CORSAIRE	FRA	RU	3
CUBUS	DEU	RU	3
DARWIN	GBR	RU	3
DRIFTER	DEU	RU	3
EBI	DEU	RU	3
ELPA	DEU	RU	3
ESTICA	NLD	RU	3
GLOBUS	DEU	RU	3
HEDVIKA	NLD	RU	3
ILIAS	NLD	RU	3
KAROLINUM	CZE	RU	3
LUDWIG	AUT	RU	3
MERITTO	CZE	RU	3
MLADKA	CZE	RU	3
NELA	CZE	RU	3
NIAGARA	CZE	RU	3
RADUZA	CZE	RU	3
RAPSODIE	GBR	RU	3
RECORD	DEU	RU	3
REXIA	SVK	RU	3
RHEIA	CZE	RU	3
RIALTO	GBR	RU	3
RITMO	NLD	RU	3
SASKIA	CZE	RU	3
SEMPER	NLD	RU	3
SEPSTRA	DEU	RU	3
SIMILA	CZE	RU	3
SOLARA	SVK	RU	3

<b>ODRŮDA</b>	<b>PŮVOD</b>	<b>LOKALITA</b>	<b>POČET LET</b>
SPARTA	CZE	RU	3
SULAMIT	CZE	RU	3
SULTAN	CZE	RU	3
SVITAVA	CZE	RU	3
ŠÁRKA	CZE	RU	3
TREND	DEU	RU	3
VLADA	CZE	RU	3
VLASTA	CZE	RU	3
WINDSOR	DEU	RU	3

**Tabulka 7:** Odrůdy jarní pšenice testované v pokusu 2.

<b>ODRŮDA</b>	<b>PŮVOD</b>	<b>LOKALITA</b>	<b>POČET LET</b>
ANZA	BRA	RU	3
ARANKA	CZE	RU	3
BRUNCKA	DEU	RU	3
CORSO	DEU	RU	3
GRANNY	CZE	RU	3
JARA	CZE	RU	3
KRONJET	SWE	RU	3
LEGUAN	CZE	RU	3
MUNK	DEU	RU	3
SANDRA	CZE	RU	3
SEPTIMA	CZE	RU	3
SIRAEI	CZE	RU	3
SWEDJETT	SWE	RU	3
TERCIE	CZE	RU	3
TRISO	DEU	RU	3
VÁNEK	CZE	RU	3
VINJET	SWE	RU	3
WKL 91-138	SYR	RU	3
ZUZANA	CZE	RU	3

Pokus 3 zahrnuje zdroje odolnosti, které byly hodnoceny ve dvou ročních (2006, 2008) na dvou stanovištích (Ruzyně – RU, Stupice - ST). Byly to jednak materiály získané ze zahraničí (USA, Polsko, Chile) s rezistencí prokázanou při přirozeném výskytu BYDV a současné odrůdy či pokročilé šlechtitelské materiály firmy Selgen, které vykazaly přijatelný stupeň rezistence v předcházejících testech na odolnost k BYDV. Dále byly zařazeny materiály vytvořené křížením translokovaných linií a kulturních pšenic (pšenice x *Thinopyrum intermedium*), které jsou nositeli genu rezistence *Bdv2* (kolekce CIMMYT- ALME2YDRES a linie TC14-290E a TC14-290J. Přítomnost těchto genů byla potvrzena na molekulární úrovni (Slámová, 2009). Celkem bylo hodnoceno 35 zdrojů rezistence ozimé pšenice a 41 zdrojů rezistence pšenice jarní. Přehled genotypů uvádí **tabulky 8 a 9**.

**Tabulka 8:** Potenciální zdroje odolnosti ozimé pšenice testované v pokusu 3.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	PEDIGREE	LOKALITA	POČET LET
PSR 3628	USA	Náhodný kříženec pšenice/pýr ("perennial" wheat)	ST/RU	2
SG-S17-03	CZE	SG-S411-91*CWVW93/58	ST/RU	2
SPARTA	CZE	ST-933-74*ST-39-76	ST/RU	2
MERITTO	CZE	(KONTRAST*U6192)*(U6192*THESEÉ)	ST/RU	2
SG-U3097	CZE	893316-a*SG-S159-94	ST/RU	2
SG-RUH26-01	CZE	PBIS-95-92*ŠÁRKA	ST/RU	2
McCORMIC	USA	VA92-51-39*AL870365	ST/RU	2
SG-S1517-05	CZE	SVITAVA*RALEIGH	ST/RU	2
REXIA	SVK	SO-5086*VIGINTA	ST/RU	2
ROANE	USA	(VA 71-54-147*"Coker 68-15")*IN65309C1-18-2-3-2	ST/RU	2
SG-S1039-05	CZE	SASKIA*CLEVER*CHARGER	ST/RU	2
SG-S1825-05	CZE	ST2496*DRIFTER	ST/RU	2
SG-S50-04	CZE	SAMANTA*BEAUFORD	ST/RU	2
SG-U9128	CZE	HEREWARD*6192 A	ST/RU	2
SVITAVA	CZE	ASTA*(HANA*VIGINTA)	ST/RU	2
SG-S1333-05	CZE	SEPSTRA*WINDSOR	ST/RU	2
SG-S25-03	CZE	SIRIA*KOIN	ST/RU	2
SG-U3078	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	2
TRIBUTE	USA	VA92-51-39*AL870365	ST/RU	2
NIAGARA	CZE	BU-LSA-89*ILONA	ST/RU	2
SISSON	USA	'Coker 9803' (PI 548845)*'Freedom'	ST/RU	2
AVALANCHE	USA	KS87H325*'Rio Blanco'	ST/RU	2
MARTONVASÁRI 8	HUN	BEZOSTAYA-1(M)*RANKA-III	ST/RU	2
CIT925080	MEX	130L1.11//F35.70/MO73/4/YMH/TOB/MCD/3/LIRA	ST/RU	2
CIT90004	MEX	TX69A509-2//BBY2/FOX/3/PLK70/LIRA/4/YMH/TOB/MC	ST/RU	2
VLADA	CZE	Mironovskaya808*BR-682	ST/RU	2

**Tabulka 9:** Potenciální zdroje odolnosti jarní pšenice testované v pokusu 3.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	PEDIGREE	LOKALITA	POČET LET
ANZA	MEX	LERMA-ROJO-64//NORIN-10/BREVOR/3*ANDES-ENANO	ST/RU	2
BÁRBARO-B	CHL	(Fama*Col)*(Pit*Trit.spelta)*LCM 30)	ST/RU	2
BINGO-BAER	CHL	Taita*Amigo	ST/RU	2
BOMBONA	POL	C 133-33* Ismena	ST/RU	2
CIM 0220	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0221	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0222	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0223	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0224	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0225	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0226	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0227	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0228	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0229	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0230	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0231	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0232	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0233	MEX	TC14/2*HTG//ESDA/LIRA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0234	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0235	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0236	MEX	TC14/2*HTG//DUCULA/3/PRINIA	ST/RU	2
CIM 0237	MEX	TC14/2*SPER/3/KAUZ*2/BOW//KAUZ/4/PRINIA	ST/RU	2
COSTERO-B	CHL	nezjištěn	ST/RU	2
JARA	CZE	PEKO*UH-400	ST/RU	2
KATODA	POL	TORKA*ZEBRA	ST/RU	2
LEGUAN	CZE	ST-324-84*ST-174-83	ST/RU	2
MARINGÁ 1	BRA	FRONTANA/KENYA 58//PONTA GROSSA	ST/RU	2
MVZ 1105-04	CZE	SG-S26-98*SG-S113-98	ST/RU	2
MVZ 1108-04	CZE	SG-S26-98*SG-S113-98	ST/RU	2
MVZ 974-04	CZE	SG-S1267-92*(SG-S1267-92*(SG-S1267-92*TC14 290E))	ST/RU	2
QUINO-BAER	CHL	CMH82.17/Kauz//CMH-83.30/4/37/CHL121//KAL//BB/37/Jup/Mus.selc.F2 Gorbea	ST/RU	2
SG-S26-98	CZE	SANDRA*ST1197-87	ST/RU	2
SG-S45-98	CZE	ST70-83*(ST70-83*REGINA)	ST/RU	2
SG-S604-96	CZE	ST70-83*(ST70-83*REGINA)	ST/RU	2
SG-S80-04	CZE	SAXANA*(ESTICA*SG-S8-93)	ST/RU	2
SG-S884-04	CZE	SG-S95-95*SG-S43-95	ST/RU	2
SOA217/02	POL	PALERMO*HELIA	ST/RU	2
TC-14 290E	AUS	Vulcan.cms // . L1 / Millewa /3/ Restorer R35733	ST/RU	2
TC-14 290J	AUS	Vulcan.cms // . L1 / Millewa /3/ Restorer R35733	ST/RU	2
WALUTA	POL	TORKA*ZEBRA	ST/RU	2
WKL 91-138	SYR	nezjištěn	ST/RU	2



Pokus 4 zahrnuje rovněž zdroje odolnosti, ovšem jen ozimých pšenic, testovaných v roce 2008 na dvou stanovištích (Ruzyně – RU, Stupice - ST). Jsou to zejména materiály původem z USA, které mají uvedenou v popisu USDA-ARS toleranci k BYDV a dva genotypy ozimého charakteru s translokací části chromozomu z *Th. intermedium* (P29 a P961341). Dále jsou zde zahrnuty linie fy Selgen, a.s., které pochází ze stejné kombinace křížení jako linie SG-U3097 a SG-U3078 testované v pokusu 3. Celkem bylo hodnoceno 35 zdrojů rezistence ozimé pšenice. Přehled genotypů uvádí **tabulka 10**.

Přehled jednotlivých pokusů, jejich cíl, počet pokusných členů a lokalit uvádí souhrnná **tabulka 11**.

**Tabulka 10:** Potenciální zdroje odolnosti ozimé pšenice testované v pokusu 4.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	PEDIGREE	LOKALITA	POČET LET
PSR 3628	USA	<i>Náhodný kříženec pšenice/pýr ("perennial" wheat)</i>	ST/RU	1
P 29	USA	'Abe'/Th. intermedium// Compton '3/ Arthur ' / Cadwell '4/ Cadwell	ST/RU	1
SPARTA	CZE	ST-933-74*ST-39-76	ST/RU	1
ELMO	USA	Benhur sib/6/Monou sib/5/T Trumbull/Agropyron elongatum/4/T Trumbull/Hope/Hussar/3/Fultz	ST/RU	1
SG-U3037A	CZE	893316-a*SG-S159-94	ST/RU	1
SG-U3037A-A	CZE	893316-a*SG-S159-94	ST/RU	1
SG-U3037D-A	CZE	893316-a*SG-S159-94	ST/RU	1
SG-U8045-1	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
SG-U8045-12	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
SG-U8045-5	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
SG-U8045-16	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
SG-U8045-8	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
SG-U3037D-B	CZE	893316-a*SG-S159-94	ST/RU	1
SG-U8045-6	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
STEELE	USA	'Parshall' (PI 613587)/5/Grandin' (PI 531005)/3/IAS20*4/H567.71//Amidon' (PI 527682)/4/Grandin*2/Glupro' (PI 592759)	ST/RU	1
SG-U8045-3	CZE	31810 A*3261 B	ST/RU	1
MAITRE	CHL	BT 158-E 39-05-06 ( <i>introdukce z francie</i> )	ST/RU	1
P 961341	USA	'Abe'/Th. intermedium// Compton '3/ Arthur ' / Cadwell '4/ Cadwell '5/ Oasis '3/ Clark '4/ Ning7840 // Clark/ Roazon '6/ Patterson	ST/RU	1
FW 88-PA-E9001	USA	<i>Bulk selection from BYDV-Root Rot-Early Seeded complex Field P.A. HAREC AES OSU</i>	ST/RU	1
FW 771 595-G306	USA	OR67109 / Froid // Pullman Sel. 101 / FW71002	ST/RU	1
FW 88-PA-010-7	USA	<i>Bulk selection from BYDV-Root Rot-Early Seeded complex Field P.A. HAREC AES OSU</i>	ST/RU	1
FW 753 44-105	USA	Yamhill / McDermid // T.spelta var. -Album /3/ Suwon 92 / Roedel /4/ Sel. 23 / Reibesel /3/ Nugaines / FW71001 // Reibesel	ST/RU	1
FW 771 595-G305	USA	OR67109 / Froid // Pullman Sel. 101 / FW71002	ST/RU	1
FW 82178-B5012	USA	Stephens // Pillan / Cerco	ST/RU	1
FW 88-PA-101-2	USA	<i>Bulk selection from BYDV-Root Rot-Early Seeded complex Field P.A. HAREC AES OSU</i>	ST/RU	1
ORION	USA	Olesen / Lewis // W-504 /3/ Blueboy II	ST/RU	1
93AIR-A3.3B.14	USA	<i>nezjištěn</i>	ST/RU	1
E-2-29-CAJ	CHL	<i>nezjištěn</i>	ST/RU	1
FW 741 037-006	USA	OR65116 / McDermid // Cama /3/ FW72001 / ISRN-1342	ST/RU	1
FW 88-PA-004	USA	<i>Bulk selection from BYDV-Root Rot-Early Seeded complex Field P.A. HAREC AES OSU</i>	ST/RU	1
FW 82202-B5023	USA	1523 / Druchamp // Reibesel /3/ Sambo / Moldova	ST/RU	1
HANCOCK	USA	Vogel /5/ Anderson // Purdue dwarf /3/ S228	ST/RU	1
VLADA	CZE	Mironovskaya808*BR-682	ST/RU	1
FW 771 697-G19	USA	Cama / Jade Jubilee-Gabu // FW-127	ST/RU	1
OR FW-B0004	USA	Stephens *2/ ID Snowmold Sel . 4	ST/RU	1

**Tabulka 11:** Přehled jednotlivých polních pokusů s umělou infekcí BYDV-PAV vedených v rámci této disertační práce.

OZNAČENÍ	CÍL	TYP	POČET ČLENŮ	POČET LOKALIT	POČET LET
<b>Pokus 1</b>	Ověření odolnosti již identifikovaných zdrojů	OP <sup>*</sup>	8	1	5
		JP <sup>**</sup>	6	1	5
<b>Pokus 2</b>	Zjištění odolnosti odrůd pšenice pěstovaných v ČR	OP	55	1	3
		JP	19	1	3
<b>Pokus 3</b>	Testování odolnosti nových zdrojů ze zahraničí a nšl fy Selgen, a.s.	OP	35	2	2
		JP	41	2	2
<b>Pokus 4</b>	Testování odolnosti dalších zdrojů získaných z USA – genobanka USDA-ARS v roce 2007	OP	35	2	1

\*Ozimá pšenice

\*\*Jarní pšenice

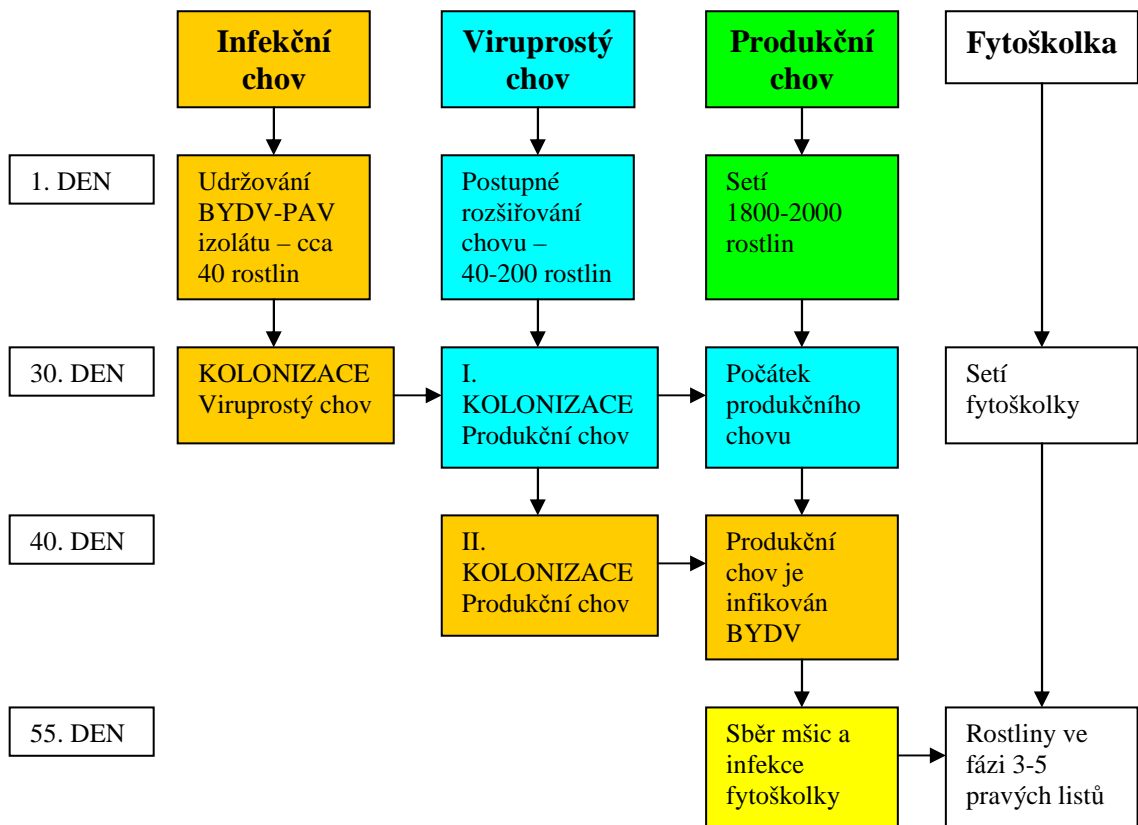
## 4.2. Chovy infekčních mšic

Skleníkové chovy mšice střemchové (*Rhopalosiphum padi*) byly vedeny dle postupu uváděného Comeau *et al.* (1983) v modifikaci pro vybavení dostupné ve VÚRV Ruzyně vypracovanou Vacke (ústní sdělení). Chov byl mimo období infekcí udržován na omezeném počtu rostlin – *viruprostý chov mšic*. Podobně i udržovaný izolát viru BYDV-PAV – *infekční chov mšic*. V období asi dvou měsíců před odhadovaným termínem setí fytoškolky byly tyto chovy postupně rozšiřovány, aby byl zajištěn dostatek mšic pro kolonizaci *produkčního chovu mšic*. Produkční chov byl zakládán v období asi 30 dní před plánovaným výsevem fytoškolek v rozsahu asi 1800-2000 rostlin. Chovy byly vedeny na rostlinách ovsa setého nahého, později (2007-2008) na ječmeni jarním, který se lépe osvědčil pro naše podmínky. V období infekcí v letech 2005-2007 bylo velmi obtížné udržet chovy izolované od napadení predátory a parazitoidy (*Coccinellidae*, *Syrphidae*, *Aphidiinae*) a nestačila izolace skleníkových kójí. Bylo nutné přistoupit k individuální izolaci jednotlivých květníků, v tomto případě bylo vhodnější použít rostliny ječmene, které jsou méně mohutné. V době setí fytoškolky byla prováděna první kolonizace produkčního chovu viruprostými mšicemi. O 7 - 14 dní později byl chov kolonizován vironosnými mšicemi (**Obrázek 7**).

V průběhu chovu mšic byly udržovány optimální podmínky pro rozvoj populace (teplota v rozmezí 14-18°C, poměr světla a tmy 16:8). Rostliny byly vedeny v půdě s dostatečnou zásobou živin, pro prodloužení životnosti byly roseny vodním rozprašovačem, aby se zabránilo vadnutí způsobenému ucpání průduchů „medovicí“ (produkt metabolismu mšic). Vlivem vysoké vzdušné vlhkosti, obvyklé pro pěstování ve skleníku, bylo nutné rostliny ošetřovat proti padlí fungicidy (Atlas SC 50, účinná látka: quinoxifen 500).

Za optimálních podmínek produkční chov mšic dosáhl populačního vrcholu ve fázi 3-5 pravých listů rostlin ve fytoškolce (21. - 25. den od první kolonizace). Kapacita chovu postačovala na infekci 130-200 genotypů v daném rozsahu, počtu rostlin a opakování. Blíže optimu byly vedeny jarní chovy mšic, než podzimní, kde působily negativní faktory kratšího dne a delší působení umělého osvětlení. Podzimní chovy bylo nutné před vlastní infekcí fytoškolek adaptovat na nižší teploty, kvůli zamezení teplotního šoku, plynoucího z rozdílných teplot ve skleníku a venkovním prostředí na podzim v druhé polovině října.

**Obrázek 7:** Schéma vedení chovu mšic pro umělou infekci BYDV.



### **4.3. Skleníkové testy - semikvantitativní ELISA**

Účinek genu rezistence *Bdv2* byl ověřen pomocí semikvantitativní ELISA, s využitím modifikovaného metodického postupu podrobně popsaného v práci Šípa *et al.* (2004). Čtyři rostliny v jednotné růstové fázi třech pravých listů byly infikovány BYDV-PAV pomocí vironosných mšic ze skleníkového chovu. K patě každé rostliny bylo umístěno asi 10 mšic, které byly po 48 h inokulačního sání usmrceny insekticidním přípravkem. Jedenáct dní po infekci byl odebrán 0,5 až 1,0 g vzorek listů rostliny, který byl testován imunochemicky (ELISA) na přítomnost BYDV-PAV.

Vzorky byly rozdrceny s 5 ml promývacího pufru v PE pytlíku pomocí ložiskového drtiče. Další kroky byly provedeny dle protokolu použitého ELISA kitu (BYDV-PAV 480 reagent set - Bio-Rad). V principu se při této metodě používá vazby antigenu (konkrétně látky charakterizující virus) a protilátky, která je pevně navázána na stěny jamek testovací destičky. Množství těchto vazeb je úměrné koncentraci antigenu, a tedy i množství viru v listu. Úměrná množství částic viru je i aktivita enzymu, která mění absorbanci roztoku. Byla stanovena absorbance při vlnové délce 405 nm (Tecan, Sunrise-Basic), na základě těchto hodnot bylo porovnáváno relativní množství viru ve vzorcích z infikovaných rostlin. Bylo hodnoceno devět genotypů nesoucích *Bdv2* gen (TC14-290E, TC14-290J, CIMMYT 227, CIMMYT 231, CIMMYT 234, CIMMYT 229, CIMMYT 225, CIMMYT 228, CIMMYT 233) a 7 bez genu (Jara, Anza, Leguan, SG-S26-98, SG-S45-98, SG-S604-96, WKL91-138). Každý genotyp byl hodnocen v šesti opakováních.

### **4.4. Křížení zdrojů odolnosti k BYDV a integrace MAS do šlechtitelského programu ŠS Stupice**

Součástí studia byla rovněž analýza kříženců s vybranými zdroji rezistence WKL91-138 a TC14-290E (nositel genu *Bdv2*). Jednalo se o tři křížence jarní pšenice: Jara/WKL91-138, Leguan/WKL91-138 a Leguan/TC14-290E. Potomstva náhodně vybraných rostlin generace F2 (u kříženců s linií WKL91-138) a nositelů genu *Bdv2* (u křížence s TC14-290E) byla v generaci F3 testována na odolnost k BYDV-PAV v polních infekčních testech podle výše popsané metodiky. Celkem bylo otestováno 78 potomstev kombinace Jara/WKL91-138, 68 potomstev kombinace Leguan/WKL91-138

a 50 potomstev kombinace Leguan/TC14-290E. V případě křížení s donorem genu rezistence bylo při výběru rostlin využito dominantních DNA markerů BYAg1 (Stoutjesdijk *et al.*, 2001) a SCgp1 (Zhang *et al.*, 2004). Bylo provedeno symptomatické hodnocení (SH) a provedena statistická analýza frekvence četností jednotlivých stupňů odolnosti v porovnání s rodiči.

Byly kříženy i další genotypy nesoucí gen rezistence *Bdv2* s odrůdami a šlechtitelskými liniemi. První generace po křížení byla přemnožena běžným způsobem, část kombinací byla pro urychlení šlechtitelského procesu poslána na přemnožení v zimní generaci na jižní polokouli. V první štěpící generaci F2 bylo v době sloupkování označeno 15 až 30 rostlin každé kombinace návěskami a odebrány terčíky listů pro analýzu DNA na přítomnost markerů BYAg1 (Stoutjesdijk *et al.*, 2001) a SCgp1 (Zhang *et al.*, 2004).

Označené rostliny byly sklizeny individuálně. Část pozitivně testovaných rostlin byla přímo využita ke zpětnému křížení s kulturním genotypem. Potomstva rostlin byla vyseta samostatně do dvouřádkových selekčních školek, kde byl znovu proveden výběr a označení rostlin, na kterých byla provedena analýza DNA. Opakovaná selekce pomocí markerů byla nutná z důvodu jejich dominantního založení a nemožnosti odlišit heterozygáty. Kodominantní marker gwm37 (Ayala *et al.*, 2001) nebyl v době selekce optimalizován a vykazoval nespecifické reakce (Slámová, 2009). Potomstva rostlin byla též hodnocena na další hospodářsky významné znaky (odolnost k houbovým chorobám, ranost, výška).

Do šlechtitelského postupu byly zařazeny i genotypy s odolností bez známého genetického založení, které byly dále selektovány podle běžných šlechtitelských kritérií. Přehled kombinací křížených s cílem zlepšení odolnosti k BYDV uvádí **tabulky 12 a 13**.

**Tabulka 12:** Přehled kombinací křížených s donory genů *Bdv2* nebo *Bdv3* a selektovaných pomocí markerů těchto genů

Číslo křížení	Rok křížení	Kombinace	Geny (Slámová, 2009)	Šlechtitelský program pšenice
280	2007	SG-S504-05 x P961341	<i>Bdv2, Bdv3</i>	ozimé
404	2007	SG-S17-03 x P961341	<i>Bdv2, Bdv3</i>	ozimé
VÚRV	2007	TC5 x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
VÚRV	2007	TC5 x SEANCE	<i>Bdv2</i>	jarní
527	2006	(SG-S1267-92*Tc14290E - rostlina1) x SG-S6-03	<i>Bdv2</i>	jarní
527	2006	(SG-S1267-92*Tc14290E - rostlina3) x SG-S6-03	<i>Bdv2</i>	jarní
527	2006	(SG-S1267-92*Tc14290E - rostlina4) x SG-S6-03	<i>Bdv2</i>	jarní
527	2006	(SG-S1267-92*Tc14290E - rostlina5) x SG-S6-03	<i>Bdv2</i>	jarní
527	2006	(SG-S1267-92*Tc14290E - rostlina8) x SG-S6-03	<i>Bdv2</i>	jarní
528	2006	(LEGUAN*Tc14290E - rostlina1) x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
528	2006	(LEGUAN*Tc14290E - rostlina5) x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
528	2006	(LEGUAN*Tc14290E - rostlina6) x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
528	2006	(LEGUAN*Tc14290E - rostlina7) x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
528	2006	(LEGUAN*Tc14290E - rostlina8) x LEGUAN	<i>Bdv2, Bdv2</i>	jarní
458	2006	(SIRIA/2 x Tc14290E - rostlina6) x SG-S227-03	<i>Bdv2</i>	jarní
458	2006	(SIRIA/2 x Tc14290E - rostlina9) x SG-S227-03	<i>Bdv2</i>	jarní
235	1998	(Siria x Tc14290E) x Estica	<i>Bdv2</i>	jarní
241	1998	(Siria x Tc14290E) x Siria	<i>Bdv2</i>	jarní
356	1997	SG-S1267-92 x Tc14290E (bezosinatá)	<i>Bdv2</i>	jarní
357	1997	SG-S1267-92 x Tc14290E (osinatá)	<i>Bdv2</i>	jarní
163	1997	Leguan x Tc14290E (vouska)	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
164	1997	Leguan x Tc14290E (hladka)	<i>Bdv2, Bdv1</i>	jarní
332	1998	SG-S1267-92/2 x Tc14290E	<i>Bdv2</i>	jarní



**Tabulka 13:** Přehled kombinací křížených s tolerantními genotypy

Číslo křížení	Rok křížení	Kombinace	Geny (Slámová, 2009)	Šlechtitelský program pšenice
75	2007	SG-S1038-04 * TRIBUTE x SG-S1029-05		ozimé
76	2007	SG-S1038-04 * TRIBUTE x ST315-07		ozimé
18	2007	SG-S1029-05 * McCORMIC x SG-S1029-05		ozimé
146	2007	SG-S1029-05*McCORMICK*SG-S17-03		ozimé
457	2007	SG-S874-03 * McCORMIC x SG-S1018-05		jarní
199	2007	QG 22.24 x SG-S17-02		jarní
200	2007	QG 22.24 x LEGUAN	<i>Bdv1</i>	jarní
201	2007	QG 22.24 x JARA	<i>Bdv1</i>	jarní
202	2007	QG 2.1 x SG-S17-02		jarní
203	2007	QG 100 x SG-S17-02		jarní
204	2007	QG 100 x JARA	<i>Bdv1</i>	jarní
205	2007	QG 100 x LEGUAN	<i>Bdv1</i>	jarní
206	2007	QG 4.37 x JARA	<i>Bdv1</i>	jarní
207	2007	QG 4.37 x LEGUAN	<i>Bdv1</i>	jarní
208	2007	QG 4.37 x SG-S17-02		jarní
209	2007	KIVU-85 x SG-S17-02		jarní
210	2007	KIVU-85 x LEGUAN	<i>Bdv1</i>	jarní
211	2007	KIVU-85 x JARA		jarní
190	2006	SG-S227-03 x TRIBUTE		ozimé
253	2006	SG-S1038-04 x TRIBUTE		ozimé
425	2006	FLORET x SG-S17-03		ozimé
428	2006	SG-S1029-05 x SG-U9128		ozimé
429	2006	SG-S1029-05 x McCORMIC		ozimé
526	2006	SG-S874-03 x McCORMIC		jarní
72	2005	(SG-S968-02*NC99BGTTAG)*McCORMIC		ozimé
153	2005	(SG-S17-03*ST02/2039)*NIC02-4600		ozimé
162	2005	(SG-S17-03*ST02/2039)*(NIC01-3811A*ST02/2039)		ozimé
192	2005	SG-S71-03*SG-S17-03		ozimé
233	2005	SG-S1165-03*SG-S17-03		ozimé
375	2005	HERMANN*SG-S17-03		ozimé
397	2005	ST02/1026*SG-S17-03		ozimé
428	2005	ST0104*ROANE		ozimé
488	2005	(CM82036*SG-S1068-02)*SG-S874-03		jarní
614	2005	SG-S874-03*SG-S17-04		jarní
615	2005	SG-S874-03*ST211.12576		jarní
615	2005	SG-S874-03*CIM202-04	<i>Bdv1</i>	jarní

## 5. VÝSLEDKY A DISKUZE

### *5.1. Základní statistické ukazatele jednotlivých pokusů s umělou infekcí BYDV-PAV*

Symptomatické hodnocení (SH) postihovalo zejména redukcí v délce stébla, v míře odnožování a barevné změny infikovaných rostlin. Na základě zjišťování redukce hmotnosti zrna na klas (HZK-R) a hmotnosti tisíce zrn (HTZ-R) byl posuzován vliv infekce na tento výnosový znak ve vztahu k neinfikované kontrole. Byl vypočten parametr indexu náchylnosti (SI), který využívá parametr hmotnosti zrna na klas infekční varianty (HZK-I) a symptomatického hodnocení (SH).

Vliv genotypu a prostředí na proměnlivost znaků SH, HZK-R, HTZ-R a SI v pokusech s ozimou a jarní pšenicí ukazují **tabulky 14 a 15**. Z výsledků analýz rozptylu je patrný významný vliv genotypu, prostředí i interakce genotypů s prostředím na oba znaky, a to jak u ozimé, tak u jarní pšenice. Analýza podílu jednotlivých zdrojů proměnlivosti na celkové proměnlivosti v pokusech však ukázala vysoce převažující podíl ročníku u ozimé pšenice, zatímco u jarní pšenice pro většinu znaků výrazně převažoval nad ročníkem i interakční složkou vliv genotypu. V pokusech ozimé pšenice 1 a 2 (kontrolní odrůdy, odrůdy běžně pěstované v ČR) převažoval výrazně vliv ročníku ve všech hodnocených znacích nad vlivem genotypu. V pokusu 3 (zdroje odolnosti k BYDV) je vliv ročníku nižší, což je částečně zdůvodnitelné přítomností odolnějších genotypů, které se projevují v jednotlivých letech stabilněji, ale pravděpodobně se projevil i velký vliv podobnosti ročníků 2006 a 2008, ve kterých byly genotypy testovány. Významným zdrojem variability byla též interakce ročníku a genotypu, která byla u ozimých pšenic na úrovni odrůdového vlivu. Z uvedené statistické analýzy vyplývá obtížná interpretace výsledků pokusů 1 a 2 u ozimé pšenice. V menší míře se projevil vliv lokality (pokusy 3 a 4), který měl nižší podíl na celkové variabilitě a pro některé znaky byl statisticky neprůkazný (HZK-R a HTZ-R). Významně se však u ozimé pšenice uplatnila interakce lokality a ročníku, v menší míře u jarní pšenice.

Největší podíl variability genotypu byl zaznamenán pro symptomatické hodnocení (SH), a to jak u ozimé, tak jarní pšenice. U znaků hodnotících relativní redukcí hmotnosti zrna na klas a hmotnosti tisíce zrn (HZK-R a HTZ-R) byl podíl genotypu na celkové variabilitě nižší, u pokusu 1 ozimé pšenice v parametru HZK-R

neprůkazný. Přesto je parametr HZK-R vhodnější pro posuzování odolnosti k BYDV, než parametr HTZ-R, který vykazoval nižší podíl variability genotypu. Relativně vysoký podíl genetické variability byl zaznamenán u parametru SI. Pro výpočet tohoto parametru se ale používá absolutní hodnota HZK infekční varianty, která v sobě zahrnuje i přirozenou variabilitu genotypu bez vlivu infekce BYDV. Tento fakt do určité míry znevýhodňuje genotypy s menším podílem produktivity klasu na celkovém výnosu. Tento způsob výpočtu je však zatížen menší chybou, v porovnáním s výpočtem redukce (v případě redukce je nutné odebrat vzorek kontrolní neinfikované varianty).

Hodnoty parametru SI jsou zatíženy touto chybou, která znesnadňuje jeho použití v praxi. Pro hodnocení genotypů v jednotlivých pokusech bylo využito zejména symptomatického hodnocení a redukce HZK a HTZ. Genotypy jsou v tabulkách seřazeny dle výsledku symptomatického hodnocení a je uvedena příslušnost do jednotlivých homologních skupin.

**Tabulka 14:** Hlavní zdroje variability parametrů symptomatické hodnocení (SH), redukce hmotnosti zrna na klas (HZK-R), redukce hmotnosti tisíce zrn (HTZ-R) a index náchylnosti (SI) pro jednotlivé pokusy ozimé pšenice (Pokus 1 – kontrolní odrůdy, Pokus 2 – odrůdy, Pokus 3 – zdroje odolnosti (2 roky), Pokus 4 – zdroje odolnosti (1 rok)).

Zdroj variability	POKUS 1			POKUS 2			POKUS 3			POKUS 4		
	df	F value	%var	df	F value	%var	df	F value	%var	df	F value	%var
<b>SH</b>												
Lokalita (L)							1	8,84 *	1,36	1	99,3 *	11,5
Ročník (Y)	3	38,6 *	39,2	2	268 *	33,6	1	115 *	17,8			
L x Y							1	51,8 *	7,99			
Genotyp (G)	7	10,8 *	25,5	55	7,55 *	26,1	28	9,13 *	39,4	41	10,4 *	49,1
L x G							28	0,91 ns	3,95	41	1,77 *	8,41
Y x G	21	3,9 *	27,7	110	4,31 *	29,8	28	1,81 *	7,83			
Residual	24		8,11	168		10,6	87		13,4	228		26,4
<b>HZK-R</b>												
Lokalita (L)							1	1,46 ns	0,28	1	0,52 ns	0,14
Ročník (Y)	3	16,8 *	38,6	2	232 *	42,9	1	0,01 ns	0			
L x Y							1	180 *	34,3			
Genotyp (G)	7	2,38 ns	12,8	55	4,05 *	20,6	28	4,24 *	22,7	41	2,52 *	28
L x G							28	0,84 ns	4,48	41	1,19 ns	13,2
Y x G	21	1,67 ns	26,9	110	2,05 *	20,9	28	1,47 ns	7,85			
Residual	24		18,4	168		15,5	87		16,6	213		57,6
<b>HTZ-R</b>												
Lokalita (L)							1	2,42 ns	0,36	1	10 *	2,97
Ročník (Y)	3	27,2 *	45,4	2	438 *	56,5	1	39,6 *	5,88			
L x Y							1	153 *	22,7			
Genotyp (G)	7	3,24 *	12,6	55	3,27 *	11,6	28	4,08 *	17	41	1,34 ns	16,3
L x G							28	2,44 *	10,1	41	1,47 *	17,8
Y x G	21	2,42 *	28,3	110	2,98 *	21,1	28	1,69 *	7,03			
Residual	24		13,4	168		10,8	87		12,9	213		63,1
<b>SI</b>												
Lokalita (L)							1	65,1 *	8	1	0,87 ns	0,77
Ročník (Y)	3	67,9 *	68,1	2	768 *	69,9	1	6,64 *	0,82			
L x Y							1	189 *	23,2			
Genotyp (G)	7	5,1 *	11,9	55	4,94 *	12,4	28	8,66 *	29,8	41	1,05 ns	30,5
L x G							28	1,36 ns	4,68	41	0,83 ns	24
Y x G	21	1,4 ns	9,84	110	2,03 *	10,1	28	2,6 *	8,95			
Residual	24		8,02	168		7,64	87		14,1	213		30,9

**Tabulka 15:** Hlavní zdroje variability parametrů symptomatické hodnocení (SH), redukce hmotnosti zrna na klas (HZK-R), redukce hmotnosti tisíce zrn (HTZ-R) a index náchylnosti (SI) pro jednotlivé pokusy jarní pšenice (Pokus 1 – kontrolní odrůdy, Pokus 2 – odrůdy, Pokus 3 – zdroje odolnosti (2 roky)).

Zdroj variability	POKUS 1			POKUS 2			POKUS 3		
	df	F value	%var	df	F value	%var	df	F value	%var
<b>SH</b>									
Lokalita (L)							1	197	* 18,9
Ročník (Y)	5	13,1	* 6,76	2	31,6	* 10,9	1	46,2	* 4,43
L x Y							1	0,26	ns 0,03
Genotyp (G)	5	136	* 70,4	13	30,3	* 68,1	22	17,7	* 37,4
L x G							22	6,54	* 13,8
Y x G	25	7,39	* 19,1	26	3,04	* 13,7	22	4,59	* 9,7
Residual	36		3,72	42		7,26	92		8,83
<b>HZK-R</b>									
Lokalita (L)							1	0,81	ns 0,17
Ročník (Y)	5	11,9	* 18,8	2	30,3	* 15,7	1	45,4	* 9,48
L x Y							1	0,32	ns 0,07
Genotyp (G)	5	15	* 23,6	13	13,3	* 44,6	22	5,14	* 23,7
L x G							22	2,51	* 11,6
Y x G	25	5,87	* 46,3	26	4,28	* 28,8	22	5,95	* 27,4
Residual	36		11,4	42		10,9	92		19,2
<b>HTZ-R</b>									
Lokalita (L)							1	2,11	ns 0,26
Ročník (Y)	5	15,4	* 19,4	2	108	* 20,3	1	259	* 31,6
L x Y							1	23,5	* 2,87
Genotyp (G)	5	11,9	* 15,3	13	31,5	* 38,3	22	5,2	* 14
L x G							22	4,35	* 11,7
Y x G	25	8,95	* 56,5	26	15,5	* 37,6	22	6,29	* 16,9
Residual	36		9,09	42		3,93	92		11,2
<b>SI</b>									
Lokalita (L)							1	33,6	* 2,33
Ročník (Y)	5	9,31	* 8,68	2	0,37	ns 0,17	1	12,5	* 0,86
L x Y							1	238	* 16,5
Genotyp (G)	5	68,1	* 63,5	13	23,8	* 68,4	22	18,7	* 51,8
L x G							22	3,07	* 8,51
Y x G	25	4,54	* 21,2	26	3,86	* 22,2	22	2,12	* 5,89
Residual	36		6,71	42		9,29	92		14,1

## 5.2. Reakce kontrolních odrůd na infekci BYDV-PAV

Kontrolní odrůdy jarní pšenice byly testovány v letech 2002-2008 (7 let), testy v roce 2007 nebylo možné infikovat kvůli špatnému rozvoji chovu mšic. Intenzita symptomatické reakce (SH) sice mezi lety kolísala, ale rozdíly v hodnocení nebyly vyhodnoceny jako statisticky průkazné ( $P < 0,05$ ; **tabulka 16**). Hodnoty redukce hmotnosti zrna na klas (HZK-R) a hmotnosti tisíce zrn (HTZ-R) měly průkazné rozdíly mezi roky. Jako nejmírnější v redukcii těchto parametrů byl vyhodnocen rok 2008. Nejsilnější redukce HZK byla zaznamenána v roce 2003, který měl statisticky průkazně vyšší hodnoty než v rok 2008. Redukce HTZ byla v roce 2006 hodnocena jako nejvyšší, průkazně v porovnání s rokem 2008. Rozdílné výsledky mezi roky 2003 a 2008 jsou pravděpodobně způsobeny výrazně sušším a teplejším průběhem počasí ve vegetaci, zejména v březnu ( $+0,7^{\circ}\text{C}$ ,  $-25,2$  mm), dubnu ( $+1,1^{\circ}\text{C}$ ,  $-26,2$  mm) a červnu ( $+1,6^{\circ}\text{C}$ ,  $-14,6$  mm) (zdroj dat: meteorologická stanice VÚRV, [www.vurv.cz](http://www.vurv.cz)).

**Tabulka 16:** Průměrné hodnoty sledovaných parametrů SH (symptomatické hodnocení; 0-9; 0 = bez symptomů), HZK-R (redukce hmotnosti zrna na klas, %), HTZ-R (redukce hmotnosti tisíce zrn, %) a zařazení do homologních skupin (HS,  $P < 0,05$ ) pro pokus 1 na jarní pšenici.

ROK	SH	HS-95%	HZK-R	HS-95%	HTZ-R	HS-95%
2002	3,5	a	33	ab	3	ab
2003	4,0	a	46	b	8	ab
2004	4,4	a	40	ab	13	ab
2005	3,4	a	36	ab	6	ab
2006	4,7	a	40	ab	17	b
2008	4,6	a	26	a	0	a

Kontrolní odrůdy ozimé pšenice byly testovány v letech 2003-2008. V roce 2003 došlo k omezení pokusu vlivem druhotného napadení virem zakrslosti pšenice (WDV), který byl umocněn následným suchým obdobím ve vegetaci. Nebude proto započítán do uváděných výsledků. V letech 2005 a 2008 byly projevy symptomatické reakce (SH) statisticky průkazně nižší, než v letech 2004 a 2006 (**tabulka 17**). Symptomatická reakce ale neodpovídala následně stanoveným redukcím HZK a HTZ. Ročník 2006 byl hodnocen s mírnými projevy infekce, statisticky průkazně proti roku 2005, 2004 a 2008 v parametru redukce HZK a průkazně proti roku 2004 a 2005 v parametru redukce HTZ. Redukce HTZ byla v roce 2008 mírnější.

**Tabulka 17:** Průměrné hodnoty sledovaných parametrů SH (symptomatické hodnocení; 0-9; 0 = bez symptomů), HZK-R (redukce hmotnosti zrna na klas, %), HTZ-R (redukce hmotnosti tisíce zrn, %) a zařazení do homologních skupin (HS,  $P < 0,05$ ) pro pokus 1 na ozimé pšenici

ROK	SH	HS-95%	HZK-R	HS-95%	HTZ-R	HS-95%
2004	5,16	b	48	b	26,4	b
2005	3,50	a	49	b	24,7	b
2006	5,06	b	27	a	9,1	a
2008	3,50	a	49	b	11,4	a

Infekce v letech 2004 a 2005 byla prováděna na podzim, ve fázi rozvoje pravých listů. V letech 2006 a 2008 byly podmínky pro podzimní infekci méně vhodné a infekce proběhla v době odnožování časně na jaře. **Tabulka 18** porovnává symptomatické hodnocení a redukce HZK a HTZ mezi ročníky s podzimní a jarní infekcí BYDV. Nejedná se o klasický párový test, a proto z uvedených výsledků nelze odvozovat jednoznačné závěry. Je však zřejmé, že i pozdější infekce ozimů v době do konce odnožování může způsobovat srovnatelný rozvoj symptomů. Pozdější termín infekce se projevil jen mírně u parametru redukce HZK, výrazněji však pro parametr redukce HTZ. D'Arcy *et al.* (1995) uvádí rozdílné reakce pšenice na infekci BYDV, protože virus působí v celé rostlině a některé genotypy reagují zvýšením počtu odnoží, zatímco jiné je redukuje. Dokud není ukončeno odnožování a diferenciací vzrostných vrcholů je reakce genotypů na infekci stále významná. Keith *et al.* (2000) uvádí shodné hodnoty redukce výnosu (30%), absolutní hodnoty výnosu infekční varianty a projevu symptomů BYDV při podzimní a časně jarní infekci. Pozdní infekce se již projevuje mírnější redukcí výnosu (8,5%) a projevy symptomů. Shodně Vacke *et al.* (1991) uvádí jen mírnou reakci na infekci BYDV v pozdějších vývojových fázích (sloupkování), která se projevuje jen mírnými symptomy u náchylných genotypů.

**Tabulka 18:** Průměrné hodnoty sledovaných parametrů SH (symptomatické hodnocení; 0-9; 0 = bez symptomů), HZK-R (redukce hmotnosti zrna na klas, %), HTZ-R (redukce hmotnosti tisíce zrn, %) a zařazení do homologních skupin (HS, P<0,05) pro pokus 1 na ozimé pšenici – porovnání jarní a podzimní infekce

Termín infekce	SH		HZK-R		HTZ-R	
	průměr	HS-95%	průměr	HS-95%	průměr	HS-95%
JARO	4,1	a	36	a	9	a
PODZIM	4,5	a	49	b	26	b

Jednotlivé genotypy ozimé pšenice v pokusu reagovaly velmi podobně na infekci BYDV (**tabulka 19**). V symptomatickém hodnocení (SH) byly odrůdy Sparta, Svitava, Meritto a linie SG-S17-03 hodnoceny jako statisticky průkazně odolnější než odrůdy Niagara a náchylná kontrola Vlada. Index náchylnosti SI vyhodnocuje odrůdu Meritto jako nejodolnější, protože vykazovala dobré SH a vysokou hodnotu HZK infekční varianty. Pokud ovšem porovnáme redukce HZK a HTZ, je redukce HZK pro odrůdu Meritto na úrovni náchylné kontroly Vlada. Dlouhodobě používaná mírně odolná kontrolní odrůda Sparta měla ve sledovaných letech rovněž poměrně silnou redukci HZK (46%) i HTZ (23%), v porovnání s výsledky Šípa *et al.* (1995), v nichž redukce HZK Sparty byla na dobré úrovni (30%). To, že příznivé symptomatické hodnocení se vždy neprojeví v nízké redukci výnosových prvků, poukazuje na fakt, že pouze symptomatické hodnocení samo o sobě nepostačuje k posouzení odolnosti genotypů u ozimé pšenice. Nutnost posuzovat více faktorů než pouze symptomatické hodnocení zmiňují Comeau *et al.*, 2002 a Šíp *et al.* 1997. Kombinace dobré symptomatické reakce a nízké redukci HZK a HTZ byla zaznamenána u odrůd Svitava, REXIA a linie SG-S17-03.



**Tabulka 19:** Reakce ozimé pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů); HS-95% (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní).

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	SH	HS-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI
SG-S17-03	CZE	3,8	a	37	1,11	14	30,61	3,90
SPARTA	CZE	3,9	a	46	0,94	23	31,02	4,67
SVITAVA	CZE	3,9	a	36	1,12	14	35,07	3,88
MERITTO	CZE	3,9	a	49	1,17	25	32,70	3,68
REXIA	SVK	4,1	ab	36	1,13	15	36,45	3,87
SG-S19-03	CZE	4,1	ab	51	0,91	18	31,59	4,84
NIAGARA	CZE	5,0	bc	42	0,92	22	33,17	4,97
VLADA	CZE	5,8	c	49	0,68	13	30,83	6,22
<b>PRŮMĚR</b>		<b>4,3</b>		<b>43</b>	<b>1,00</b>	<b>18</b>	<b>32,68</b>	<b>4,50</b>

Reakce genotypů jarní pšenice na infekci BYDV byla mírnější v porovnání s ozimou pšenicí. Byly testovány odolnější genotypy, které měly statisticky průkazně mírnější symptomatickou reakci na infekci než kontrolní náchylná odrůda Jara (**tabulka 20**). Symptomatická reakce jarních genotypů má odpovídající odezvu i v dalších sledovaných parametrech redukce HZK a HTZ, ale i indexu náchylnosti SI. To odpovídá předchozím studiím (Šíp *et al.* 1997, Chrpová *et al.*, 1998), které uvádějí vhodnost použití indexu pro jarní pšenice.

Nejlepší reakce na infekci byla zaznamenána u linie WKL91-138 původem ze Sýrie, která měla symptomatické hodnocení 2,6 a redukce HZK 31 %. Jedná se ovšem o silně krátkostébelný a málo výnosný genotyp s náchylností k padlí travnímu. Byla potvrzena odolnost odrůd Maringál a Anza.

Odrůda Anza projevovala symptomy na úrovni mírné odolnosti (4,0), což bylo ve shodě s výsledky Ayaly *et al.* (2001), která uvádí symptomatické hodnocení 3,9. Redukce výnosu uvádí na střední úrovni (20,0 %), rovněž redukce hmotnosti tisíce zrn byla střední (14,3). V tomto pokusu byla sledována redukce hmotnosti zrna na klas, která byla na středně dobré úrovni (38 %). V porovnání s redukcí výnosu publikovanou Ayalou *et al.* (2001) ovšem nezohledňuje redukcí odnožování. Redukce HTZ v tomto pokusu byla nízká, jen 6%. Porovnatelnost těchto výsledků je omezena z důvodu jiných podmínek prostředí panujících v Mexiku a použitím jiného patotypu viru BYDV-PAV.

Podobné výsledky v redukcí hmotnosti zrna na klas a HTZ v porovnání s odrůdou Anza byly zaznamenány i u odrůdy Maringál, která ovšem byla lépe

hodnocena symptomaticky (3,8). Symptomatické hodnocení je ve shodě s předchozími výsledky uváděnými Vacke *et al.* (1996). Redukce hmotnosti zrna na klas však byla výrazně nižší (4,6 %) proti 37% redukcí v tomto pokusu. V obou pokusech byla použita stejná metodika a izolát viru BYDV-PAV. Odolnost odrůdy Maringál je pravděpodobně původem z odrůdy Frontana, ze které byla vyšlechtěna. Singh *et al.* (1993) uvádí tuto toleranci do souvislosti s přítomností genů rezistence *Lr34* a *Yr18*. Odolnost odrůdy Frontana však nebyla tak jednoznačná jako u Maringál (redukce HZK 17% a SH 5,2), i když stále nadprůměrná (Vacke *et al.*, 1996). Stabilních výsledků v porovnání s pokusem Vacke *et al.* (1996) dosáhla náchylná odrůda Jara, a to jak v projevech symptomů, tak v redukcí hmotnosti zrna na klas. Žádná redukce výnosu odrůdy Maringál byla zaznamenána v pokusech A. Comeau *et al.* (1992). Symptomaticky byla v jeho souboru odrůd hodnocena nejlépe (4,5). Bohužel existuje více isogenních linií této odrůdy, které se liší v přítomnosti *Rht* genů (morfologicky ve výšce). V této publikaci toto nebylo specifikováno. Genotyp použitý v našich pokusech nesl gen *Rht-B1b*.

Odrůda Leguan a linie SG-S26-98 byly hodnoceny na dobré úrovni v redukcí výnosových prvků, i když symptomatické hodnocení bylo vyšší. Příznivá reakce na infekci BYDV byla zjištěna i v práci Vacke *et al.* (1996), kde byla odrůda testována ještě pod označením ST 271-92. Je uváděna nízká redukce HZK (24,5 %), ale poměrně významný projev symptomů onemocnění (5,9). Linie SG-S26-98 byla rovněž testována na pracovišti CIMMYT v Mexiku, kde dosáhla příznivé úrovně redukce výnosu (23 %), ale pouze průměrných symptomatických projevů onemocnění (5,0) (Henry, osobní sdělení). Hodnocení redukce výnosových parametrů je významné pro posouzení stupně odolnosti genotypů jarní pšenice.

**Tabulka 20:** Reakce jarní pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95% (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0.05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní).

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	SH	HG-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI
WKL 91-138	SYR	2,6	a	31	0,92	8	37,1	2,45
MARINGÁ 1	BRA	3,1	b	37	0,85	6	30,2	3,02
ANZA	MEX	4,0	c	38	0,80	6	32,0	3,68
LEGUAN	CZE	4,2	cd	32	0,98	9	28,3	3,06
SG-S26-98	CZE	4,6	d	35	0,90	2	27,3	3,57
JARA	CZE	6,7	e	53	0,65	18	24,9	5,66
<b>PRŮMĚR</b>		<b>4,2</b>		<b>37</b>	<b>0,85</b>	<b>8</b>	<b>29,97</b>	<b>3,57</b>

### 5.3. Reakce odrůd pěstovaných v ČR na infekci BYDV-PAV

Rozdíly v reakci odrůd ozimé a jarní pšenice registrovaných v ČR na umělou infekci BYDV ukazují **tabulky 21 a 22**.

Pro ozimou pšenici byly průměrné hodnoty SH v rozmezí 3,9-5,8 a HZK-R 32-60 %. Z **tabulky 21** je patrné, že rozdíly v rezistenci u registrovaných odrůd ozimé pšenice jsou vzhledem k ročníkovým výkyvům obtížně prokazatelné. Na základě výsledků mnohonásobného porovnávání se významně odlišovaly ve stupni rezistence posuzovaném na základě symptomatického hodnocení pouze odrůdy Saskia a Rialto od náchylnějších odrůd Hedvika, Vlada, Elpa, Drifter a Apache. Významnost korelace mezi SH a HZK-R byla prokázána ( $r = 0.37$  pro ozimou pšnici při  $p = 0.0019$  a  $r = 0.55$  pro jarní pšenici při  $p = 0.0038$ ), ale u některých odrůd byly zjištěny rozdíly v symptomatickém projevu a stupni tolerance. Odrůdy Athlet a Simila měly vyšší odolnost podle symptomů, ale nižší toleranci k nákaze, proti tomu odrůdy Niagara, Boka a Hedvika relativně vyšší toleranci a nižší odolnost podle symptomatického projevu.

Odrůdy Saskia a Rialto vykazovaly nejlepší symptomatické hodnocení (3,9) ale jen průměrnou redukcí HZK (43 % resp. 48 %). Odrůdy Rexia a Svitava dobře reagovaly na infekci (SH 4,4 resp. 4,2) a zároveň měly nižší redukcí HZK (36 % resp. 32 %). V parametru redukce HTZ byly zaznamenány menší rozdíly 13-33 %, průměrná redukce HTZ byla 23 %. Index náchylnosti SI považuji za nevhodný pro porovnávání odrůd ozimé pšenice, protože zvýhodňuje genotypy s přirozeně vyšší hodnotou HZK

(tvoří výnos v klasech, méně v počtu klasů na m<sup>2</sup>). Například odrůda Globus byla hodnocena jako náchylnější (SH: 5,1) a vykazovala významnou redukci HZK (53 %), ale protože hodnota HZK-I byla vyšší, SI index byl vypočten jako relativně nadprůměrný (SI: 3,75). Práci zabývajících se odolností ozimé pšenice k BYDV je velmi málo. Polní infekční testy provádí pouze pracoviště VÚRV Ruzyně. Poslední publikovaný výsledek byl ale vydán již v roce 1998 (Chrpová *et al.*, 1998). Z genotypů testovaných v těchto pokusech byly opakovány pouze kontrolní odrůdy Sparta a Vlada. V tomto pokusu probíhajícího v letech 1992-1994 byly zaznamenány podobné výsledky, celková redukce HZK byla 41 % a průměrné hodnocení symptomů 5,5.

V roce 2000 byla vydána závěrečná zpráva VÚRV za úsek Rezistence obilovin k virovým chorobám, která uvádí odolnost některých odrůd ozimé pšenice dle symptomatické reakce. Uvádí odrůdy Astela, Samanta, Corsaire, Sepstra a Semper jako mírně odolné (hodnocení symptomů 3,1-4). Naše testy potvrdily zlepšenou symptomatickou reakci na infekci BYDV u odrůdy Corsaire (4,0), která ovšem výrazně redukovala výnos. Odrůdy Sepstra i Semper zmíněnou odolnost v našich testech nepotvrzují. Ve skupině mírně odolných odrůd jsou zmiňovány odrůdy Rialto a Saskia jejichž mírná odolnost byla zjištěna i v našich testech – hodnocení symptomů bylo nadprůměrné. Uvedené náchylné odrůdy k viru žluté zakrslosti ječmene Apache, Contra a Ebi, byly potvrzeny v projevech symptomů i v redukci HZK a HTZ. Odrůda Niagara byla hodnocena rovněž jako náchylná, ovšem redukce HZK nebyly vysoké.

Comeau *et al.* (2002) zmiňuje možný vliv mohutnosti kořenové soustavy na lepší příjem živin a toleranci k BYDV. Mohutnost kořenové soustavy na aktuálně pěstovaných odrůdách v ČR uvádí Dostál *et al.* (2008), bohužel zatím v jednoletých výsledcích. Do skupiny odrůd s malým kořenovým systémem byly mimo jiné zařazeny odrůdy Hedvika, Ilias, Sulamit, Ludwig, Cubus, Rheia a Meritto, naopak mezi odrůdy s velkým kořenovým systémem byly zařazeny Rapsodia, Globus, Batis, Biscay a Akteur. Evidentně v obou skupinách jsou zastoupeny odolnější typy k vůči BYDV, Hedvika, Sulamit a Meritto v první skupině a Akteur v druhé. Pro seriózní ověření této hypotézy je nutné použít soubor genotypů s většími rozdíly v reakci na infekci BYDV. Rovněž hodnocení mohutnosti kořenové soustavy u infikovaných rostlin v porovnání s neinfikovanými by mohlo více objasnit vztahy mezi kořenovým systémem, manifestací symptomů BYDV a redukcí výnosových prvků.

Odrůdy Vlasta, Ludwig, Globus, Clarus a Akteur byly pozitivně hodnoceny na přítomnost genů Lr34/Yr18, které jsou ve vazbě na gen *Bdv1* (Slámová, 2009).

V polních podmínkách měla mírnější reakci na infekci BYDV-PAV jen odrůda Clarus (redukce HZK 44 %, SH 4,2). Ostatní odrůdy s přítomností tohoto genu měly průměrné až podprůměrné hodnocení těchto znaků v rozmezí 48-54 % pro redukci HZK a 4,9-5,1 pro symptomatické hodnocení. Nejsou známy výsledky publikované na toto téma pro ozimé genotypy.

**Tabulka 21:** Reakce odrůd ozimé pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95% (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; ; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní).

ODRŮDA	PŮVOD	SH	HS-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI
RIALTO	GBR	3,9	a	48	1,28	23	36,73	3,17
SASKIA	CZE	3,9	a	43	1,03	25	36,17	4,30
CORSAIRE	FRA	4,0	ab	40	1,27	20	40,37	3,23
SULAMIT	CZE	4,0	ab	46	1,17	22	35,47	3,67
ATHLET	DEU	4,0	abc	58	0,97	13	39,83	4,59
SIMILA	CZE	4,2	abc	60	0,97	25	37,84	4,62
CLARUS	DEU	4,2	abc	44	1,17	19	35,83	3,73
SVITAVA	CZE	4,2	abc	36	1,38	19	39,77	2,79
ASTELA	SVK	4,3	abc	44	1,18	23	35,40	3,67
KAROLINUM	CZE	4,3	abc	42	1,26	20	37,83	3,36
MERITTO	CZE	4,3	abc	47	1,36	26	37,13	2,90
WINDSOR	DEU	4,3	abc	43	1,28	20	39,56	3,23
REXIA	SVK	4,4	abc	32	1,35	17	41,43	2,98
CLEVER	GBR	4,5	abc	44	1,12	20	35,87	4,00
SPARTA	CZE	4,5	abc	46	1,05	28	33,75	4,33
SULTAN	CZE	4,6	abc	55	1,05	31	35,58	4,34
SEPSTRA	DEU	4,6	abc	51	1,01	19	37,87	4,53
CAPHORN	GBR	4,8	abc	44	1,26	19	36,26	3,45
NELA	CZE	4,8	abc	46	0,99	23	35,67	4,65
COMPLET	DEU	4,8	abc	56	1,07	24	36,37	4,27
DARWIN	GBR	4,8	abc	56	1,11	29	39,08	4,12
RECORD	DEU	4,8	abc	50	1,08	24	37,50	4,24
RITMO	NLD	4,8	abc	50	0,97	19	32,97	4,75
AKTEUR	DEU	4,9	abc	50	1,24	27	34,83	3,54
RHEIA	CZE	4,9	abc	56	1,01	29	40,67	4,59
SOLARA	SVK	4,9	abc	51	0,98	20	36,03	4,69
BANQUET	CZE	5,0	abc	43	1,25	22	41,10	3,52
BILL	DEU	5,0	abc	49	1,14	20	36,20	4,01
CUBUS	DEU	5,0	abc	47	1,15	19	37,11	3,98
VLASTA	CZE	5,0	abc	54	1,12	25	40,51	4,09
BISCAY	GBR	5,1	abc	41	1,32	26	36,56	3,22
GLOBUS	DEU	5,1	abc	53	1,20	21	38,40	3,75
LUDWIG	AUT	5,1	abc	48	1,11	22	39,07	4,18

ODRŮDA	PŮVOD	SH	HS-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI
ALIBABA	DEU	5,2	abc	59	1,10	17	41,57	4,24
TREND	DEU	5,2	abc	49	1,20	19	41,51	3,78
ILIAS	NLD	5,3	abc	57	0,98	25	33,60	4,75
BATIS	DEU	5,3	abc	53	1,04	25	35,90	4,52
BREA	CZE	5,3	abc	46	1,09	21	38,37	4,28
BRUNETA	CZE	5,3	abc	45	1,05	23	38,45	4,46
NIAGARA	CZE	5,3	abc	36	1,31	23	39,90	3,32
ALKA	CZE	5,4	abc	56	0,88	28	34,57	5,26
BOKA	CZE	5,4	abc	35	1,41	19	41,37	2,90
RADUZA	CZE	5,4	abc	56	0,90	30	38,28	5,16
SEMPER	NLD	5,4	abc	60	0,84	26	31,78	5,44
EBI	DEU	5,5	abc	53	1,07	24	36,43	4,42
ŠÁRKA	CZE	5,5	abc	57	0,94	31	35,51	5,01
ESTICA	NLD	5,6	abc	55	1,00	25	36,47	4,74
MLADKA	CZE	5,6	abc	56	1,05	27	38,83	4,50
RAPSODIE	GBR	5,6	abc	55	0,88	22	34,23	5,28
CONTRA	DEU	5,7	abc	58	0,87	30	29,67	5,32
DRIFTER	DEU	5,8	bc	60	0,99	33	32,53	4,82
ELPA	DEU	5,8	bc	54	1,05	26	39,30	4,55
HEDVIKA	NLD	5,8	bc	38	1,24	18	36,31	3,73
VLADA	CZE	5,8	bc	52	0,88	18	36,80	5,32
APACHE	FRA	5,8	c	57	0,89	27	35,63	5,26
<b>PRŮMĚR</b>		<b>4,9</b>		<b>49</b>	<b>1,10</b>	<b>23</b>	<b>37,12</b>	<b>4,17</b>

Celková symptomatická reakce odrůd jarní pšenice je výraznější nežli u ozimů (tabulka 22). Redukce HZK a HTZ je však u jarní pšenice celkově nižší. Podobných průměrných hodnot bylo dosaženo i v pokusech Vacke *et al.* (1996) a Šípa *et al.* (1997). Syptomatické hodnocení odrůd jarní pšenice bylo v průměru 5,73; pro ozimou pšenici 5,52. Redukce HZK však byla pro jarní pšenici nižší o 9 %. Příčinou může být delší růstový a vývojový cyklus u ozimé pšenice. Jarní pšenice rychleji přechází do generativní fáze a mění asimilační tok směrem do generativních orgánů. Díky tomu zrychlenému vývoji rostlina odrůstá rozvoji infekce a systémovému rozšíření viru v rostlině.

Průměrné hodnoty SH se u registrovaných odrůd jarní pšenice pohybovaly v rozmezí 4.5-6.6 a HZK-R 24-60 %. Symptomatická reakce na úrovni odrůdy Anza (nositel genu *Bdv1*) byla zjištěna u odrůdy Leguan, což je v souladu se zjištěními v předcházejících letech (Šíp *et al.*, 1998; Šíp *et al.*, 2005). Odrůdy Zuzana, Vánek a Sirael vykazovaly podprůměrnou redukci HZK, ale jen průměrné symptomatické hodnocení. Jako náchylné lze označit odrůdy Triso, Corso a Swedjett, které byly

hodnoceny symptomaticky na úrovni náchylné kontroly Jara a zároveň vykazovaly vyšší redukci HZK. Odrůda Sandra, hodnocená v předchozích letech jako tolerantní v redukci HZK (33,7 %), ale náchylná v projevech symptomů (6,2) (Vacke *et al.*, 1996), vykazovala v našich testech podobně relativně nižší redukci HZK (30 %), ale její symptomatické hodnocení (6,2) bylo na úrovni náchylné odrůdy Jara.

Přítomnost genů Lr34/Yr18 byla zjištěna u odrůd Bruncka a Vinjet (Slámová *et al.*, 2009). Odrůda Bruncka byla hodnocena pouze průměrně v symptomatických projevech i v redukci HZK, odrůda Vinjet byla hodnocena jako spíše náchylná, což potvrzuje malý vliv přítomnosti tohoto markeru na odolnost k BYDV.

**Tabulka 22:** Reakce odrůd jarní pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95 % (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní).

ODRŮDA	PŮVOD	SH	HS-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI
WKL 91-138	SYR	2,9	a	23	1,23	10	43,27	1,34
LEGUAN	CZE	4,5	bc	36	1,09	14	29,82	2,79
ANZA	BRA	4,6	bc	32	0,96	2	35,97	3,35
ARANKA	CZE	4,7	bcd	38	1,18	16	33,73	2,50
SIRAEI	CZE	4,9	bcde	24	0,96	-1	28,83	3,50
VÁNEK	CZE	5,3	bcdef	28	1,10	17	32,17	3,12
BRUNCKA	DEU	5,3	bcdef	39	1,22	12	33,80	2,67
ZUZANA	CZE	5,4	bcdef	28	1,05	5	27,93	3,38
SEPTIMA	CZE	5,5	bcdef	43	1,18	14	30,21	2,90
GRANNY	CZE	5,5	bcdef	40	1,10	12	31,63	3,25
TERCIE	CZE	5,5	bcdef	38	1,05	22	26,71	3,45
KRONJET	SWE	5,8	cdef	37	0,87	10	30,28	4,32
VINJET	SWE	6,0	def	42	0,92	3	36,48	4,24
MUNK	DEU	6,1	cdef	46	0,71	10	27,01	5,09
SWEDJETT	SWE	6,1	ef	47	0,89	17	30,02	4,38
TRISO	DEU	6,2	ef	60	0,74	36	31,27	5,02
SANDRA	CZE	6,2	ef	30	1,11	7	29,65	3,58
CORSO	DEU	6,3	ef	49	1,10	24	33,05	3,65
JARA	CZE	6,6	f	48	0,85	17	28,18	4,83
<b>PRŮMĚR</b>		<b>5,4</b>		<b>38</b>	<b>1,02</b>	<b>13</b>	<b>31,58</b>	<b>3,54</b>

#### 5.4. Reakce zdrojů odolnosti na infekci BYDV-PAV

V **tabulkách 23 a 24** jsou uvedeny výsledky hodnocení 67 potenciálních zdrojů rezistence ozimé a jarní pšenice na stanovištích Ruzyně a Stupice v letech 2006 a 2008.

Průměrné symptomatické hodnocení ozimé pšenice bylo 4,2 stupně, přičemž mírně odolná kontrolní odrůda Sparta měla průměrnou hodnotu SH 3,3 a náchylná kontrolní odrůda Vlada 5,8. Nejlépe byla v testovaném souboru hodnocena linie PSR3628, která vykazovala jen mírné symptomy (1,6) a velmi nízkou redukcí HZK (4 %) i HTZ (2 %). Jedná se o náhodně nalezeného křížence pšenice a pýru s dlouhým stéblem (Lukaszewski, ústní sdělení). Tato linie je velmi pozdní v přechodu do generativní fáze (je uváděna jako vytrvalá pšenice – „perennial wheat“). Vykazuje nízkou agronomickou úroveň (nízká je především HZK: pouze 1.37 g, což zhoršuje především vypočtený index náchylnosti) a náchylnost ke rzi plevové. Odrůdy



McCormic, Roane, Sisson, Tribute a Avalanche byly zařazeny do testů rezistence na základě prokázané vyšší úrovně rezistence při přirozeném výskytu BYDV (Griffey *et al.*, 2001, 2003, 2005a, 2005b a Haley *et al.*, 2003). V testech s umělou infekcí byla potvrzena mírná rezistence u odrůd McCormic, Roane a Tribute. Odrůdy McCormic a Roane vykazovaly nižší symptomatický projev (3,9 resp. 4,0), ale vyšší redukci HZK (42 % resp. 41 %) i HTZ (17 % resp. 12 %). Naproti tomu odrůda Tribute měla jen mírnou redukci HZK (20 %) a HTZ (7 %), ale pouze průměrné symptomatické hodnocení (4,3). Odrůda Roane byla testována Weiszem *et al.* (2005) společně s dalšími běžně pěstovanými odrůdami v Illinois. V tříletých testech využívajících přirozenou infekci byla hodnocena společně s linií C9663 jako nejodolnější s nejnižší redukcí výnosu v porovnání s neinfikovanou kontrolou, a to stabilně ve všech sledovaných letech. Průměrná redukce byla 6,3 %, průkazně nižší než u náchylné kontrolní odrůdy AP Shelby, která měla průměrnou redukci výnosu 26,3 %. Odrůda Roane má pravděpodobně ještě další mechanismy odolnosti (nonpreferencce přenašeče), které umělá infekce není schopna zachytit. Rovněž může být rozdíl v agresivitě použitého izolátu BYDV-PAV, který překonává odolnost této odrůdy a projeví se v redukcí výnosových prvků, ale ne v symptomech.

Mezi zdroje mírné rezistence můžeme zahrnout také českou v zemědělské praxi rozšířenou odrůdu Meritto (Šíp *et al.*, 2005), která byla hodnocena na úrovni kontrolní odrůdy Sparta. Relativní redukce HZK však byla vyšší. Byla potvrzena mírná odolnost odrůd Rexia a Svitava (Šíp *et al.*, 2005; předchozí pokus 1 s kontrolními odrůdami). Mírná rezistence byla potvrzena u novošlechtění SG-S17-03 (SG-S411-91/CWW93/58), SG-U3097 (893316-a/SG-S159-94), SG-RUH26-01 (PBIS-95-92/ŠÁRKA) a SG-S1517-05 (SVITAVA/RALEIGH).

Nebyla potvrzena odolnost odrůdy Martonvasári 8 (Comeau, ústní sdělení), ani dvou linií původem z Mexika, u kterých byl předpoklad přítomnosti genu *Bdv1* z odrůdy Lira. Gen byl detekován pomocí markeru pro geny rezistence Lr34/Yr18 (WMS130), které jsou ve vazbě. *Bdv1* gen byl prokázán jen u linie CIT925080 (Slámová, 2009).

Index náchylnosti (SI) označoval řadu náchylných genotypů za odolnější, jako například odrůda Martonvasári 8 byla symptomaticky hodnocena podprůměrně (5,1) a vykazovala značnou redukci HZK (40 %) a průměrnou redukci HTZ (9 %), přesto index náchylnosti byl na lepší úrovni (3,19), než např. u tolerantní odrůdy Tribute (SI: 4,1).

**Tabulka 23:** Reakce zdrojů odolnosti ozimé pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95 % (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní) – 2006 a 2008.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	SH	HG-95%	HZK-R	HZK-I	HTZ-R	HTZ-I	SI
PSR 3628	USA	1,6	a	4	1,32	2	32,3	2,57
SG-S17-03	CZE	3,3	b	26	1,59	10	35,6	1,70
SPARTA	CZE	3,3	b	28	1,49	7	38,6	2,14
MERITTO	CZE	3,6	bc	40	1,61	14	37,5	1,67
SG-U3097	CZE	3,6	bc	34	1,65	11	36,1	1,49
SG-RUH26-01	CZE	3,7	bcd	35	1,64	6	38,0	1,55
McCORMIC	USA	3,9	bcd	42	1,01	17	34,3	4,38
SG-S1517-05	CZE	3,9	bcd	34	1,46	15	35,8	2,39
REXIA	SVK	4,0	bcd	35	1,44	8	40,0	2,50
ROANE	USA	4,0	bcd	41	1,07	12	34,0	4,13
SG-S1039-05	CZE	4,1	bcde	34	1,51	11	32,8	2,20
SG-S1825-05	CZE	4,1	bcdef	32	1,78	-5	40,1	1,01
SG-S50-04	CZE	4,1	bcde	46	1,27	16	32,8	3,27
SG-U9128	CZE	4,1	bcdef	45	1,24	18	33,9	3,40
SVITAVA	CZE	4,1	bcdef	36	1,55	6	40,5	2,03
SG-S1333-05	CZE	4,3	bcdefg	27	1,54	5	38,9	2,11
SG-S25-03	CZE	4,3	bcdefg	31	1,51	6	40,0	2,24
SG-U3078	CZE	4,3	bcdefg	32	1,43	6	37,3	2,60
TRIBUTE	USA	4,3	bcdefg	20	1,02	7	37,3	4,41
NIAGARA	CZE	4,5	cdefg	46	1,26	11	38,3	3,39
SISSON	USA	4,7	defgh	48	0,98	8	35,3	4,66
AVALANCHE	USA	5,1	fghi	50	0,88	10	37,4	5,18
MARTONVASÁRI 8	HUN	5,1	efghi	40	1,33	9	39,5	3,19
CIT925080	MEX	5,4	ghi	38	1,43	6	39,3	2,81
CIT90004	MEX	5,6	hi	45	0,94	11	34,7	5,01
VLADA	CZE	5,8	i	45	1,04	8	35,4	4,61
<b>PRŮMĚR</b>		<b>4,2</b>		<b>36</b>	<b>1,35</b>	<b>9</b>	<b>36,7</b>	<b>2,95</b>

Jarní pšenice představuje z hlediska odolnosti k BYDV skupinu genotypů s větší variabilitou. V souladu s předchozími výsledky (Šíp *et al.*, 2005; pokus 1 s kontrolními odrůdami) byla zjištěna vysoká úroveň rezistence u linie WKL-91-138 (pocházející z ICARDA, Syrie) a u brazilské odrůdy Maringá (izogenní linie *Rht-B1b*). Mírná rezistence byla zjištěna u odrůdy Anza. Žádný z testovaných zdrojů neměl nižší symptomatický projev než rezistentní linie WKL91-138 (2,6); průměrná redukce hmotnosti zrna na klas byla 25 %. Odrůda Bárbaro-B původem z Chile, vykazovala mírné symptomy onemocnění (3,8) a rovněž nízkou redukcí HZK (19 %) i HTZ (0 %). Také novošlechtění fy Selgen SG-S26-98 (SANDRA/ST1197-87), SG-S80-04 (SAXANA//ESTICA/SG-S8-93), MVZ1105-04 (SG-S26-98/SG-S113-98) a genotypy původem z Polska Bombona a SOA217/02 byly mírně odolné k BYDV.

Celkově jako náchylné až velmi náchylné byly hodnoceny genotypy nesoucí gen rezistence *Bdv2*. Výsledky analýz ukázaly, že nositelé genu *Bdv2* (kolekce CIMMYT a linie odvozené od TC14) detekování pomocí molekulárních markerů (viz **tabulka 24**) vykazovali náchylnou reakci na úrovni kontrolní odrůdy Jara (**obrázky 8 a 9**). Tyto materiály měly taktéž střední nebo vyšší redukcí HZK i HTZ.

**Tabulka 24:** Reakce zdrojů odolnosti jarní pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95 % (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce semen; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), SI (index náchylnosti; 0 = rezistentní) v porovnání s markery genů *Bdv1* (WMS130) a *Bdv2* (BYAgi, SCgpl, gwm37 a BYD) (Slámová, 2009).

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	SH	HS-95%	(%) HZK-R	(g) HZK-I	(%) HTZ-R	(g) HTZ-I	SI	WMS130	BYAgi	SCgpl	gwm37	BYD
WKL 91-138	SYR	2,6	a	33	1,10	11	39,50	1,73	+	-	-	-	-
SOA217/02	POL	3,7	ab	44	1,15	12	34,09	2,10	-	-	-	-	-
MARINGÁ 1	BRA	3,8	bc	39	0,96	7	30,90	2,92	-	-	-	-	-
SG-S80-04	CZE	3,8	bc	32	1,10	9	30,15	2,35	-	-	-	-	-
BÁRBARO-B	CHL	3,9	bc	19	1,20	0	32,77	2,00	+	-	-	-	-
ANZA	MEX	4,1	bcd	31	0,92	4	33,07	3,23	+	-	-	-	-
BOMBONA	POL	4,2	bcde	37	0,92	4	32,13	3,29	-	-	-	-	-
SG-S26-98	CZE	4,2	bcde	24	1,16	1	28,25	2,32	-	-	-	-	-
SG-S884-04	CZE	4,2	bcde	34	1,19	10	30,94	2,20	-	-	-	-	-
MVZ 1105-04	CZE	4,3	bcde	28	1,19	2	29,14	2,25	-	-	-	-	-
LEGUAN	CZE	4,4	bcde	39	1,02	13	27,79	2,99	-	-	-	-	-
SG-S604-96	CZE	4,4	bcde	29	0,98	6	26,01	3,15	+	-	-	-	-
SG-S45-98	CZE	4,5	bcde	30	1,00	6	26,71	3,12	-	-	-	-	-
MVZ 1108-04	CZE	4,6	bcdef	26	1,16	6	28,85	2,53	-	-	-	-	-
WALUTA	POL	4,6	bcdef	46	0,86	10	32,20	3,73	-	-	-	-	-
COSTERO-B	CHL	4,8	bcdef	41	0,83	9	24,29	3,96	+	-	-	-	-
MVZ 974-04	CZE	4,8	bcdef	30	1,31	8	33,69	2,03	-	-	-	-	-
KATODA	POL	4,9	cdefg	42	0,83	1	31,70	4,01	-	-	-	-	-
QUINO-BAER	CHL	4,9	cdefg	48	0,85	14	31,85	3,93	-	-	-	-	-
BINGO-BAER	CHL	5,3	defgh	38	0,91	-8	28,17	3,90	-	-	-	-	-
TC-14 290E	AUS	5,3	efghi	44	0,84	12	32,46	4,18	-	+	+	+	-
CIM 0232	MEX	5,8	fghij	52	0,77	9	36,25	4,72	+	+	+	-	+
TC-14 290J	AUS	5,9	ghijk	42	0,86	8	31,75	4,41	-	+	+	+	-
CIM 0235	MEX	6,0	ghijk	49	0,76	12	35,60	4,86	+	+	+	-	+
CIM 0231	MEX	6,1	ghijk	35	0,91	8	35,50	4,31	+	+	+	+	+
CIM 0234	MEX	6,1	hijk	50	0,81	12	35,91	4,72	+	+	+	+	-
CIM 0227	MEX	6,2	hijk	41	0,84	12	34,76	4,65	+	+	+	+	+
CIM 0230	MEX	6,3	hijk	48	0,75	16	34,21	5,06	+	+	+	+	+
CIM 0228	MEX	6,4	hijkl	52	0,72	12	33,26	5,23	+	+	+	+	+
CIM 0236	MEX	6,4	ijkl	41	1,26	12	36,68	3,06	-	+	+	-	+
CIM 0223	MEX	6,5	ijkl	35	0,87	13	34,71	4,68	+	+	+	+	+
CIM 0229	MEX	6,5	ijkl	39	0,87	6	34,90	4,68	+	+	+	-	+
CIM 0233	MEX	6,5	jkl	43	0,88	15	33,96	4,64	+	+	+	+	+
JARA	CZE	6,5	jkl	49	0,82	12	27,83	4,88	+	-	-	-	-
CIM 0220	MEX	6,6	jkl	51	0,85	11	31,31	4,82	+	+	+	+	+
CIM 0226	MEX	6,6	jkl	45	0,90	12	35,23	4,61	+	+	+	+	+
CIM 0225	MEX	6,8	jkl	41	0,71	9	35,46	5,48	+	+	+	+	+
CIM 0237	MEX	6,9	jkl	52	0,86	16	32,43	4,93	+	+	+	-	+
CIM 0221	MEX	7,1	kl	51	0,82	15	30,80	5,20	+	+	+	+	+
CIM 0224	MEX	7,2	kl	47	0,63	16	34,05	6,01	+	+	+	+	+
CIM 0222	MEX	7,8	l	56	0,69	18	29,16	6,08	+	+	+	+	+
<b>PRŮMĚR</b>		<b>5,4</b>		<b>40</b>	<b>0,93</b>	<b>9</b>	<b>32,16</b>	<b>3,88</b>					



**Obrázek 8:** Symptomy infekce BYDV na třech kontrolních odrůdách jarní pšenice; odrůdy vysety ve dvouřádcích, zleva: náchylná kontrolní odrůda Jara, středně odolná odrůda Leguan a odolná linie WKL91-138; vzadu neinfikovaná kontrolní varianta.



**Obrázek 9:** Náchylná symptomatická reakce linií nesoucí gen *Bdv2* (vzadu neinfikovaná kontrolní varianta).





Přítomnost genu *Bdv1* byla zjištěna v řadě genotypů pomocí markéru WMS130 (Slámová, 2009). Byl prokázán, jak se předpokládalo, u odrůdy Anza, dále u rezistentní odrůdy WKL 91-138, mírně odolné odrůdy Leguan, novošlechtění MVZ 974-04 a odrůdy Bárbaro B. Jeho přítomnost byla též prokázána ve většině linií, které jsou nositeli genu *Bdv2*, ale také v náchylné odrůdě Jara. Vzhledem k vysoké variabilitě v symptomatickém projevu (2,6-7,8) a dle výsledků zjištěných na odrůdách ozimé a jarní pšenice se jeví praktické využití tohoto markeru jako neopodstatněné. Ayala *et al.* (2002) identifikovala 22 QTL asociovaných s různými parametry tolerance vůči BYDV, šest QTL bylo identifikováno v populaci Frontana\*INIA66 (odrůda Frontana je nositel genu *Bdv1*). QTL pro jednotlivé hodnocené znaky byly většinou lokalizované na různých částech chromozomů. QTL měly váhu v rozmezí 4,1 % až 13,3 %. Více QTL zjištěných v souvislosti s tolerancí vůči BYDV a kontinuální rozložení naměřených hodnot dokazuje polygenní založení této odolnosti.

Markery BYAgI a SCgpl se ukázaly jako spolehlivé pro detekci genu *Bdv2*, jehož přítomnost se předpokládala v kolekci materiálů z CIMMYT a linií odvozených od TC14, zatímco pomocí markéru gwm37 byla přítomnost genu *Bdv2* detekována pouze u 15 z 20 materiálů (75 %). Problém výše jmenovaných „spolehlivějších“ markerů je v jejich dominantním založení, které je problematické při využití ve šlechtění.

Prvním rokem byly testovány některé další potenciální zdroje odolnosti k BYDV u ozimé pšenice (**tabulka 25**). Byly zde zahrnuty genotypy získané z genobanky USDA-ARS, které mají v popisu zaznamenánu toleranci k BYDV. Dále byly zařazeny genotypy nesoucí gen *Bdv2* a podle některé literatury i gen *Bdv3* (P29 a P961341) (Anderson *et al.*, 1998; Ohm *et al.*, 2005), linie původem z Chile (Baer Semillas) a příbuzné linie k již otestovaným liniím SG-U3097 a SG-U3078. Celkový průměr symptomatické reakce této skupiny genotypů byl 4,1; nejnižší hodnotu měla linie PSR3628 (1,0), nejhůře byla hodnocena linie OR FW-B0004 (5,5). Parametr redukce HZK se pohyboval v průměru 37 % (nejlépe 13 %, nejhůře 57 %). Redukce HTZ kolísala v poměrně širokém rozpětí (0–22 %), v průměru byla 9 %.

Zajímavý výsledek byl zaznamenán u linie P29, která nese translokaci dlouhého ramene chromozomu 7E z *Th. intermedium* na pšeničném chromozomu 7D. Tato translokace nese gen rezistence *Bdv2* (Anderson *et al.*, 1998). Linie měla mírné symptomatické hodnocení (2,2) i nízkou redukci HZK (15 %) i HTZ (6 %). Linie

P961341, která je z linie P29 vyšlechtěna, ale již odolnost k BYDV-PAV nepotvrdila (SH: 4,3; HZK: 45 %; HTZ: 1 %). Tato linie nese menší část translokovaného fragmentu (přítomen je gen *Bdv2*) z *Thinopyra* a dle dostupné literatury tento genotyp vykazoval dobré výnosové vlastnosti po infekci BYDV-PAV na úrovni odrůdy Roane (Ohm *et al.*, 2005). Výsledek naznačuje, že pro uplatnění odolnosti z *Th. intermedium* v našich podmínkách za použití českého izolátu BYDV-PAV jsou důležité další části dlouhého ramene chromozomu 7E mimo oblast genu *Bdv2*. Linie P29 je podobná linii L1, kterou vytvořil Banks *et al.* (1998). Z linie L1 byla odvozena řada linií s označením TC, včetně linie TC14, která našla široké uplatnění v řadě šlechtitelských programů. Linie L1 nese translokaci z 7X-7D a nebyla dosud na našem pracovišti testována. Uvedené výsledky je nutné ověřit v dalších letech.

Zdroje původem z USA (USDA-ARS) kolísaly v projevu infekce od mírně odolné po náchylnou. Mírné symptomy byly zaznamenány u odrůd Elmo (SH: 3,0) a Steele (SH: 3,8), ale pouze odrůda Steele měla též mírnou redukci HZK (25 %) a HTZ (0 %). Naopak linie FW 753 44-105 projevila silnější symptomatickou reakci (4,8), ale nejnižší redukci HZK (3 %) a HTZ (0 %). Uvedené výsledky je rovněž nutné ověřit v dalších letech.

**Tabulka 25:** Reakce zdrojů odolnosti ozimé pšenice na umělou infekci BYDV-PAV; SH (symptomatické hodnocení; 0-9, 0 = bez symptomů), HS-95 % (homologní skupiny pro parametr SH,  $p < 0,05$ ), HZK (hmotnost zrna na klas; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g), HTZ (hmotnost tisíce zrn; R – redukce k neinfikované variantě - %, I- absolutní hodnota infikované varianty – g) – 2008.

ODRŮDA/LINIE	PŮVOD	SH	HG-95%	HZK-R	HZK-I	HTZ-R	HTZ-I
PSR 3628	USA	1,0	a	13	1,46	2	32,4
P 29	USA	2,2	ab	15	1,39	6	32,3
SPARTA	CZE	2,7	abc	31	1,50	6	39,5
ELMO	USA	3,0	abcd	35	1,15	12	34,6
SG-U3037A	CZE	3,0	abcd	49	1,56	15	37,6
SG-U3037A-A	CZE	3,2	abcd	41	1,52	10	39,3
SG-U3037D-A	CZE	3,2	abcd	40	1,28	9	39,6
SG-U8045-1	CZE	3,5	abcd	26	1,65	0	36,4
SG-U8045-12	CZE	3,5	abcd	31	1,46	6	35,6
SG-U8045-5	CZE	3,5	abcd	43	1,72	13	36,9
SG-U8045-16	CZE	3,7	bcd	34	1,67	8	35,5
SG-U8045-8	CZE	3,7	bcd	53	1,65	6	36,4
SG-U3037D-B	CZE	3,8	bcd	38	1,47	10	40,6
SG-U8045-6	CZE	3,8	bcd	23	1,77	11	37,2
STEELE	USA	3,8	bcd	25	1,34	0	37,8
SG-U8045-3	CZE	4,1	bcd	54	1,52	22	36,7
MAITRE	CHL	4,3	bcd	40	1,58	12	39,0
P 961341	USA	4,3	bcd	45	1,07	1	36,0
FW 88-PA-E9001	USA	4,5	bcde	42	1,17	9	29,9
FW 771 595-G306	USA	4,7	cde	29	1,44	4	36,8
FW 88-PA-010-7	USA	4,7	cde	57	1,25	14	33,0
FW 753 44-105	USA	4,8	de	3	1,56	0	34,0
FW 771 595-G305	USA	4,8	de	40	1,33	11	35,7
FW 82178-B5012	USA	4,8	de	32	1,47	0	38,2
FW 88-PA-101-2	USA	4,8	de	57	1,16	15	31,6
ORION	USA	4,8	de	45	1,14	9	36,1
93AIR-A3.3B.14	USA	5,0	de	49	1,14	19	37,5
E-2-29-CAJ	CHL	5,0	de	45	1,44	14	34,4
FW 741 037-006	USA	5,0	de	24	1,49	8	34,4
FW 88-PA-004	USA	5,0	de	45	1,40	8	34,8
FW 82202-B5023	USA	5,2	de	40	1,31	6	35,5
HANCOCK	USA	5,2	de	28	1,58	11	36,1
VLADA	CZE	5,2	de	38	1,22	5	34,4
FW 771 697-G19	USA	5,3	e	39	1,45	12	33,2
OR FW-B0004	USA	5,5	e	36	1,34	16	31,1
<b>PRŮMĚR</b>		<b>4,1</b>		<b>37</b>	<b>1,42</b>	<b>9</b>	<b>35,7</b>



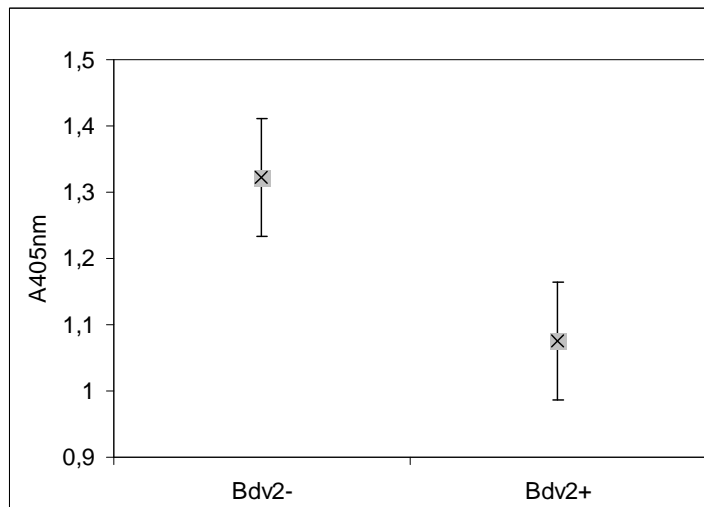
### **5.5. Výsledky semikvantitativní ELISA a posouzení efektu přítomnosti genu *Bdv2* na polní odolnost k BYDV-PAV**

Výsledky testů genotypů nesoucích gen *Bdv2* navozující tzv. pravou rezistenci byly v rozporu s uváděnými publikacemi a až na linii P29 byla reakce středně až silně náchylná. Bylo nutné ověřit funkci tohoto genu pomocí semikvantitativní ELISA.

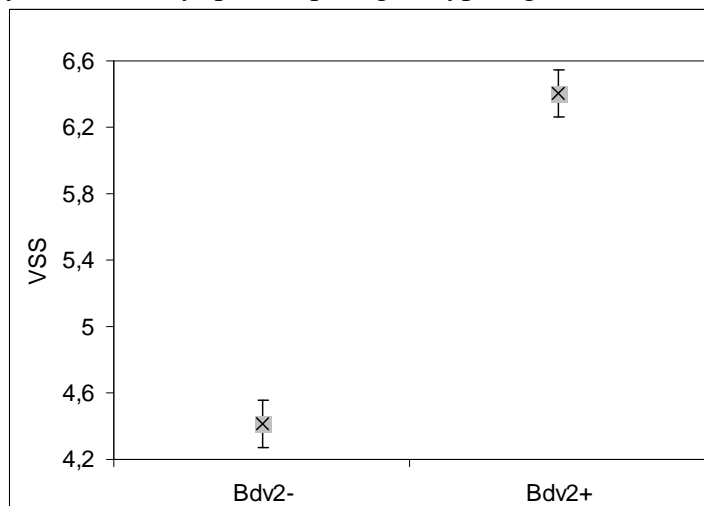
Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v absorbancích (405 nm) 11. den po infekci mezi skupinami genotypů s genem *Bdv2* a bez tohoto genu. Jak dokládá **graf 3**, obsah viru u nositelů *Bdv2* byl nižší. Toto zjištění je v souladu s předchozími informacemi o působení genu *Bdv2* (Banks et al, 1994, Sharma et al., 1994, Barloy et al., 2003, Ploudre et al., 1992, Ayala et al., 2000, Chain et al., 2005) a potvrzuje to účinnost tohoto genu na jisté snížení obsahu viru (množení viru) v rostlinách po infekci, ale rozdíly absorbancí mezi těmito skupinami v porovnání s těmito publikacemi byly nižší (do 30 %). Důvod tohoto rozdílu může být vysvětlen větší agresivitou Českého izolátu BYDV-PAV. Na základě hodnocení průměrů 9 vybraných nositelů genu *Bdv2* a 7 genotypů bez genu *Bdv2*, u kterých probíhalo hodnocení relativního obsahu viru (viz. Materiál a metody) je však patrné, že polní odolnost těchto genotypů byla hodnocena v průměru jako nízká (průměrné SH: 6.4). Průměr genotypů bez tohoto genu rezistence byl o dva stupně lepší (SH: 4,3) (**graf 4**). Podobně i redukce HZK byla u nositelů genu *Bdv2* v průměru vyšší (46 %) než u materiálů bez genu *Bdv2* (34 %). Pouze linie TC14-290E byla hodnocena na průměrné úrovni testovaného souboru a linie CIM 0231 a CIM 0223 vykázaly relativně nižší redukci HZK (35 %). Vliv genu *Bdv2* na zvýšení polní odolnosti k českému izolátu BYDV-PAV nebyl prokázán, což je v rozporu s některými dříve publikovanými výsledky (Henry et al., 2001; Ayala et al., 2000; Banks et al., 1995), ale potvrzuje závěry Comeau et al. (2002), který zpochybňuje význam tohoto genu a kvantitativní ELISA pro hodnocení tolerance k BYDV. Dle jeho výsledků nebyla nalezena průkazná korelace mezi polní odolností a relativním množstvím viru v rostlině. Princip rezistence založený na základě genu *Bdv2* je popisován jako zabránění pohybu viru v rostlině v souvislosti s přítomností kalózy ve floému. Způsob ukládání kalózy v plazmodezmatech popisuje jako důležitější faktor ovlivňující konečnou toleranci genotypu k infekci k BYDV, než hodnocení relativního množství viru v rostlině, které je vždy velmi nízké a obtížně hodnotitelné. Uvádí řadu genotypů, které

tuto teorii podporují, odrůda Maringá má po infekci poměrně vysokou hodnotu relativního množství viru, ale vykazuje polní toleranci, oproti tomu odrůda Zhong5 po infekci vykazuje silné symptomy, ale velmi nízké relativní množství viru v rostlině. Na rozdíly v expresi genu *Bdv2* poukázala i Ayala *et al.* (2001), kde u některých genotypů nesoucích gen *Bdv2* byla zaznamenána polní náchylnost. Rozhodně je třeba poznamenat, že citované výsledky byly zjištěny při použití mexického, kanadského nebo australského izolátu BYDV-PAV. Chain *et al.* (2006) prokázal schopnost adaptace BYDV k genu *Bdv2*, jehož účinek byl překonán opakovaným množením na hostitelích nesoucích tento gen. Izolát BYDV-PAV použitý v těchto pokusech sice nebyl množěn na hostitelích nesoucích *Bdv2* gen, ale nelze vyloučit přirozené překonání tohoto genu, pokud je to prokázáno experimentálně.

**Graf 3:** Průměrné absorbance (ELISA, 405nm) a HSD intervaly (95 %, Tukey) pro skupinu genotypů s genem rezistence *Bdv2* a bez genu.



**Graf 4:** Průměrné symptomatické hodnocení (VSS – 0-9, 0 = resistantní a HSD intervaly (95%, Tukey) pro skupinu genotypů s genem rezistence *Bdv2* a bez genu.



## ***5.6. Analýza reakce na infekci BYDV-PAV u kříženců se zdroji odolnosti a hodnocení metodického přístupu k problematice testování na odolnost k BYDV***

### **5.6.1. Potenciální zdroje odolnosti využitelné ve šlechtění na odolnost k BYDV**

Jako významná se jeví detekce linie ozimého typu PSR 3628, která představuje zdroj vysoké rezistence. Nevýhodou je však nízká agronomická úroveň tohoto materiálu, která omezuje využití ve šlechtění. Zvýšení úrovně rezistence s využitím detekovaných zdrojů s mírnou odolností (odrůd McCormic, Roane a Tribute či v praxi u nás pěstovaných odrůd jako Meritto, Rexia, Rialto a Svitava) je však zřejmě omezené vzhledem k předpokládanému polygennímu charakteru dědičnosti a značným výkyvům ve stupni rezistence vlivem podmínek prostředí.

Lepší předpoklady pro využití ve šlechtění na rezistenci skýtají zřejmě zdroje detekované u pšenice jarní. Vedle WKL91-138, s prokázanou nejvyšší úrovní rezistence, byly nově detekovány jako zdroje mírné rezistence odrůdy (linie) Bárbaro-B, Bombona, SG-S80-04 a SOA217/02. Výhodou těchto genotypů je jejich vysoká agronomická úroveň, která umožňuje jejich pohotovému využití ve šlechtění. Tyto odrůdy (linie) jarní pšenice by mohly být využity i pro zlepšení odolnosti ozimých pšenic. Nabízí se např. kombinační křížení s ozimými liniemi SG-S17-03 a odrůdami McCormic a Tribute.

### **5.6.2. Analýza kříženců se zdroji odolnosti WKL91-138 a TC14-290E**

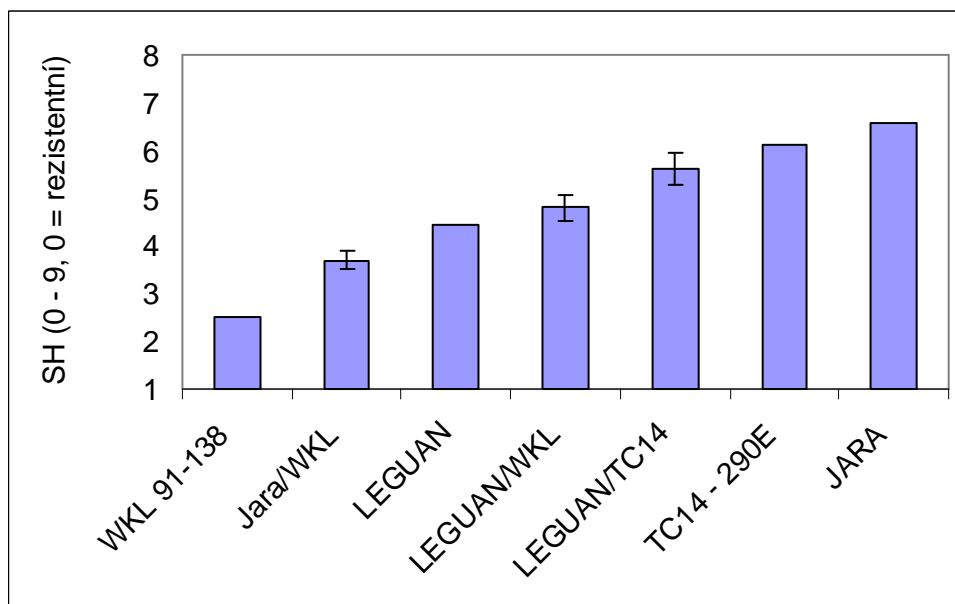
Pro posouzení perspektivnosti využití některých zdrojů rezistence v praktickém šlechtění byla u linií F3 generace pocházejících z kříženců Leguan/WKL91-138, Leguan/TC14-290E a Jara/WKL91-138 posuzována úroveň jejich rezistence v polních infekčních testech po umělé infekci BYDV-PAV. Frekvence četností pro SH zobrazují **grafy 7**. Průměrnou úroveň SH a HZK-R v porovnání s rodičovskými odrůdami ukazují **grafy 5 a 6**. Rozdělení četností u kombinací s linií WKL91-138 ukazuje na polygenní založení odolnosti této linie. I přes nejvyšší dosaženou úroveň rezistence je však šlechtitelské využití této linie komplikováno zvláště vzhledem k nižší agronomické hodnotě genotypu. Výsledky však ukázaly, že pokrok co se týče rezistence k BYDV

může být zvláště u některých kříženců poměrně výrazný. Např. po křížení linie WKL91-138 s odrůdou Jara bylo detekováno 35% linií s SH  $\leq$ 3, zatímco u křížence Leguan/WKL91-138 vykazovalo tuto úroveň rezistence pouze 10% linií. Z těchto výsledků vyplývá, že optimální nemusí být vždy křížení dvou relativně odolnějších rodičů. Výsledky genetických studií Ayaly *et al.* (2000) však popisují umístění QTL a genu rezistence k BYDV (*Bdv2*) na různých částech genomu a v tomto případě je kombinace tolerantních genotypů s rezistentními opodstatněná. Vzhledem k odlišnosti příspěvku různých doplňkových rodičů může být perspektivní analyzovat různé F2 v provokačních testech a vybrat perspektivnější kombinace křížení. Tuto metodu v praxi již několik desítek let praktikuje Prof. Comeau (SCRDC, Kanada) s dílčími úspěchy. Některé tolerantní linie nám byly poskytnuty do testů a v jednoletých výsledcích prokázaly velmi dobrou reakci na infekci BYDV. Ze šlechtitelského hlediska se jeví jako vhodná volba doplňkového rodiče s vysokým výnosovým potenciálem, perspektivního pro zlepšení negativních vlastností zdrojů rezistence k BYDV.

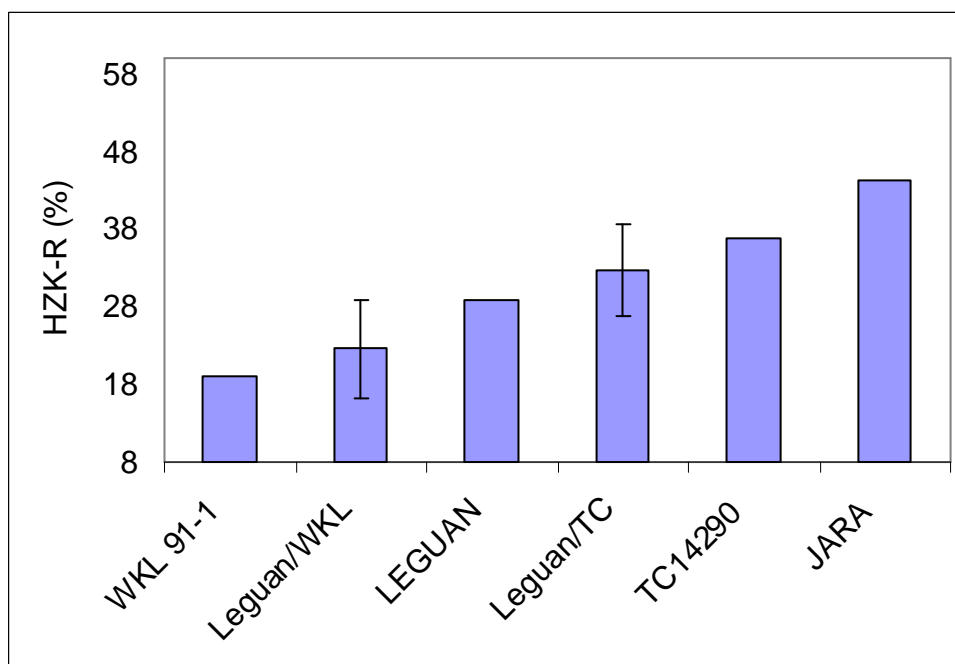
Výsledky dosažené u křížence Leguan/TC14-290E neprokázaly významný efekt genu *Bdv2* na zvýšení polní odolnosti k českému izolátu BYDV-PAV. Jak dokládá **graf 7**, u tohoto křížence bylo průměrné symptomatické hodnocení (SH: 5.62) významně vyšší než u kombinace Jara/WKL91-138 (SH: 3.69) i Leguan/WKL91-138 (SH: 4.80) a vysoce převažovaly (82 %) genotypy s SH  $\geq$ 5. Průměrná redukce HZK byla u křížence Leguan/TC14-290E v porovnání s křížencem Leguan/WKL91-138 o 10 % vyšší (32.6 %). Není to však statisticky významný rozdíl. Tyto výsledky jsou v rozporu s publikací Ayaly *et al.* (2001), která identifikovala statisticky průkazný rozdíl mezi potomstvy křížení TC14/Anza nesoucí gen *Bdv2* a to jak v dominantně homozygotním (TiTi), tak heterozygotním (Titi) uspořádání. V projevu symptomů se přítomnost genu rovněž ukázala pozitivně (o 0,2-1 stupeň), ne však tak výrazně jako v redukci výnosových prvků. Do určité míry je to způsobeno použitím tolerantní odrůdy Anza jako druhé rodičovské komponenty. Linie TC14-290E má původ z linie TC14. Není bohužel známa šlechtitelská historie této linie, nicméně vykazuje přítomnost sekvencí markerujících gen *Bdv2*. Odrůda Leguan nedosahuje sice takové úrovně odolnosti k BYDV v symptomatické reakci, jako odrůda Anza, ale podobají se v redukci HZK. Byl předpoklad výrazného zlepšení symptomatického projevu potomstev kombinace Leguan/TC14-290E. Ostatní publikace popisující využití translokace z *Th. intermedium* hodnotí odolnost získaných kříženců jen na základě redukce relativního množství viru v rostlině pomocí semikvantitativní ELISA (Banks *et*

al., 1994, Sharma *et al.*, 1994, Barloy *et al.*, 2003, Ploudre *et al.*, 1992, Chain *et al.*, 2005).

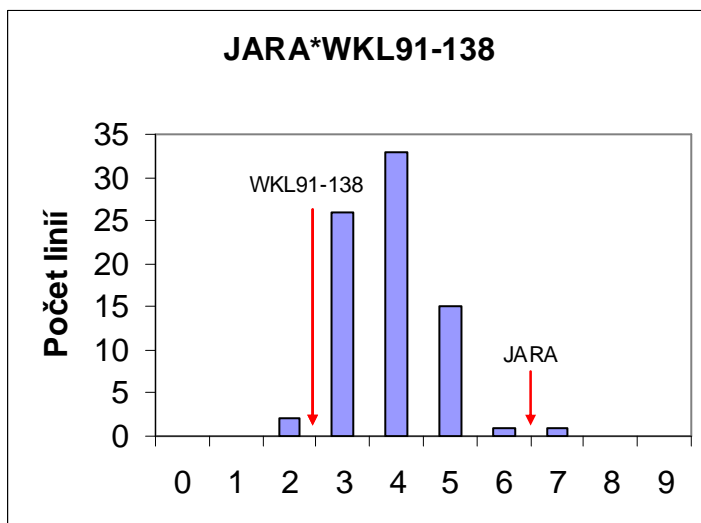
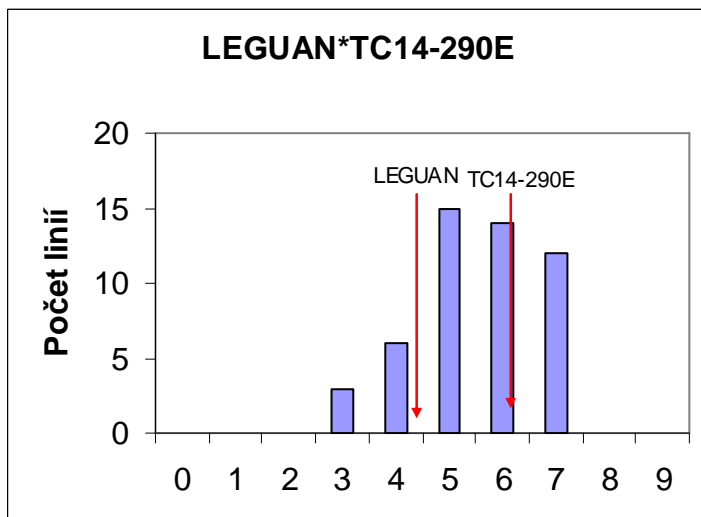
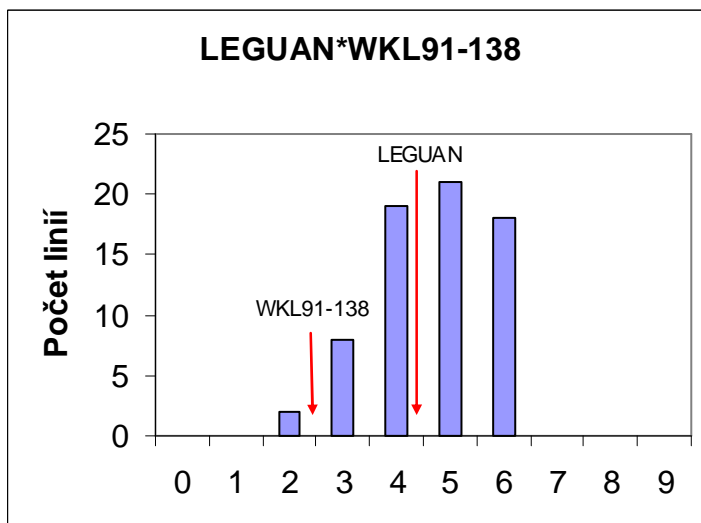
**Graf 5:** Průměrné symptomatické hodnocení (SH, 0-9, 0 = rezistentní) po infekci BYDV-PAV pro kombinace Jara/WKL91-138, Leguan/WKL91-138 a Leguan/TC14-290E v porovnání s výsledky rodičů.



**Graf 6:** Průměrné redukce hmotnosti zrna na klas (HZK-R, %) po infekci BYDV-PAV pro kombinace Leguan/WKL91-138 a Leguan/TC14-290E v porovnání s výsledky rodičů (pro kombinaci Jara/WKL91.138 nebylo hodnoceno).



**Graf 7:** Frekvence četností linií v určitém stupni odolnosti (SH, 0-9, 0=rezistentní) kombinací: Leguan/WKL91-138, Leguan/TC14-290E a Jara/WKL91-138 v generaci F3.



### 5.6.3. Navrhované změny v metodice testování na odolnost k BYDV

V průběhu testování na odolnost k BYDV se ukázaly chovy mšic jako hlavní limitující faktor testů, a to jak v počtu testovaných genotypů, tak i v proveditelnosti samotného testu, který je na infekci pomocí mšice střemchové závislý. Často se chovy potýkaly s napadením parazitickou vosičkou z čeledi mšicomarovitých (*Aphidiidae*), která významně omezovala počet vyprodukovaných infekčních mšic. Řešením bylo použití individuálních izolátorů pro jednotlivé květníky, což ještě více zvyšuje pracnost produkce vironosných mšic. Tento problém byl výraznější v chovech vedených ve VÚRV Ruzyně, kde jsou v sousedních kójích kontinuálně pěstovány rostliny. To umožňuje výskyt mšic po celý rok a s nimi i významný zdroj parazitoidů, které napadají produkční chov. V menší míře se parazitické vosičky vyskytovaly v chovech vedených na ŠS Stupice. Nízký výskyt byl pravděpodobně způsoben sezonním využitím skleníku, který v období červen-záčátek srpna je prostý vegetujících rostlin, což má sanační efekt.

Samotný proces infekce rostlin ve fytoškolce je velmi pracný a náročný na počet pracovníků (ručně se umísťuje 10-15 mšic na rostlinu). V případě podzimních infekcí se přidává i negativní faktor krátkého dne a nízkých teplot. V tomto období se zkracuje denní doba vhodná pro infekci (9:00 – 17:00) a mohou se vyskytnout noční mrazy. Je tedy důležité, aby mšice umístěné na rostliny ještě týž den začaly sát a spolehlivě přenesly virus. Rychlejší způsob umístění mšic k rostlinám by eliminoval tyto aspekty podzimní infekce. Comeau *et al.* (1984) popsal zařízení na rozptyl mšic, které úspěšně využívá při infekcích. Dle jeho osobního sdělení je schopen s pomocí dalších dvou pracovníků infikovat pokusy v rozsahu až 1 ha. Využití tohoto zařízení však vyžaduje větší množství mšic pro infekci z důvodu nižší přesnosti jejich umístění k rostlinám.

Z výsledků jednotlivých pokusů je patrné, že symptomatická reakce nepopisuje zcela odolnost k BYDV. Comeau *et al.* (2002) doporučuje sledovat co možná nejvíce parametrů a porovnávat je k neinfikované kontrole pro posouzení odolnosti k BYDV. To naráží na proveditelnost všech měření v běžné šlechtitelské praxi, protože již uvedené postupy v této práci jsou značně pracovně náročné.

Symptomatické hodnocení plní nezastupitelnou úlohu v rychlém posouzení odolnosti genotypu a vykazuje stabilitu mezi ročníky i lokalitami. Posuzují se barevné změny, zakrslost a redukce odnožování vůči neinfikované kontrole. Vliv jednotlivých



parametrů na celkovou odolnost genotypu může být různý a oddělené hodnocení parametrů: barevné změny (ve škále 0-9), zakrslost (výška rostlin, cm) a redukce odnožování (ve škále 0-4) by umožnilo přesnější posuzování jednotlivých genotypů.

Posuzování parametrů HZK a HTZ je zatíženo chybou, která je způsobena nestejnými podmínkami růstu rostlin (některé mají větší prostor pro svůj růst), ale i pokusníkem při odběru klasů (nepodaří se vždy vybrat hlavní odnož). Přesnějších výsledků by bylo dosaženo sklizní celých rostlin, což bylo v minulých letech i praktikováno, ale zvýšená pracnost tohoto postupu znemožňovala otestovat větší množství genotypů a neodpovídala významu této choroby pro praxi. Šíp *et al.* (1996) navíc uvádí nízkou redukci počtu odnoží po infekci BYDV v porovnání s parametry redukce počtu zrn v klase, hmotnosti zrna na klas a hmotnosti tisíce zrn (ty lze dopočítat z výsledků získaných zjednodušenou sklizní). Pro lepší posouzení výnosových parametrů je značně omezujícím faktorem kapacita chovu mšic, která neumožňuje infikovat více jak 80 rostlin každého genotypu na lokalitu a rok při plánovaném testování asi 140 genotypů.

Uvedené rozsahy umožňují testování na BYDV až v pozdějším stupni šlechtění pšenice, na úrovni mezistaničních zkoušek (obvykle 70 linií ozimé pšenice a 30 linií jarní pšenice). Při hodnocení materiálů na úrovni mezistaničních zkoušek se nejedná o vlastní šlechtitelský proces, ale o získání dalších informací o materiálech, které mohou být dále využity jako zdroje rezistence nebo v případě registračního řízení je to další cenná informace, která by se jinak nezískala (viz. SG-RUH 26-01). Využití těchto zdrojů je však omezené pro předpokládaný polygenní charakter založení odolnosti.

Podobné výsledky přinesly i analýzy populací štěpících v genu *Bdvl* (Ayala *et al.*, 2002). Comeau *et al.* (2002) doporučuje jako účelné testovat křížence s tolerantními typy již v F2 generaci a provádět silnou selekci na odolnost k BYDV. To je v rozporu s obecnými zvyklostmi šlechtění, kdy je selekce v takto raných generacích jen mírná. Z hlediska omezené kapacity chovů mšic by bylo výhodnější tyto infekce provádět na vybraných genotypech až v F3 generaci (určitá redukce počtu potomstev). Protože virus BYDV způsobuje v rostlinách různé stavy deficiencie živin, může být tento typ testů užitečný i k selekci na obecnou toleranci k stresovým faktorům. Souvislost odolnosti k BYDV se suchovzdorností a mohutností kořenového systému by mohla být předmětem dalšího výzkumu.

Je zřejmé, že introdukce jednotlivého genu pro dosažení požadované úrovně rezistence zřejmě nestačí. Na základě těchto zjištění konstatuji, že MAS zatím není

příliš opodstatněná, pokud nebude zaměřena na detekci většího počtu QTL lokusů. Analýzy ve štěpících populacích však ukázaly, že s využitím detekovaných zdrojů (po kombinaci s vhodným doplňkovým rodičem), může být dosaženo i výrazného pokroku. Využití genu *Bdv2* se neprojevilo jako efektivní, navíc markery, které spolehlivě identifikovaly přítomnost genu mají dominantní charakter (Slámová, 2009), což vyžaduje opakované analýzy DNA v dalších generacích. Je ovšem nutné znovu ověřit příznivou reakci linie P29 na infekci BYDV, která nese translokovanou část chromozomu z *Th. intermedium*. V případě využití této linie ve šlechtění by MAS byla jedinou možností jak selektovat potomstva a zvyšovat pravděpodobnost výskytu tolerantních genotypů.

## 6. ZÁVĚR

- 1) Prováděné pokusy měly velké rozsahy testovaných genotypů na úkor počtu opakování, neboť byly zaměřeny zejména na vyhledávání nových zdrojů odolnosti k BYDV, to vedlo k omezení statistické průkaznosti některých hodnocených parametrů, zejména vliv ročníku a jeho interakcí byl významný u testů ozimých pšenic,
- 2) Pro posouzení odolnosti k BYDV je nezbytné hodnotit nejen symptomatické hodnocení, ale i další výnosové parametry, protože nízké projevy symptomů ne vždy odpovídaly redukci HZK a HTZ; index náchylnosti SI se ukázal jako méně vhodný pro posuzování odolnosti k BYDV u ozimé pšenice,
- 3) Byla potvrzena odolnost k BYDV některých zdrojů u jarní pšenice (Anza, Maringa, WKL91-138, SG-S26-98 a Leguan) a ozimé pšenice (Rexia, Svitava, Sparta),
- 4) V sortimentu odrůd ozimé a jarní pšenice aktuálně není k dispozici rezistentní genotyp k BYDV-PAV, reakce odrůd se pohybuje mezi středně odolnou (OP - Rexia, Svitava, Meritto; JP – Leguan, Siracl) až velmi náchylnou (OP – Elpa, Drifter, Vlada, Apache, JP- Triso, Corso, Swedjett).
- 5) Byly detekovány nové zdroje odolnosti k BYDV pro ozimou pšenici, linie: PSR3628, SG-S17-03, SG-U3097, SG-RUH26-01 a odrůdy původem z USA: Roane, McCormic a Tribute; a pro jarní pšenici: Bárbaro-B a SG-S884-04,
- 6) Nebyl potvrzen efekt genu *Bdv2* na polní odolnost k českému izolátu BYDV-PAV, i když genotypy nesoucí tento gen vykazovaly nižší ELISA titr než genotypy bez genu, relativní nízké množství viru v klíčící rostlině po infekci virem zřejmě nepostačuje k polní odolnosti,
- 7) Genetické založení odolnosti linie WKL91-138 je polygenního charakteru, podobné založení lze očekávat i u dalších tolerantních genotypů, potomstva křížení s linií TC14-290E neměla očekávanou odolnost k BYDV-PAV, introdukce jednotlivého genu pro dosažení požadované úrovně rezistence zřejmě nestačí, MAS zatím není příliš opodstatněná, pokud nebude zaměřena na detekci většího počtu QTL lokusů, analýzy ve štěpících populacích však ukázaly, že s využitím detekovaných zdrojů (po kombinaci s vhodným doplňkovým rodičem), může být dosaženo i výrazného pokroku,
- 8) Nově byly testovány zdroje odolnosti ozimých pšenic, linie P29 (nesoucí gen *Bdv2*) měla mírnou reakci na infekci, tolerance byla zjištěna i u odrůdy Steele, výsledky je nutné ověřit dalšími testy,
- 9) Nízká kapacita chovu mšic a pracovně náročný postup infekce jsou hlavní omezující faktory při testování odolnosti k BYDV, v případě rozšíření kapacity chovů mšic by bylo možné provádět infekční testy na vybraných kombinacích v ranných generacích (F3), pro další testy pšenice doporučuji rozšířit hodnocení symptomů na jednotlivá hodnotící kritéria (barevné změny, zakrslost, redukce odnožování), hodnocení redukce HZK a HTS se ukázala jako důležitá doplňková kritéria.

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

Abbot, D., Wang, M.B., Waterhouse, P. (2002): A Single Copy of Virus-Derived Transgene-Encoding Hairpin RNA Confers BYDV Immunity. In: *BYDV Recent Advances and Future Strategies*, CIMMYT, 2002: 22-26.

Anderson, J.M., Bucholtz, D., Greene, A.E., Francki, M.G., Gray, S.M., Sharma, H., Ohm, H.W., Perry, K.L. (1998): Charakterization of wheatgrass-derived barley yellow dwarf virus resistance in a wheat alien chromosome substitution line. *Phytopathology* 88(8): 851-855.

Ayala, L., Van Ginkel, M., Keller, B., Henry, M., Singh, R., (2002): Identification of QTLs for BYDV tolerance in bread wheat. *Euphytica* 128: 249-259, 2002.

Ayala, L., Khairallah, M., Van Ginkel, M., Keller, B., Henry, M. (2001): Expression of *Thinopyrum intermedium*-Derived Barley yellow dwarf virus Resistance in Elite Bread Wheat Backgrounds. *Phytopatology*, Vol. 91, No. 1, 2001.

Balaji, B., Bucholtz, D.B., Ohm, H.W., Anderson, J.M. (2002): Real-Time RT-PCR Quantification of Yellow Dwarf Virus Accumulation and Defense Gene Expression. In: *BYDV Recent Advances and Future Strategie*, CIMMYT, 2002: 32-33.

Banks, P.M., Davidson, J.L., Bariana, H.S., Larkin, P.J., (1995a): Effects of barley yellow dwarf virus on the yield of winter wheat. *Austr. J. Agric. Res.*, 46:935-946.

Banks, P.M., Larkin, P.J., Bariana, H.S., Lagudah, E.S., Chen, R.I.S., Xu, H.J., Xin, Z.Y., Qian, Y.T., Zhou, X. M., Cheng, Z. M. (1995b): The use of cell culture for subchromosomal introgressions of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* to wheat, *Genome* 38: 395-405.

- Barbosa-Neto, J. F.; Siripoonwiwat, W.; O'Donoghue, L., Gray, S. M., Smith, D. M.; Kolb, F. L.; Gourmets, C., Brown, C. M., Sorrels, M. E. (2000): Chromosomal regions associated with barley yellow dwarf virus resistance in oat. *Euphytica*, Vol. 114, 1:67-76.
- Barloy, D., Etienne, C., Lemoine, J., Saint Ouen, Y., Jehier, J., Banks, P.M., Trottet, M. (2003): Comparison of TAF46 and Zhong 5 resistances to barley yellow dwarf virus from *Thinopyrum intermedium* in wheat. *Euphytica* 129: 361-369.
- Belvett, V.B., Sun, R.Y., Robinson, A.G. (1965): Observations on laboratory rearing of grain aphids (Homoptera: *Aphidiidae*). *Canadian Journal of Zoology* 43:619-622
- Bisnieks M., Kvarnheden A., Sigvald R., Valkonen J. P. T. (2004): Molecular diversity of the coat protein-encoding region of Barley yellow dwarf virus-PAV and Barley yellow dwarf virus-MAV from Latvia and Sweden. Brief Report, *Arch Virol* 149: 843-853.
- Brakke, M.K. (1971): Wheat streak mosaic virus. *Description of plant viruses*, No. 48. Kew, Surrey, UK, CMI/AAB
- Brault, V., Miller, W.A. (1992): Translational frameshifting mediated by a viral sequence in plant cells. *Prot. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2262-2266.
- Brown, L.M., Jedlinski, H. (1978): Registration of 13 germplasm lines of oats. *Crop Sci.*, 18:1098.
- Bruehl, G.W., Toko, H.V. (1957): Host range of two strains of the cereal yellow dwarf virus. *Plant Dis. Rep.* 41: 730-734.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L. (1996): Viruses of plants – descriptions and lists from the VIDE database. Walingford, UK, CAB International. 1484 pp.

- Burnett, P.A. (1987): Preface. In: *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. CIMMYT, Mexico DF, 1987.
- Burnett, P. A., Comeau, A., Qualset, C. O., (1995): Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf, In: *Barley yellow dwarf: 40 years of progress*.
- Caetano, V.R., Kitajima, E.W., Costa, A.S. (1977): Determinacao da correnca do virus do mosaico do trigo, transmitido pelo solo, no Brasil (*Triticum vulgare*). *Fitopatol. Bras.*, 2:70.
- Caetano, V.R., Marinho, V.L.A., Lin, M.T., Formiga, L.C.M., Kitajima, E.W. (1990): Ocorencia do virus do mosaico do capim bromo (brome mosaic virus) em trigo, no estado do Rio Grande do Sul. *Fitopatol. Bras.*, 15:363-365.
- Carroll, J.E., Bergstrom, G.C., Gray, S.M. (2002): Assessing the resistance of winter wheat to wheat spindle streak mosaic bymovirus. *Can. J. Plant Pathol.* 24:465-470
- Chain F., Riault G., Trottet M., Jacquot E. (2005): Analysis of accumulation patterns of Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV) in two resistant wheat lines. *European Journal of Plant Pathology* 113:343-355.
- Chain, F., Riault, G., Jacquot, E., Trottet, M. (2006): Field trial of serially passaged isolates of BYDV-PAV overcoming resistance derived from *Thinopyrum intermedium* in wheat, *Plant breeding* 125, 211-216.
- Chi, S.Y., Yi, S.S., Chang, Y.H., Yi, K.H., and Song, F.Y. (1979): Study on wheat breeding by distant hybridization between wheat and *Agropyron glaucum*. *Sci. Agric. Sin.* 2: 1-11.
- Chay, C., Smith, D.M., Vaughan, R., Gray, S.M. (1996): Diversity among isolates within the PAV serotype of barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 86:370-377.

- Chay, C.A., Gunasinge, U.B., Dinesh-Kumar, S.P., Miller, W.A., Gray, S.M. (1996): Aphid transmission and systemic plant infection determinants of barley yellow dwarf luteovirus – PAV are contained in the coat protein readthrough domain and 17-kDa protein, respectively. *Virology* 219:57-65.
- Chen, Q., Collin, J., Comeau, A., St-Piere, Fedak, G. (1998): Comparison of various sources of resistance to barley yellow dwarf virus in wheat-*Thinopyrum* amphiploid lines. *Can J. Plant Pathol.* 19: 414-417.
- Chen, J., Wilson, T.M.A. (1995): Taxonomy of rigid rod-shaped viruses transmitted by fungi. *Agronomie*, 15:421-426.
- Chen, J. (1993): Occurrence of fungally transmitted wheat mosaic viruses in China. *Ann. Appl. Biol.*, 123:55-61.
- Cheng, Z., Wu, M., He, X., Xu, L., Zhou, G., Waterhouse, P.M. (2002): Nucleotide Sequence Analysis of the BYDV-GPV Isolate Genome, and Transgenic Wheat Obtained via Pollen Tube Pathway. In: *BYDV Recent Advances and Future Strategie*, CIMMYT, 2002: 29-31.
- Chi, S.Y., Yi, S.S., Chang, Y.H., Yi, K.H., Son, F.Y. (1979): Studies on wheat breeding by distant hybridization between wheat and *Agropyron glaucum*. *Sci. Agr. Sinica* 2:1-11.
- Chrpová, J., Vacke, J, Škorpík, M, Šíp, V. (1998): Odolnost hlavních drobnozrných obilovin k viru žluté zakrslosti ječmene, VÚRV-Praha, 1998.
- Clover, G., Henry, C. (1999): Detection and discrimination of wheat spindle streak mosaic virus and wheat yellow mosaic virus using multiplex RT-PCR. *Europ. J. Plant Pathol.*, 105:891-896.
- Comeau, A. (1976): Elevage en masse, cueillette et epandage sur le terrain des pucerons (Aphidae) vecteurs du virus do nanisme jaune de l'orge (BYDV). *Canadian Entomology* 108: 373-378.

Comeau, A., St-Piere, C.A. (1982): Trials on the resistance of cereals to barley yellow dwarf virus (BYDV). Report no. 4. Res. Stat. Agric. Canada, Sainte-Foy, Quebec, Canada: 132s.

Comeau, A., Plourde, A. (1987): Cell tissue culture and intergeneric hybridization for barley yellow dwarf resistance in wheat, *Can J Plant Pathol* 9: 188-192.

Comeau, A.: (1986): Les cultivars de céréales résistants aux virus; le point de vue d'un sélectionneur. In : Les résistances génétiques des culture céréalières. Versailles, 23-24 Jan. 1986. Les Colloques de l'INRA no. 35 INRA Paris: 105-116.

Comeau, A. (1983): Aphid Rearing and Screening Methods for Resistance to Barley Yellow Dwarf Virus in Cereals, in: Brunett, P.A.: Barley Yellow Dwarf, CIMMYT Mexico, 1983: 60-71.

Comeau, A. (1992): Use of Artificial Inoculation with Viruliferous Aphids in Barley Yellow Dwarf Virus Research. In: *Barley Yellow Dwarf in West Asia and North Africa*, Aleppo, ICARDA 1992: 177-188.

Comeau, A., Makkouk, K.M., Ahmad, F., and Saint-Pierre, C.A. (1994). Bread wheat x *Agroticum* crosses as a source of immunity and resistance to the PAV strain of barley yellow dwarf luteovirus. *Agronomie* 2:153-160.

Comeau, A., Haber, S. (2002): Breeding for BYDV Tolerance in Wheat as a Basis for Multiple Stress Tolerance Strategy, in: Henry, M., McNab, A.: *BYDV Recent Advances and Future Strategie*, CIMMYT, 2002: 82-92.

Comeau, A., Collin, J., Cheour, F (1992): Barley Yellow Dwarf Virus Symptoms and ELISA Data in Relation to Biomass and Yield Loss In: *Barley Yellow Dwarf in West Asia and North Africa*, Aleppo, ICARDA 1992: 155-168.

Conti, M. (1987): Reoviruses of grasses and cereals and their vectors. In: Wilson & Nault, eds. *Proc. 2nd Int. workshop on leafhoppers and planthoppers of economic importance*, p. 93-100. London, CIE



Cox, T.S., Sorrells, M.E., Bergstrom, G.C., Sears, R.G., Gill, B.S., Walsh, E.J., Leath, S., Murphy, J.P. (1994): Registration of KS92WGRC21 and KS92WGRC22 hard red winter wheat germplasms resistant to wheat spindle-streak mosaic virus, wheat soilborne mosaic virus, and powdery mildew. *Crop Sci.*, 34:546.

Crasta, O. R.; Francki, M. G.; Bucholtz, D. B.; Sharma, H. C.; Zhang, J.; Wang, R.-C.; Ohm, H. W.; Anderson, J. M. (2000): Identification and characterization of wheat-wheatgrass translocation lines and localization of barley yellow dwarf virus resistance. *Genome*, 2000. 43(4):698-706.

D'Arcy, C.J. (1995): Symptomology and host range of barley yellow dwarf. In: D'Arcy, C.J., Brunet, P.A.: *Barley yellow dwarf: forty years of progress*. St. Paul: APS Press, 9-28.

D'Arcy C. J., Domier L. L. 2005. In: C. M. Fauquet *et al.* (eds) *Virus Taxonomy-Eighth Report of the ICTV*, Springer-Verlag, New York, pp. 891-900.

Dedryver, C.A., Riault, G., Tanguy, S., Le Gallic, J. F., Trottet, M., Jacquot, E. (2005): Intra-specific variation and inheritance of BYDV-PAV transmission in the aphid *Sitobion avenae*. *European Journal of Plant Pathology* 111:341-354.

Dostál, V., Středa, T., Chloupek, O. (2008): Výnos a kvalita zrna odrůd pšenice a ječmene v suchém roce 2007 v souvislosti s velikostí kořenového systému. In: Pšenice od genomu po rohlík, Aktuální poznatky doktorandů získané ve výzkumných laboratořích a na pokusných pozemcích. Kurent s.r.o., ISBN 978-80-87111-12-3, 156-163.

Dupré, P., Henry, M, Posadas, G., Pellegrineschi, A., Trottet, M., Jacquot, E. (2002): Genetically Engineered Wheat for Barley Yellow Dwarf Virus Resistance. In: *BYDV Recent Advances and Future Strategies*, CIMMYT, 2002: 27-28.

El Yamani, M. & Hill, J.H. (1990): Identification and importance of barley yellow dwarf virus in Morocco. *Plant Dis.*, 74:291-294.

Filichkin, S.A., Brumfield, S., Filichkin, T.P., Young, M.J. (1997): *In vitro* interactions of the aphid endosymbiotic SymL chaperonin with barley yellow dwarf virus. *J. Virol.* 71:569-77.

Ford, C.M., Paltridge, N.G., Rathjen, J.P., Moritz, R.L., Simpson, R.J., Symons, R.H. (1998): Rapid and informative assays for Yd2, the barley yellow dwarf virus resistance gene, based on the nucleotide sequence of a closely linked gene. *Mol. Breeding* 4:23-31.

Francki, M.G., Ohm, H.W., Anderson, J.M. (2001): Novel germplasm providing resistance to barley yellow dwarf virus in wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 52: 1375-1382.

Gildow, F.E. & Rochow, W.F. (1980): Role of accessory salivary glands in aphid transmission of barley yellow dwarf virus. *Virology* 104: 97-108.

Gildow, F.E. (1993): Evidence for receptor-mediated endocytosis regulating luteovirus acquisition by aphids. *Phytopathology* 83:270-77

Gill, B.S., Friebe, B., Wilson, D.L., Martin, T.J., Cox, T.S. (1995): Registration of KS93WGRC27 wheat streak mosaic virus resistant T4DL 4AI-number – 2S wheat germplasm. *Crop Sci.*, 35:1236-1237.

Golemboski, D.B., Lomonosoff, G.P., Zaitlin, M. (1990): Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:6311-6315.

Griffey, C.A.; Rohrer, W.L.; Pridgen, T.H.; Brooks, W.S.; Chen, J.; Wilson, J.A.; Nabati, D.; Brann, D.E.; Rucker, E.G.; Behl, H.D.; Vaughn, M.E.; Sisson, W.L.; Randall, T.R.; Corbin, R.A.; Kenner, J.C.; Dunaway, D.W.; Pitman, R.M.; Smid, A.E; Bockelman, H.E.; Gaines, C.; Long, D.L.; McVey, D.V.; Cambron, S.E.; Whitcher, L. (2005): Registration of „McCormic“ wheat, *Crop Sci.* 45:417-419

Griffey, C.A.; Rohrer, W.L.; Pridgen, T.H.; Brooks, W.S.; Chen, J.; Wilson, J.A.; Nabati, D.; Brann, D.E.; Rucker, E.G.; Behl, H.D.; Vaughn, M.E.; Sisson, W.L.; Randall, T.R.; Corbin, R.A.; Kenner, J.C.; Dunaway, D.W.; Pitman, R.M.; Smid, A.E.; Bockelman, H.E.; Gaines, C.; Long, D.L.; McVey, D.V.; Cambron, S.E.; Whitcher, L. (2005): Registration of „Tribute“ wheat, *Crop Sci.* 45:419-420

Griffey, C.A.; Starling, T.M.; Price, A.M.; Sisson, W.L.; Das, M.K.; Pridgen, T.H.; Vaughn, M.E.; Rohrer, W.L.; Brann, D.E. (2001): Registration of „Roane“ wheat, *Crop Sci.* 41:1359-1360

Griffey, C.A.; Rohrer, W.L.; Pridgen, T.H.; Brooks, W.S.; Vaughn, M.E.; Sisson, W.L.; Price, A.M.; Brann, D.E.; Smid, A.E. (2003): Registration of „Sisson“ wheat, *Crop Sci.* 43:1134-1135

Grumet, R. (1990): Genetically engineered plant virus resistance. *Hort. Science* 25:508-513.

Halbert S. E., Cornelly J., Lister R. M., Klein R. E. a Bishop G. W. (1992): Vector specificity of barley yellow dwarf virus serotypes and variants in southwestern Idaho. *Ann. Appl. Biol.* 121: 123-132.

Hariri, D., Prud'homme, H., Fouchard, M., Boury, G., Signoret, P., Lapierre, H. (2001): Aubianwheat mosaic virus, a new soil-borne wheat virus emerging in France. *Europ. J. Plant Pathol.* 107:625-631

Haley, S.D., Quick J.S., Martin T.J., Johnson J.J., Peairs F.B., Stromberger J.A., Clayshulte S.R., Clifford B.L., Rudolph J.B. (2003): Registration of ‘Avalanche’ Wheat, *Crop Science* 43:432

Harvey, T.L., Seifers, D.L., Martin, T.J., (1998): Effect of imidacloprid seed treatment on infestation of wheat curl mite (*Acari, Eryophyidae*) and the incidence of wheat streak mosaic virus. *J. Agri. Entomol.*, 15:75-81

- Henry, M. & Segura, J. (1999): Estimation of yield losses due to BYDV in wheat under artificial inoculation. *Phytopathology* 89:S33.
- Henry, M., Van Ginkel, M., Khairallah, M.(2001): Marker- Assisted Selection for BYDV Resistance. In: Wheat, *Barley Yellow Dwarf Newsletter*, D.F.: CIMMYT, Mexico.
- Honěk, A., Jarošík, V., Dixon, A. (2006): Comparing growth patterns among field populations of cereal aphids reveals factors limiting their maximum abundance. *Bulletin of Entomological Research* 96:269-277.
- Hohmann, U., Badeva, K., Busch, W., Friebe, B., Gill, B.S. (1996): Molecular cytogenetic analysis of *Agropyron* chromatin specifying resistance to barley yellow dwarf virus in wheat. *Genome* 39:336-347.
- Horáková, V., Beneš, F., Mezlík, T. (2005): Přehledy odrůd 2005: Obilniny, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86548-65-1.
- Jedlinski, H., Brown, C.M. (1965): Cross protection and mutual exclusion by three strains of barley yellow dwarf virus in *Avena sativa* L. *Virology* 26: 613-621.
- Jurečka, D., Beneš, F. (1997): Přehled odrůd obilnin 1997, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, PAX AGRIS, ISBN 80-86051-01-3.
- Jurečka, D., Beneš, F. (1998): Přehled odrůd obilnin 1998, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, PAX AGRIS, ISBN 80-86051-27-7.
- Jurečka, D., Beneš, F. (1999): Přehled odrůd obilnin 1999, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-49-8.
- Jurečka, D., Beneš, F. (2000): Přehled odrůd obilnin 2000, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-68-4.
- Jurečka, D., Beneš, F. (2001): Přehled odrůd obilnin 2001, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-94-3.

Jurečka, D., Beneš, F. (2002): Přehled odrůd obilnin 2002, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-99-4.

Jurečka, D., Horáková, V., Beneš, F. (2003): Přehled odrůd obilnin 2003, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-31-7.

Jurečka, D., Horáková, V., Beneš, F. (2004): Přehled odrůd obilnin 2004, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ISBN 80-86051-48-1.

Keith, L., P., Kolb, F.L., Sammons, B., Lawson, C., Cisar, G., Ohm, H. (2000): Yield effects of barley yellow dwarf virus in soft red winter wheat. *The American Phytopathological Society*, Vol. 90, 9:1043-1048.

Koch, N. & Huth, W. (1997): Interaction of barley yellow dwarf virus and *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. in winter wheat. *J. Phytopathol.* 145:425-428.

Koev, G., Mohan, B.R., Dinesh-Kumar, S.P., Torbert, K.A., Somers, D.A., Miller, W.A. (1998): Extreme Reduction of Disease in Oats Transformed with the 5' Half of the Barley Yellow Dwarf Virus-PAV Genome. *Phyto.*, 88: 1013-1019.

Kolb, F.L., Brown, C.M., Hedwings, A.D. (1991): Registration of seven spring oat germplasm lines tolerant to barley yellow dwarf virus, *Crop Sci.*, 31:240-241.

Kong, L., Anderson, J. M., Ohm, H. W. (2007): Segregation distortion in bread wheat of a *Thinopyrum intermedium* 7E segment carrying *Bdv3*. *Plant and Animal Genome*, 2007 XV, P276.

Kong L, Anderson, J.M., Ohm, H.W. (2006): Segregation distortion in bread wheat of *Thinopyrum intermedium* 7E segment carrying *Bdv3*. *Plant Breeding* (submitted).

Kumar, J.K. & Jarošová, J. (2008): Metodika molekulární determinace kmenů viru žluté zakrslosti ječmene. Výzkumný ústav rostlinné výroby, ISBN: 978-80-87011-85-0.

Lapierre, H., Courtillot, M., Kusiak, C., Hariri, D. (1985): Résistance au champ des blés en semis d'automne au virus de la mosaïque du blé (wheat soil-borne mosaic virus). *Agronomie*, 5:565-572

Larkin, P. J., Brettel, R. I. S., Banks, P. M., Appels, R., Waterhouse, P.M., Cheng, Z.M., Zhou, G.H., Xin, Z. Y., Chen, X. (1990): Identification, characterization and utilisation of sources of resistance to barley yellow dwarf virus. In: P.A. Burnett: *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*: 415-420. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico.

Larkin, P.J., Banks, P.M., Lagudah, E.S., Appels, R., Chen, X., Xin, Z.Y., Ohm, H.W., McIntosh, R.A. (1995): Disomic *Thinopyrum intermedium* addition lines in wheat with barley yellow dwarf virus resistance and with rust resistances. *Genome* 38: 385-394.

Larkin, P.J., Kleven, S., Banks, P.M. (2002): Utilizing Bdv2, the *Thinopyrum intermedium* source of BYDV Resistance, to Develop Wheat Cultivars. In: *BYDV Recent Advances and Future Strategies*, CIMMYT, 2002: 60-63.

Lindsten, K., Lindsten, B. (1999): Wheat dwarf – an old disease with new outbreaks in Sweden. *Z. PflSchutz.*, 106:325-332.

Ling, K.C., Tiongco, E.R., Flores, Z.M. (1983): Epidemiological studies of rice tungro. In: *Plant virus epidemiology*, eds. Blackwell scientific publications, Oxford.

Lister, R. M. a Ranieri, R (1995): Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. In: D'Arcy, C.J., Brunet, P.A.: *Barley yellow dwarf: forty years of progress*. St. Paul: APS Press, 29-53.

Liu, Y., Kang, Z., Buchenauer, H. (2006): Ultrastructural and Immunochemical Studies on Barley Yellow Dwarf Virus – Infection on Fusarium Head Blight, Caused by *Fusarium graminearum*, in Wheat Plants. *J. Phytopathol.* 154:6-15.

- Makkouk, K.M., Gulgam, W. (1989): Wheat wild relatives as possible sources of resistance to barley yellow dwarf virus. *Rachis* 8, 36-37.
- McGuire, P.E., Zhong, G.-Y., Qualset, C.O., Dvorak, J. (1995): Resistance to barley yellow-dwarf-virus disease in derivatives of crosses between hexaploid wheat and species of *Lophopyrum* (*Triticeae: Poaceae*). *Plant Breed.* 114: 287-290.
- McKirdy, S.J., Jones, S.J. (2002): Quantification of yield losses caused by barley yellow dwarf virus in wheat and oats. *The American Phytopathological Society*, Vol. 86, 7:769-773.
- Miller, W.A., Rasochová, L. (1997): Barley Yellow dwarf viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 35: 167-90, 1997.
- Miller, W.A., Dinesh-Kumar, S.P., Paul, C.P. (1995): Luteovirus gene expression. *Crit. Rev. Plant Sci.* 14:179-211.
- Miller, W.A., Waterhouse, P.M., Gerlach, W.L. (1988): Sequence and organization of barley yellow dwarf virus genomic RNA. *Nucleic Acid Res.* 16:6097-6111.
- Ohm, H., Anderson, J., Sharma, H., Ayala-Navarrete, L., Bucholtz, D. (2002): Spring Oat and Soft Winter Wheat Lines with BYDV Resistance. In: Henry, M., McNab, A.: *BYDV Recent Advances and Future Strategies*, CIMMYT, 2002: 58-59.
- Ohm, H.W., Anderson, J.M., Sharma, H.C., Ayala, L., Thompson, N., Uphaus, J.J. (2002): Registration of Yellow Dwarf Viruses Resistant Wheat Germplasm Line P961341. *Crop. Sci.* 45:805-806.
- Ohm, H.W., Anderson, J. (2005): Utilization and performance in wheat of yellow dwarf virus resistance transferred from *Thinopyrum intermedium*. in: Buck, H.T., Nisi, J.E., Salmon, N. (2007) *Wheat production in stressed environments*, Springer, 149-152
- Oswald, J.W. and Houston, B.R. (1953): The yellow dwarf virus of small grain. *Adv. Agronom.* 13: 217-248, 1953.

- Pelletier, G.J., Comeau, A., Couture, L., (1974): Interactions entre le virus de la feuille rouge de l'avoine (BYDV), *Septoria avenae* et *Puccinia coronata* sur *Avena sativa*. *Phytoprotection* 55:9-12.
- Pike, K. S. (1990): A review of barley yellow dwarf virus grain yield losses. In: Burnett, P.A. (Ed): *World Perspectives on Barley Yellow Dwarf*. CIMMYT, Mexico: 368-382.
- Ploudre, A., Comeau, A., St-Piere, C.A. (1992): Barley Yellow Dwarf Virus Resistance in *Triticum aestivum* x *Leymus angustus* Hybrids. *Plant Breed.* 108: 97-103.
- Plumb, R.T., Lennon, E.A., Gutteridge, R.A. (1981): Barley yellow dwarf virus (BYDV). *Report of Rothamsted Experimental Station for 1981*. Part 1, 195-198.
- Plumb, R.T. (2002): Viruses of Poaceae: a case history in plant pathology. *Plant Pathology* 51:674-682.
- Poscai, E., Kobza, S., Murányi, I., Szunics, L. (1991): Brome mosaic virus infection in different cereal breeding materials. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 26:207-212.
- Power, A.G., Gray, S.M. (1995): Aphid transmission of barley yellow dwarf viruses: interactions between viruses, vectors, and host plants, In: D'Arcy, C.J., Brunet, P.A.: *Barley yellow dwarf: forty years of progress*. St. Paul: APS Press, 259-289.
- Quiroz, A. & Niemeyer, H.M. (1997): Activity of enantiomers of sulcaton on apterae of *Rhopalosiphum padi*. *Journal of Chemical Ecology*, Vol 24, 2:361-370.
- Ramirez, I., Zerene, M., Cortazar, R. (1992): The barley yellow dwarf program in Chile. In: *Barley yellow dwarf in West Asia and North Africa*, Aleppo, Syria, ICARDA.
- Raniery, R., Lister, R.M., Burnett, P.A. (1993): Relationships between barley yellow dwarf virus titre and symptoms expression in barley. *Crop. Sci.* 33:968-973.



- Rasmuson, D.C. & Schaller, C.W. (1959): The inheritance of resistance in barley to the yellow-dwarf virus. *Agron. J.*, 51:661-664.
- Rastgou, M., Khatabi, B., Kvarnheden, A., Izadpanah, K. (2005): Relationships of Barley yellow dwarf virus-PAV and Cereal yellow dwarf virus-RPV from Iran with viruses of the family *Luteoviridae*. *European Journal of Plant Pathology* 113:321326.
- Rochow W. F., Muller I. (1971): A fifth variant of barley yellow dwarf in New York. *Plant Dis.* 55: 874-877.
- Rumjaun, A., Jahier, J., Trottet, M., Lapierre, H. (1996): Identification of potential source of complete resistance to soilborne wheat mosaic virus in wheat - *Thinopyrum intermedium* addition line. *J. Phytopathol.*, 144:135-138.
- Saifers, D.L., Martin, T.J., Harvey, T.L., Harber, S., Haley, S.D. (2006): Temperature Sensitivity and Efficacy of Wheat streak mosaic virus Resistance Derivet from CO960293 Wheat. *Plant Dis.*, 90:623-628.
- Sánchez-Sánchez, H, Henry, M., Cárdenas-Soriano, E., Alvizo-Villasana, H.F., (2001): Identification of wheat streak mosaic virus and its vector *Aceria Tosichella* in Mexico. *Plant Dis.*, 85:13-17.
- Sebesta, E.E., Young, H.C., Porter, D.R., Webster, J.A. (1995): Registration of two wheat streak mosaic virus-resistant wheat germplasms. *Crop Sci.*, 35:1238.
- Shaller, C.W., Qualset, C.O., Rutger, J.N. (1964): Inheritance and linkage of the YD2 gene conditioning resistance to barley yellow dwarf virus disease in barley. *Crop. Sci.* 4:544-548.
- Shaller, C.W., Qualset, C.O. (1980): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus. In: *Proc. Third int. Wheat Conf.*, Madrid, Spain, University of Nebraska Agric. Experiment. Station, public. MP 41: 528-541.

- Shaller, C.W. (1984): The genetics of resistance to barley yellow dwarf virus in barley. In: *Barley Yellow Dwarf. A Proceedings of the Workshop*. CIMMYT, Mexico:60-71.
- Sharma, H.C., Gill, B.S., Uyemoto, J.K. (1984): High levels of resistance in *Agropyron* species to barley yellow dwarf and wheat streak mosaic viruses. *Phytopathol.* 110: 143–147.
- Sharma, H.C., Ohm, H.W., Lister, R.M., Foster, J.E., Shukle, R.H. (1989): Response of wheatgrasses and wheat x wheatgrass hybrids to barley yellow dwarf virus. *Theor. Appl. Genet.* 77: 369-374.
- Sharma, H.C., Ohm, H.W., Perry, K.L. (1997): Registration of barley yellow dwarf virus resistant wheat germplasm line P29. *Crop Sci.* 37: 1032-1033.
- Sight, R.P., Burnett, P.A., Albarran, M., Rajaram S. (1993): *Bdv1*: a gene for tolerance to barley yellow dwarf virus in bread wheats. *Crop Sci.* 33:231-234.
- Slámová, L., Chrpová, J., Vejl, P., Veškrna, O. (2009): Evaluation of genetic sources of tolerance of common wheat against BYDV and CYDV. *Agriculture – Journal for Agricultural Science*, 2009 – in printing, ISSN 0551-3677.
- Slámová, L. (2009): Molekulární charakteristika donorů genů rezistence vůči BYDV u rodu *Triticum*. ČZU - Disertační práce, v řešení - nepublikováno.
- Slykhuis, J.T. (1973): Characteristic of suppression of wheat spindle streak mosaic by nitrogen fertilizers. *Can. J. Plant Sci.*, 53:477-483.
- Slykhuis, J.T. (1976): Wheat spindle streak mosaic virus. *Descriptions of plant viruses*, No. 167. Kew, Surrey, UK, CMI/AAB.
- Šíp, V., Vacke, J., Škorpík, M. (1995): Reakce českých a slovenských odrůd pšenice ozimé na infekci virem žluté zakrslosti ječmene. *Genet. a Šlecht.* 31(4):253-266.

Šíp, V., Radek, J., Škorpík, M., Vacke, J. (1997): Comparison of different index estimates of BYDV resistance in cereals. In: *Advanced in Biometrical Genetics*. Tenth Meeting Eucarpia, Sect. Biometrics in Plant Breeding, Poznan, Poland: 46.

Šíp, V., Chrpová, J., Vacke, J., Nováková, I. (2001): Possibility of exploitation of the detected BYDV resistance genes in barley breeding. In: *Proceedings of the 50th Anniversary Conference "Crop Science on the Verge of the 21st Century - Opportunities and Challenges"*, Research Institute of Crop Production, Prague, 11-13 September, 2001 pp. 60-61.

Šíp, V., Chrpová, J., Vacke, J., Ovesná, J. (2004): Possibility of exploiting the *Yd2* resistance to BYDV in spring barley breeding. *Plant Breeding* 123:24-29.

Starý, P. (1996): Occurrence of anholocyclic strains of pest aphids on winter barley and wheat in South Moravia, Czech republic. *Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 69: 149-152.

Stoutjesdijk, P.; Kammholz, S. J.; Kleven, S.; Matsay, S.; Banks, P. M.; Larkin, P. J. (2001): PCR-based molecular marker for the *Bdv2 Thinopyrum intermedium* source of barley yellow dwarf virus resistance in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2001. 52(11-12):1383-1388.

Sunenson, C.A. (1955): Breeding for resistance to barley yellow dwarf virus in barley. *Agronomy Journal* 47:283.

Vacke, J. (1961): Wheat dwarf virus disease. *Biol. Plant*, 3:228-233.

Vacke, J. (1964): Žlutá zakrslost ječmene v ČSSR, *Rostl. výr.*, 10: 859-868.

Vacke, J. (1988): Reakce některých odrůd ozimé pšenice a ozimého ječmene na infekci virem žluté zakrslosti ječmene. In: *Záv. Výzk. zpr.: Výzkum a diagnostika rostlinných virů a chorob příbuzné etiologie, ochrana hospodářsky významných zemědělských plodin*: 30-33.

- Vacke, J. (1988): Výskyt viru žluté zakrslosti ječmene na ozimých obilovinách v ČSSR. Sbor. ref. XI. Čsl. konf. ochr. rostlin, Nitra: 203-204, 1988.
- Vacke, J. (1989): Viry na pšenici v ČSSR a možnosti testování odolnosti ozimé pšenice vůči ekonomicky nejvýznamějším virům. Sbor. Ref. z por. o šlecht. pšenice na rezist. proti chorobám. Stupice, 1989: 127-134.
- Vacke, J. (1991): Výskyt virů na obilovinách a jejich škodlivost. Sborník referátů z odborného semináře: Aktuální problémy ochrany polních plodin, 100-109, 1991.
- Vacke, J., Šíp, V., Škorpík, M. (1992): Effect of barley yellow dwarf virus (BYDV) on cereals. *Annual Report, RCIP, Prague*: 17.
- Vacke, J., Šíp, V., Škorpík, M. (1997): The resistance of small-grain cereal crops to barley yellow dwarf virus. Proc. of Confer.: Prot. of Cereal Crops against Harmfull Organismus, Kroměříž: 76-79, 1997.
- Vacke, J., Šíp, V., Škorpík, M. (1996): Response of Selected spring Wheat Varieties to the Infection with Barley Yellow Dwarf Virus. *Genet. a Šlecht.* 32, 1996 (2): 95-106.
- Vacke, J. (2002): K nebezpečnému výskytu viróz na obilninách v letošním roce, *Rostlinolékař*, 5, 2002: 6-7.
- Vallega, V., Rubies-Autonell, C., Turina, M., Ratti, C., Contoli, S. (1999): Reactions of durum wheat cultivars to infection by SBWMV grow in northern Italy during 1995-96. *Z. PflKrankh. PflSchutz.*, 106:284-290.
- van den Heuvel, J.F.J.M., Verbeek, M., van der Wilk, F. (1994): Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leafroll virus by *Myzus persicae*. *J. Gen. Virol.* 75:2559-65.
- Wang, S. & Miller, W.A. (1995): A sequence located 4,5 to 5 kilobases from the 5' end of the barley yellow dwarf virus (PAV) genome strongly stimulates translation of uncapped mRNA. *J. Biol. Chem.* 270:13446-13452.

Wang, R.R.C., Zhang, X.Y. (1996): Characterization of the translocated chromosome using fluorescence in situ hybridization and random amplified polymorphic DNA on two *Triticum aestivum Thinopyrum intermedium* translocation lines resistant to wheat streak mosaic virus or Barley Yellow Dwarf Virus. *Chromosome Research* 4:583-587.

Wen, F., Lister, R.M., Fattouh, F.A. (1991): Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus. *J. Gen. Virol.* 72:791-799.

Weisz, R., Tarleton, B., Murphy, J.P., Kolb, F.L. (2005): Identifying Soft Red Winter Wheat Cultivars Tolerant to Barley yellow dwarf virus. *Plant Disease*, Vol. 89, 2:170-176.

Weise, M.V. (1987): *Compendium of wheat diseases*, 2nd ed. St Paul, MN, USA, APS Press. 112 pp.

Xin, Z. Y, Zhang, Z. Y., Chen, X., Lin, Z .S., Ma, Y. Z., Banks, P. M., Larkin, P. J. (2001): Development and characterization of common wheat- *Thinopyrum intermedium* translocation lines with resistance to barley yellow dwarf virus, *Euphytica* 119:161-165.

Xin, Z.Y., Zhang, Z.Y., Lin, Z.S., Chen, X., Xu, H.J., Ma, Y.Z., Wu, D.L., Xu, Q.F., Du, L.P., Banks, P.M., Larkin, P.J. (2002): Advances in Breeding Wheat for BYDV Resistance Using Biotechnology. In. Henry, M., McNab, A.: *BYDV Recent Advances and Future Strategies*, CIMMYT, 2002: 67-69.

Xu, S. J., Banks, P. M., Dong, Y. S., Zhou, R. H., Larkin, P. J. (1994): Evaluation of Chinese Triticeae for resistance to barley yellow dwarf virus (BYDV), *Genet. Res. Crop Evol.* 41:35-41.

Ye, R., Zheng, T., Chen, J., Diao, A., Adams, M.J., Yu, S., Antoniw, J.F. (1999): Characterization and partial sequence of a new furovirus of wheat in China. *Plant Pathol.*, 48:379-387.

Zhang, Z., Xin, Z., Ma, Y., Chen, X., Xu, Q., Lin, Z. (1999): Mapping of BYDV resistance from *Thinopyrum intermedium* in wheat background by molecular markers. *Science in China, Ser. C* 42:663-669.

Zhang, Z.Y, Xin, Z.X., Lin, Z.S., Chen, X., Wang, X.P. (2000): Identification of molecular markers for the *Thinopyrum intermedium* chromosome 2Ai-2 with resistance to barley yellow dwarf virus. *Acta Botanica Sinica* 42:1051-1056.

Zhang, Z.I., Xin, Z.X., Larkin, P.J. (2001): Molecular characterization of a *Thinopyrum intermedium* group 2 chromosome (2Ai-2) conferring resistance to barley yellow dwarf virus. *Genome* 44: 1129-1135.

Zhang, Z., Xu, J., Xu, Q., Larkin, P., Xin, Z. (2004): Development of novel PCR markers linked to the BYDV resistance gene Bdv2 useful in wheat for marker-assisted selection, *Theor. Appl. Genet* 109:134-14.

Zhu, S., Kolb, F.L., Kaeppler, H.F. (2003): Molecular mapping of genomic regions underlying barely yellow dwarf tolerance in cultivated oat (*Avena sativa L.*). *Theor. Appl. Genet.* 106:1300-1306.

## **Odkazy na použité webové stránky**

Státní rostlinolékařská správa ČR (SRS)

[www.srs.cz](http://www.srs.cz)

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ)

[www.ukzuz.cz](http://www.ukzuz.cz)

MAS-Wheat- Bringing Genomics to the wheat fields - Virus resistance. Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) - Bdv2

<http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/BYDV/BYDV-methods.htm>

Výzkumný ústav rostlinné výroby (VÚRV)

[www.vurv.cz](http://www.vurv.cz)

United States Department of Agriculture - Agriculture Research Service

[www.ars.usda.gov](http://www.ars.usda.gov)

## 8. SEZNAM ZKRATEK

<b>+ssRNA</b>	pravotočivá jednovláknová ribonukleová kyselina (positive sense single strand RNA)
<b>BBCH</b>	růstové fáze dle: Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie
<b>BMV</b>	brome mosaic virus
<b>BSMV</b>	barley stripe mosaic hordeivirus
<b>BWYV</b>	beet western yellow virus
<b>BYDV</b>	barley yellow dwarf virus
<b>CAP</b>	5' konec tvořený neobvyklou 5'-5'trifosfátovou vazbu (cap - čepička)
<b>CIMMYT</b>	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
<b>CP</b>	plášťový protein (coat protein)
<b>CP-RTD</b>	plášťový protein prodloužený o RTD
<b>CSIRO</b>	Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation
<b>CYDV</b>	cereal yellow dwarf virus
<b>DNA</b>	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleotic acid)
<b>ELISA</b>	enzyme linked immunosorbent assay
<b>h</b>	heritabilita
<b>HTZ</b>	hmotnost tisíce zrn
<b>HZK</b>	hmotnost zrna na klas
<b>ICARDA</b>	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
<b>MAS</b>	markerem asistovaná selekce (marker assisted selection)
<b>MP</b>	pohybový protein (movement protein)
<b>MRDV</b>	maize rough dwarf fijivirus
<b>mRNA</b>	mediátorová RNA
<b>OBDV</b>	oat blue dwarf virus
<b>OMV</b>	oat mosaic virus
<b>ORF</b>	otevřený čtecí rámec (open reading frame)
<b>OSDV</b>	oat sterile dwarf fijivirus
<b>PEMV</b>	pea enation mosaic virus
<b>PLRV</b>	potato leafroll luteovirus
<b>QTL</b>	lokus kvantitativního znaku (quantitative trait locus)
<b>RAPD</b>	náhodně amplifikovaná polymorfní DNA (random amplified polymorphic DNA)
<b>RBSDV</b>	rice black-streaked dwarf fijivirus
<b>RDV</b>	rice dwarf phytoreovirus
<b>RFLP</b>	polymorfismus délky restrikčních fragmentů (restriction fragment length polymorphism)
<b>RNA</b>	ribonukleová kyselina (ribonucleotic acid)
<b>RTD</b>	pročtený úsek RNA se stop kodónem (readthrough domain)
<b>RT-PCR</b>	polymerázová řetězová reakce po reverzní transkripci
<b>RTV</b>	rice tungro virus
<b>SBWMV</b>	soil-borne wheat mosaic virus
<b>SCAR</b>	sequence characterized amplified region
<b>SCRDC</b>	Soils and Crops Research and Development Centre



<b>SDV</b>	soybean dwarf virus
<b>sgRNA</b>	subgenomická RNA
<b>SH</b>	symptomické hodnocení
<b>SI</b>	index náchylnosti (susceptibility index)
<b>SRS</b>	Státní rostlinolékařská správa
<b>ÚKZÚZ</b>	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
<b>USDA-ARS</b>	United States Department of Agriculture - Agriculture Research Service
<b>VÚRV</b>	Výzkumný ústav rostlinné výroby
<b>WDV</b>	wheat dwarf virus
<b>WSMV</b>	wheat streak mosaic virus
<b>WSSMV</b>	wheat spindle streak mosaic virus
<b>WWMV</b>	winter wheat mosaic virus
<b>WYMV</b>	wheat yellow mosaic bymovirus