

Agrotest fyto, s.r.o.
Mendelova univerzita v Brně

Autoři:

Ing. Marta Balounová
Ing. Kateřina Vaculová, CSc.
Prof. Ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc.
Dr. Ing. Pavlína Hrstková

Metodika byla certifikována Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským v Brně vydáním osvědčení č. 197-1/KÚ/UKZUZ/2011.

Metodika je poskytována bezplatně a je veřejně přístupná na adrese www.vukrom.cz

Metodika křížení – ječmen, pšenice

Certifikovaná metodika

Kroměříž, Brno - 2010

Dedikace:

Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR při řešení projektů MSM2532885901 a 1M0570.

OBSAH

I) CÍL UPLATNĚNÉ METODIKY.....	4
II) VLASTNÍ POPIS METODIKY.....	4
II.1. Úvod.....	4
II.2. Kombinační křížení.....	5
II.3. Metodika.....	6
II.3.1 Křížení ječmene.....	6
II.3.1.1 Stavba klásku ječmene.....	6
II.3.1.2 Setí.....	6
II.3.1.3 Příprava mateřské rostliny.....	8
II.3.1.4 Opylení.....	11
II.3.1.5 Sklizeň.....	12
II.3.2 Křížení pšenice.....	14
II.3.2.1 Stavba klásku pšenice.....	14
II.3.2.2 Setí.....	15
II.3.2.3 Příprava mateřské rostliny.....	16
II.3.2.4. Opylení.....	18
II.3.2.5 Sklizeň.....	20
II.3.2.6 Křížení na odstřiženém stéble.....	20
III) SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ.....	21
IV) POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY.....	21
V) EKONOMICKÉ ASPEKTY.....	21
VI) SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY.....	23
VII) SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE..	24

I) CÍL UPLATNĚNÉ METODIKY

Cílem metodiky je shrnout a popsat postupy křížení ječmene a pšenice seté, které jsou základem kombinačního křížení v procesu tvorby nových perspektivních odrůd a genetických zdrojů s vysokou přidanou hodnotou.

II) VLASTNÍ POPIS METODIKY**II.1. Úvod**

Ječmen (*Hordeum vulgare* L.) a pšenice setá (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paol.) patří spolu s kukuřicí a rýží mezi nejdůležitější plodiny světa.

Kulturní ječmen je diploidní ($2n = 14$), podle plodnosti klásků dvouřadý nebo víceřadý (zejména šestiřadý) s formou jarní nebo ozimou. Původně byl ječmen pěstován a používán pro lidskou výživu. V současné době je jeho využití směřováno hlavně do oblasti výroby sladu a krmení hospodářských zvířat. Přímá spotřeba ječmene pro lidskou výživu je ve většině hospodářky vyspělých států velmi nízká. Z nepotravinářských směrů využití ječmene lze jmenovat zejména chemický a papírenský průmysl. Ječmen je spolu s rýží oblíbeným modelovým organismem pro studium genomu obilovin, především pro jeho diploidní charakter, schopnost samoopylení, velké chromozomy, vysoký stupeň přirozené nebo mutacemi jednoduše indukované variability a vysokou adaptabilitu (Kleinhofs a Graner 2001).

Pšenici lze považovat za nejstarší obilninu, která se rozšířila na většinu severní i jižní polokoule a která je jak celosvětově, tak v ČR nejvýznamnější obilninou. Pšenice setá patří do skupiny hexaploidních druhů, má 3 genomy (A, B a D), 42 somatických chromozómů ($n = 21$) a obdobně jako ječmen se vyskytuje v jarní a ozimé formě. Poměrně vysoký obsah bílkovin v zrnu ji dělá nejdůležitějším zdrojem pro lidskou výživu. Zrno pšenice je nejvýznamnější surovinou pro výrobu mouky k využití v pekárenství, pečivárenství i těstárenství. Používá se rovněž ke krmení hospodářských zvířat, pro výrobu alkoholických nápojů a škrubu, v nepotravinářském průmyslu k výrobě bioethanolu a sláma či zrno i jako alternativní zdroj energie.

Druhá diverzita rostlin je na jedné straně relativně značná z hlediska počtu žijících druhů, ale na druhé straně poměrně omezená z hlediska

počtu druhů, které člověk může využít ve svůj prospěch. Proces klasického šlechtění vychází povětšinou z vnitrodruhové diverzity s cílem zkombinování vlastností, které zlepšují užitnou hodnotu odrůd, a ochrany genetické základny pro tvorbu nových odrůd určité plodiny.

Techniky sloužící k začlenění požadovaných genů do kulturní odrůdy jsou velice rozmanité, přičemž základním postupem je kombinační křížení, které nejlépe probíhá na úrovni homologních chromozómových sad.

Základem tvorby odrůd samosprašných rostlin je selekce nejlepších jedinců a jejich postupné převedení na linie v procesu homozygotizace. Během homozygotizace se ustavuje určitá rovnováha bloků genů a genotyp se stabilizuje. Výsledkem procesu homozygotizace je linie - a při záměrném šlechtění tedy odrůda liniového typu, která je charakteristická vysokou stabilitou a uniformitou. Odrůdy tohoto typu jsou pro ječmen a pšenici typické.

Genetické zdroje rostlin představují základní potenciál pro šlechtění jakékoliv plodiny z důvodu přítomnosti požadovaných specifických vlastností. Ceněny jsou zejména genetické zdroje s geny rezistence k původcům chorob a s geny tolerance vůči škůdcům a škodlivému působení abiotických složek vnějšího prostředí. Ovšem také je velice důležité o tyto zdroje pečovat, aby nedocházelo k jejich devastaci. Ochrana genetických zdrojů a genetické diverzity jako takové je zakotvena i v legislativních normách České republiky. Zákon č. 148/2003 Sb. definuje podmínky, za jakých jsou konzervovány a využívány genetické zdroje rostlin a mikroorganismů.

II.2. Kombinační křížení

Křížení je nejrozšířenější šlechtitelskou metodou jak vytvořit nové genotypy (odrůdy) s požadovanými vlastnostmi. Kombinační křížení představuje tradiční a nejpřirozenější postup získání variabilního potomstva, jehož cílem je získat rostliny, které v sobě kombinují požadované vlastnosti obou rodičů. Křížení lze z hlediska počtu genotypů, které se podílejí na výsledném hybridním potomstvu, rozdělit na jednoduché (dva genotypy) nebo složité. Složité křížení probíhá ve dvou a více letech v závislosti na počtu rodičovských komponent.

II.3. Metodika

Křížení obilovin obecně spočívá v opylení květů mateřské rostliny pylem otcovské rostliny. Samotná technika křížení může být rozdílná podle druhu plodiny, podle stavby a morfologie květů (květenství), podle biologie kvetení a oplodnění. Vždy však musí splňovat základní požadavky (Graman a Čurn 1998a):

- zabránit opylení vlastním pylem, což se řeší včasným odstraněním prašníků mateřské rostliny (kastrací),
- zabránit nežádoucímu a nekontrolovanému opylení, což se řeší izolací kastrováných květů,
- zajistit opylení (oplození) funkčním pylem zvolené otcovské rostliny.

II.3.1 Křížení ječmene

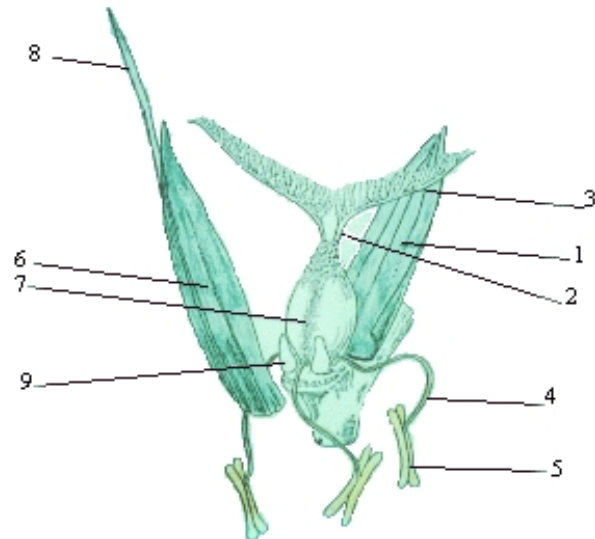
Podstatou křížení je cílený přenos pylu z otcovské rostliny na bliznu mateřské rostliny. Technika křížení podrobně popsána v uvedené metodice je vhodná jak pro křížení v polních, tak i ve skleníkových podmínkách (volná půda, nádobové pokusy, apod.).

II.3.1.1 Stavba klásku ječmene

Květenstvím ječmene je složený klas. Osu klasu tvoří článkované klasové větve. Na článkách klasového větve vyrůstají jednověté klásky (Obr. 1, Obr. 2). Každý klásek je chráněn dvěma plevami a je tvořen větší pluchou (pokud je klas osinatý, je plucha zakončená osinou) a menší pluškou. Mezi pluchou a pluškou jsou generativní orgány, a to semeník se dvěma pérovitými bliznami a třemi tyčinkami. Každá tyčinka je tvořena nitkou a prašníkem. Na bázi semeníku vyrůstají dvě lodikuly, které v době květu před opylením zduří a napomáhají rozevření kvítku.

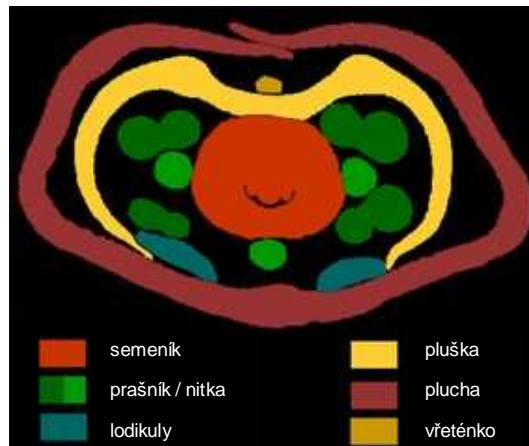
II.3.1.2 Setí

Vybrané materiály by měly být sety dle výsevního plánu tak, aby bylo možno vždy dobře manipulovat (kastrovat, opylovat) s kteroukoli rostlinou uvnitř parcely., tzn. set do řádků max. 15 zrn. Je vhodné také mezi jednotlivými rodičovskými genotypy vynechávat 1-2 řádky, aby nemohlo dojít k jejich záměně. Velikost jednotlivých parcel rodičů závisí na zamýšleném rozsahu křížení. Pro zvýšení pravděpodobnosti nalezení vhodného klasu se zralým pylem se osvědčilo otcovský (popř. i mateřský materiál) vysévat v několika termínech.



Zdroj: <http://www.pssc.ttu.edu/pss1321/Web%20topics/cpa2.htm>

Obr. 1 Morfologie klásku ječmene: 1-pluška, 2-čnělka, 3-blizna, 4-nitka, 5-prašník, 6-plucha, 7-semeník, 8-osina, 9-lodikuly



Zdroj: 3d-barley.ipk-gatersleben.de/ser-car-dev1.htm

Obr. 2 Schéma klásku ječmene (řez)

II.3.1.3 Příprava mateřské rostliny

Prvním krokem k provedení úspěšného křížení je kastrace mateřské rostliny, kdy se odstraní samčí reprodukční orgány ze všech klásků. Kastrace se provádí ještě v době, kdy je klas krytý listovou pochvou, a proto jsou reprodukční orgány velmi jemné a citlivé k mechanickému poškození. Každá odrůda je však jedinečná a k odhadu vhodnosti klasu ke kastraci je potřeba víceletých zkušeností. Při předčasné kastraci se zvyšuje riziko poškození reprodukčních orgánů, zejména blizny, a naopak při opožděné kastraci může nastat nežádoucí samoopylení.

Pomůcky: malé nůžky, pinzeta, jmenovka, tužka, izolátor (cca 15x8 cm), kancelářská spona, fix

Je vhodné, aby malé nůžky byly zakončené ostrou špičkou. Pinzeta by neměla být příliš dlouhá a měla by být na konci zakončená ploškou, aby nedocházelo k přerézávání tyčinek při jejich odstraňování. Jmenovka by měla být z tvrdého papíru a měla by být opatřena pevnou nití pro její bezpečné a trvalé umístění na stéble těsně pod klasem. V důsledku vlivu slunečního záření a vlhkosti může dojít k vyblednutí záznamu na jmenovce nebo izolátoru, a proto se osvědčilo použití obyčejné tužky nebo fixu, odolného působení slunce a vody. Izolační materiál nesmí být těžký, aby klas příliš nezatížil, nesmí propustit pyl, musí umožnit výměnu plynů a odolávat vlhku, popř. i nepříznivým vlivům prostředí, zejména pokud křížíme v polních podmínkách (Vaculová et al. 1985). Jestliže byly použity izolátory z voskového nebo pergamenového papíru, nebyly nalezeny odlišnosti v počtu nasazených zrn. Ovšem v případech, kdy byl použit izolátor ze sulfátového papíru, byl počet nasazených zrn o 23,8% nižší (Wells 1962). Rovněž použití celofánových izolátorů se ukázalo jako méně výhodné, v důsledku nižší hmotnosti hybridních obilí (Vaculová et al. 1985).

Postup: Klas vhodný ke kastraci se obvykle nachází ve fázi před počátkem metání (DC 49), kdy jsou osiny již viditelné – mají délku 3-5 cm v závislosti na odrůdě, a po vybalení z listové pochvy by osiny měly zůstat víceméně vzpřímeny. Vybraný klas se zastříhne cca 1 cm nad předpokládaným posledním kláskem (Obr. 3-A) a klas se opatrně vybalí z praporcového listu (Obr. 3-B). Poté se klas opět zkrátí tak, že se ponechá max. 12–16 (často se uvádí pouze 10) prostředních nejlépe vyvinutých klásků (Obr. 3-C). U víceřadého ječmene je potřeba odstranit všechny boční řady klásků tak, aby zůstaly pouze dvě řady středních klásků. Také u dvouřadého ječmene musí být odstraněny boční klásky a

klásky na bázi klasu, které jsou někdy schopné vytvářet fertillní pyl (Obr. 3-D).

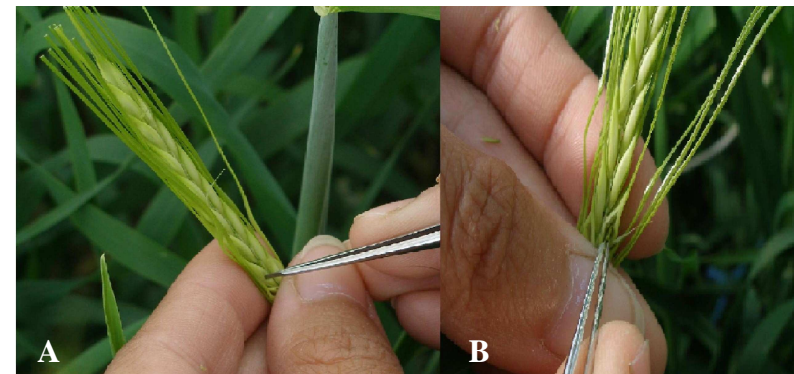
Pomocí pinzety se v horní polovině kvítek svisle nařízne (Obr. 4-A) a opatrně se vyjmou 3 tyčinky (Obr.4-B) tak, aby se nepoškodila blizna. Vždy musí být odstraněny celé tři tyčinky.

Nejlepším postupem je odstraňovat tyčinky od horních kvítků směrem dolů postupně na jedné straně klasu a stejně pokračovat i z druhé strany klasu. Eliminuje se tak riziko vynechání klásku a ponechání tyčinek uvnitř kvítků.

Je důležité, aby ještě před kastrací nebo během ní nedošlo k samoopylení, tudíž aby pyl mateřské rostliny ještě nebyl zralý (tyčinky jsou zelené či začínají žloutnout), což se může zjistit jednoduchým testem zralosti (nezralosti) pylu, při kterém se tyčinky opatrně rozemnou mezi prsty, přičemž pokud jsou tyčinky zralé, dochází třením k uvolňování pylových zrn, která jako jemný žlutý prášek ulpívají na prstech.



Obr. 3 Příprava mateřské rostliny pro kastrování: A – zastřížení klasu, B – vybalení klasu z praporcového listu, C – ponechání potřebného počtu klásků, D – odstranění bočních klásků



Obr. 4 Kastrace mateřské rostliny: A – naříznutí pluchy klásku pomocí pinzety, B – odstranění tří tyčinek z kvítku



Obr. 5 Izolátor zajištěný na klasu pomocí kancelářské spony a jmenovka s označením mateřského rodiče a datem kastrace

Počet kastrováných klasů se řídí záměry šlechtitele, počtem vyšetých mateřských a otcovských rostlin, návazností vývoje klasů, resp. synchronizací doby kvetení plánovaných rodičovských odrůd, apod.

Po odstranění tyčinek ze všech kvítků se na stéblo pod klas umístí jmenovka s datem kastrace a názvem popř. číslem parcely mateřského rodiče a celý klas se zabalí zpět do listové pochvy. Na vykastrovaný klas se umístí izolátor (Obr. 5), aby nedošlo k opylení cizím pylem z vnějšího prostředí. Izolátor se na klasu zajistí kancelářskou sponkou.

Osvědčilo se označit i jednotlivé izolátory tak, že se na izolátor nakreslí značka (pro každý den, kdy se kastrovalo, je značka jiná), což v případě velkého množství kříženců na jedné parcele s mateřským rodičem později při opylování výrazně usnadňuje nalezení klasu, který je třeba opylit.

II.3.1.4 Opylení

Opylení se provádí v době, kdy je blizna zralá a je schopná přijmout pyl (podle lepkavosti povrchu, pérovitosti blizny, apod.). Poměrně častým problémem je špatná synchronizace kvetení rodičovských rostlin, což může být překonáno několika způsoby:

- je vhodné otcovský materiál, popř. i mateřský materiál, vysévat v několika termínech, čímž se zvyšuje šance na lepší synchronizaci kvetení rodičů,
- je možné klasy, které mají již žluté ale ještě neprášící tyčinky, odstříhnout a umístit je do nádoby s teplou vodou, čímž se docílí rychlejší dozrání pylových zrn; je ovšem důležité tyto klasy dobře označit, aby nedošlo k jejich záměně,
- rychlejšího dozrání pylu se rovněž dosáhne "rozbalením klasu", tedy jeho vyjmutím z listové pochvy

Pomůcky: malé nůžky, pinzeta, tužka

Postup: Opylení se provádí za 2-3 dny po kastraci mateřské rostliny. Pokud klas otcovské rostliny není dostatečně zralý pro opylení, je možné provést opylení později, nejdéle však do 7-8 dnů po kastraci. Je ovšem nutné počítat se sníženou schopností blizny k přijetí pylu a tedy reálným rizikem snížení počtu vyvinutých hybridních zrn.

Vhodný klas se zralým pylem se hledá pomocí výše popsaného testu zralosti pylu (viz. II.3.1.3). Zralost tyčinek se může měnit v závislosti na poloze v klasu, přičemž nejzralejší se nacházejí v kvítcích umístěných

uprostřed klasu. Vybraný klas z otcovské rostliny se ustříhne a přenos zralých pylových tyčinek je prováděn manuálně.

Z mateřské vykastrované rostliny se odstraní izolátor a klas se vyjme z pochvy listu. Nyní se z otcovské rostliny vyjmou tyčinky a otvorem po řezu při kastraci se po jedné až po dvou opatrně vkládají nad bliznu do jednotlivých klásků mateřské rostliny (Obr. 6).



Obr. 6 Opylování - vkládání tyčinek do kvítku mateřské rostliny

Pylová zrna pak volně padají na bliznu a zhruba do pěti minut po ulpění na blizně nabírají vlhkost a začínají klíčit. Po vložení tyčinek do všech kvítků se na jmenovku zapíše datum opylení a název, popř. číslo parcely otcovského genotypu a na rostlinu se opět umístí izolátor s označením, že je daný klas již opylený. Pinzeta by měla být během opylování vždy omyta při každé změně otcovského materiálu.

II.3.1.5 Sklizeň

Pomůcky: nůžky, velké sáčky (podle počtu nakřížených klasů), tužka, malé papírové sáčky (podle počtu hybridních zrn, např. 7x12 cm)

Postup: Izolátory ponecháme na klasech po celou dobu vegetace. Zrání hybridních zrn můžeme kontrolovat i průběžným sejmutím jednotlivých izolátorů. Sklizeň zralých klasů probíhá tak, že se klasy i s izolátory z

jednotlivých mateřských rostlin manuálně ostříhají. Osvědčil se postup, kdy se klasy ze stejných "matek" sklízají vždy do jednoho sáčku s nadepsaným názvem, resp. parcelním číslem mateřského genotypu, čímž se zajistí možnost případné opravy chyb, které mohou v důsledku nepozornosti vzniknout během kastrování (např. chyby v názvu nebo neoznačení mateřského genotypu na jmenovce).

Po sklizni všech nakřížených klasů a kontrole označení mateřského genotypu se klasy vyjmou z izolátorů a roztřídí se podle kombinací křížení. Dále se pracuje pouze s hybridními zrny jedné kombinace najednou. Zrna se z klasů ručně vydrolí, spočítají, vloží do papírového sáčku, na který se nadepíše rok křížení, název (parcelní čísla) mateřského a otcovského genotypu (případně označení křížené rostliny) a počet hybridních semen.

V případě, že pro křížení byly použity homozygotní rodičovské genotypy, lze provést orientační kontrolu správnosti provedeného křížení i při hodnocení fenotypických projevů hybridního osiva F₁ generace v průběhu následné vegetace. V souladu se genetickými zákony bude F₁ uniformní a štěpení se projeví až u sklizeného zrna a následně rostlin v F₂ generaci.

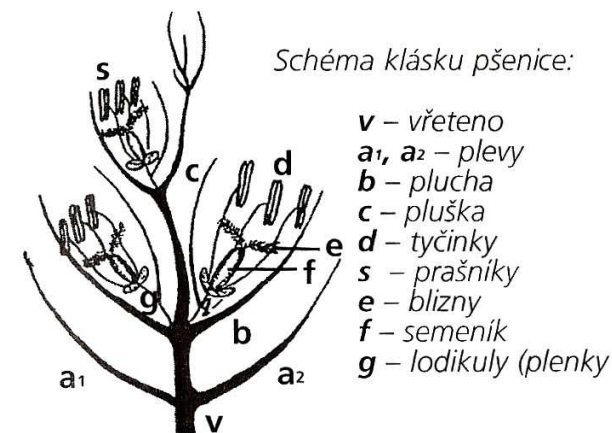
II.3..2 Křížení pšenice

Podstatou křížení u pšenice je, stejně jako u ječmene, cílený přenos pylu z otcovské rostliny na bliznu mateřské rostliny. Technika křížení se od ječmene poněkud liší z důvodu odlišné morfologie květu. Uvedené postupy jsou doporučeny k provádění jak ve skleníkových, tak i polních podmínkách. Postup křížení v laboratorních podmínkách je popsán v samostatné kapitole (viz. samostatně II.3.2.6.).

II.3.2.1 Stavba klásku pšenice

Květenstvím pšenice seté je složený klas, jehož osou je větveno, na něž svou bází přisedají jednotlivé klásky. U pšenice na každý článek klasového větvene nasedá jeden vícekvětý klásek. Klásek tvoří dvě bezosinné plevy a příslušný počet (2 až 5 i více) kvítků (Obr. 8), které obaluje z vnější strany plucha, z vnitřní pluška. U osinatých klasů z pluchy vyrůstá osina. Ze všech kvítků v klásku se většinou plně vyvinou 2 spodní, ostatní zasychají.

Dalšími součástmi kvítku (Obr. 7) je pestík a tři tyčinky. Tyčinky se skládají z nitek a prašníků. Pestík sestává ze dvou pérovitých blizen, pod nimiž se nachází semeník. Na spodní straně semeníku jsou umístěny dvě lodikuly, které zajišťují otevírání kvítku pro jeho opylení (Zimolka et al. 2005).



Zimolka et al. (2005)

Obr. 7 Morfologie klásku pšenice



Martinek et al. (2005)

Obr. 8 Morfologické zvláštnosti klasu pšenice: A – normální struktura klasu pšenice, B – gigas (zvýšený počet článků klasového větene), C – klas s vyšším počtem kvítků v klásku, D – víceřadý klas (vyšší počet klásků na jeden článek klasového větene), E – větvený klas

II.3.2.2 Setí

Samotný výsev rodičovských genotypů lze provádět obdobně jako v případě křížení ječmene (viz. II.3.1.2). V případě setí genotypů pšenice s odlišnou raností nebo plánovaným křížením jarních a ozimých forem pšenice je nutné zvažovat rozdíly v nástupu fáze kvetení podle toho, zda se rodičovské materiály vysévají v polních nebo skleníkových podmínkách. Z tohoto důvodu se rovněž osvědčil výsev otcovských genotypů ve více časových termínech.

II.3.2.3 Příprava mateřské rostliny

Úprava mateřských rostlin spočívá v ponechání dobře vyvinutých klasů a v odstranění přebytečných odnoží. Stejně jako u ječmene je potřeba zvolený mateřský materiál vykastrovat 1-3 dny před dozráním pylu. Za příznivých podmínek začíná kvetení pšenice, na rozdíl od ječmene, až po vymetání klasu z pochvy posledního listu.

Jako nejvhodnější doba pro kastraci a opylování se uvádí dopoledne nebo navečer s příhodnějšími teplotními podmínkami a také pro nejmenší pravděpodobnost nežádoucího opylení pylem ze vzduchu (Graman a Čurn 1998b).

Pomůcky: malé nůžky, pinzeta, jmenovka, tužka, izolátor (cca 25x40 cm), kancelářská spona

Malé nůžky by měly být, stejně jako v případě ječmene, zakončené ostrou špičkou. Pinzeta by neměla být příliš dlouhá a měla by být na konci zakončená ploškou, aby nedocházelo k přezávání tyčinek při manipulaci s nimi. Jmenovky je potřeba vyrobit z tvrdého papíru a opatřit je nití pro snadné uchycení na stéblo pod klasem. Osvědčily se izolátory vyrobené z pergamenového papíru nebo z kombinace pergamenového papíru a průhledné prodyšné fólie. Průhledná fólie následně umožňuje snadnou kontrolu klasů a vývoje hybridních zrn.

Postup: Výběr klasu vhodného ke kastraci závisí, stejně jako při kastraci ječmene, na odborných zkušenostech a znalosti genotypů, vybraných ke křížení. Na rozdíl od křížení ječmene se pod jeden izolátor umísťuje více vykastrovaných klasů. Proto se mateřské rostliny jedné plánované kombinace vybírají pokud možno co nejbližší u sebe, aby mohly být umístěny pod společný izolátor. Obvykle se pro zajištění dostatečného počtu rostlin v další generaci kastruje minimálně 5 klasů. Uvedený počet se koriguje podle šlechtitelského záměru a obdobně jako u ječmene se řídí návazností vývoje klasů, resp. synchronizací doby kvetení plánovaných rodičovských odrůd, apod.

Tyčinky by měly být zbarveny zeleně až světle zeleně, nikdy však nesmí mít krémovou či žlutou barvu (Obr. 9 – C,D). Pérovité blizny by měly být zřetelně viditelné a měly by zasahovat do zhruba čtvrtiny délky kvítku. Vývoj generativních orgánů se však může lišit v závislosti na odrůdě. Jeden až tři z bazálních klásků mohou mít nefunkční kvítky, a proto se pomocí nůžek či pinzety odstraňují. Pokud se pracuje s materiály, které jsou osinaté, jsou odstraněny i osiny.

Nejprve se vybraný klas (Obr. 9 – A) vyjme z pochvy listu (Obr. 9 – B). Prostřední kvítek (popř. kvítky) se odstraní následujícím způsobem: klas se jemně, ale pevně uchopí jednou rukou; střední (centrální) kvítek (kvítky) se sevrou pinzetou a tahem k sobě se odstraní. Vždy se ponechávají pouze dva krajní kvítky, které jsou nejvíce vyvinuté. Na každé straně větene se takto připraví cca 5 klásků (každý již obsahuje 2 kvítky). Poté se nůžkami odstříhne vrchní část kvítku a z každého ponechaného kvítku se vyjmou tři tyčinky (Obr. 9 – C, D), které se nacházejí mezi pluchou a pluškou. Je potřeba dbát na to, aby všechny tyčinky byly vyjmuty celé a aby neopatrným zacházením nebyla poškozena blizna. Nejlépe je vyjmout všechny tři tyčinky najednou, čímž se eliminuje možné poškození kvítku.



Obr. 9 Kastrace pšenice: A – klas vhodný pro kastraci, B – vybraný klas vybalený z listové pochvy, C – klas se zastříženými klásky, D – klásek s ponechanými dvěma kvítky, z nichž byly vyjmuty tyčinky

Vykastrované klasy se opatří jmenovkou s datem kastrace a názvem popř. číslem parcely mateřského genotypu. Jmenovka se umísťuje na stéblo těsně pod klas. Poté se klasy zakryjí pomocí izolátoru a kancelářské spony.

II.3.2.4. Opylení

K optimální tvorbě pylových zrn u pšenice dochází v rozmezí 16-20°C a relativní vlhkosti 70-75% (DeVries 1971). Extrémní teploty a vlhkosti zabraňují uvolňování pylu a snižují životnost pylu. Vykastrované klasy (Obr. 10 – A) se opylují 2-4 dny po kastraci. Doba závisí na průběhu počasí a na stádiu vývoje blizny, ve kterém se nacházela v době kastrace.

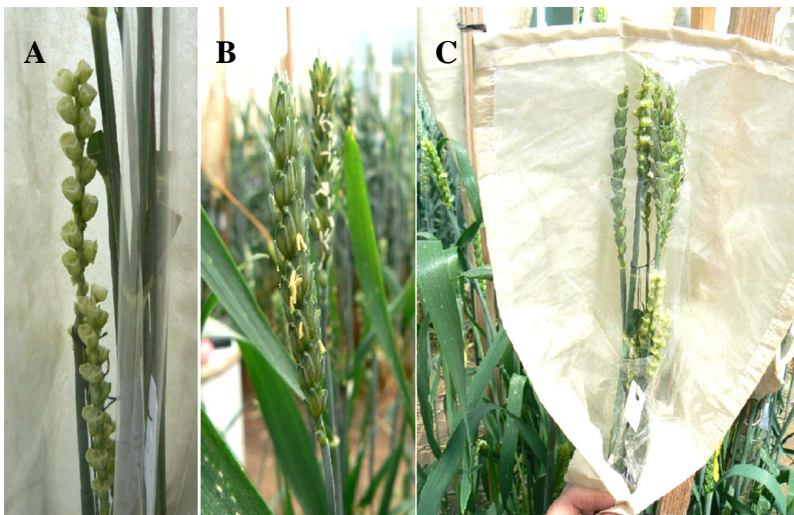
Pomůcky: nůžky, (popř. zkumavka s vodou, tyč, gumička)

Postup: Nejčastěji se používají dva různé způsoby opylení vykastrovaných klasů pšenice. Prvním je, že se k mateřským klasům pod izolátorem umístí vybrané otcovské klasy s prášičími tyčinkami. Při druhém způsobu opylení se k mateřským rostlinám do půdy svisle umístí tyč, na kterou se pomocí gumičky upevní zkumavka s vodou. Vybrané otcovské klasy (Obr. 10 – B) se ustříhnou, přičemž se délka se upraví podle výšky mateřské rostliny. Poté se z mateřských rostlin odstraní izolátor a do připravené zkumavky s vodou se otcovské klasy umístí cca 2-5 cm nad mateřské klasy. Uvolněná pylová zrna volně dopadají na blizny mateřských klasů a dochází k opylení.

Po opylení se na jmenovku na stéble se dopíše datum opylení a název, popř. číslo parcely otcovského materiálu. Poté se otcovské i mateřské klasy zakryjí společně izolátorem (Obr. 10 – C).

Je vhodné v době dozrávání pylu s izolátory lehce potřepávat, aby se urychlilo uvolňování pylu. Pokud se použijí zkumavky, je nutné do nich doplňovat vodu po celou dobu přítomnosti otcovských rostlin v izolátoru.

Pokud jsou izolátory z částečně průhledného materiálu, lze již od 5. dne po opylování rozeznat vyvíjecí se obilky a tak je možné ověřit, zda bylo opylení úspěšné (Obr. 11). Pokud jsou izolátory z pergamenového nebo jiného neprůhledného papíru, je nutné provádět kontrolu vývoje hybridních zrn průběžným sejmutím izolátorů. Po kontrole nasazení zrn se otcovské rostliny odstraní a mateřská rostlina se opět přikryje izolátorem.



Obr. 10 Opylování pšenice: A – vykastovaný mateřský klas, B – vhodný otcovský klas, C – mateřské a otcovské klasy pod izolátorem



Obr. 11 Vytvářející se obilky (pšenice jednozrnka)

II.3.2.5 Sklizně

Samotný postup sklizně nakřížených klasů je stejný jako v případě ječmene (viz. II.3.1.5).

II.3.2.6 Křížení na odstřiženém stéble

Zajímavou metodou je křížení pšenice na odstřiženém stéble, které se může použít tehdy, když v poli nejsou pro klasickou hybridizaci příznivé podmínky.

Princip uvedené metody spočívá v tom, že se křížení v laboratorních podmínkách provádí na klasech odstřižených s částí stébla (cca 35 cm dlouhou). Tyto klasy jsou kultivovány až do plného vývoje zrna v cukerném roztoku s přidáním účinných látek, zabraňujících kvašení roztoku, hnití odstřižených stébel a rozvoji plísní na stéble (Smoček et al. 1981).

Postup přípravy roztoku popsali např. Inagaki et al. (1997), kteří použili první dva dny roztok obsahující 40 g/l sacharózy, 8 ml/l kyseliny siřičité (6% SO₂) a 100 mg/l 2,4-D. Poté použili roztok obsahující pouze sacharózu a kyselinu siřičitou.

Vybrané klasy mateřského genotypu se po ustřížení vykastují postupem popsaným výše (viz. II.2.2.3) a jsou vloženy do nádoby s výše zmíněným roztokem.

Opylení se provádí za 3-4 dny po kastraci, podle fáze vývoje blizny. V zásadě existují dva možné způsoby opylení (Smoček et al. 1982):

- a) volné opylení na poli – nádoby s vykastovanými mateřskými klasy jsou umístěny v porostu otcovských rostlin;
- b) opylení v laboratorních podmínkách – vybrané otcovské klasy jsou odstřiženy i s částí stébla tak, aby jejich délka byla v průměru o 15 cm větší než stébla s mateřskými klasy; poměr mateřských a otcovských klasů by měl být 1:2; připravené otcovské klasy se vloží spolu s mateřskými do izolátoru; pro dosažení lepšího výsledku opylení je vhodné s izolátory nejméně jednou za den zatrást. Nádoby s klasy se umísťují do místnosti s teplotou mezi 18 - max.22°C a izolátory se z klasů odstraňují až je již viditelné vyvíjející se zrno.

III) SROVNÁNÍ NOVOSTI POSTUPŮ

Vydávaná metodika je první metodikou zaměřenou na popis techniky křížení ječmene a pšenice. Technika křížení základních obilovin není novým postupem v pravém smyslu slova, avšak v dostupné české literatuře neexistuje ucelený a komplexní návod, jak celý postup křížení provádět.

Metodika soustřeďuje soubor poznatků, doporučení a především technických zkušeností s prováděním křížení jak na intaktních rostlinách, tak i v případě pšenice i na odstříženém stéble.

IV) POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY

Metodika byla uplatněna v průběhu tvorby nových odrůd ječmene jarního i ozimého i prebreedingu linií ječmene jarního a ozimého a pšenice ozimé s vyšší přidanou hodnotou, které našly uplatnění ve šlechtění odrůd těchto obilovin na šlechtitelských stanicích v ČR i bývalém Československu. Uplatnění bylo realizováno zejména v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s.r.o.

Dále byly postupy uvedené v metodice součástí přípravy materiálů ječmene a pšenice pro řešení řady výzkumných projektů poskytovatelů MZe ČR a MŠMT ČR.

Metodika je určena začínajícím šlechtitelům, uplatní se ale rovněž ve výzkumu a při výuce na specializovaných středních školách i zemědělských univerzitách.

Metodika bude přístupná na webové stránce: www.vukrom.cz

V) EKONOMICKÉ ASPEKTY

Náklady na zavedení postupů uvedených v předložené metodice nejsou vysoké (odhadem cca 2500,- Kč jako počáteční investice při hybridizaci 100 klasů) a v podstatě budou shodné jak pro uživatele této metodiky, tak pro pracovníka, který se bude snažit o provedení hybridizace bez podrobnějších odborných znalostí a zkušeností.

Podstatný rozdíl bude ovšem v ekonomickém přínosu nebo případné ztrátě uživatele. V procesu křížení může dojít ke dvěma významným finančním újmám. Za prvé v procesu prováděného křížení, kdy v důsledku nerespektování biologických a vegetačních rytmů rostliny nebude úspěšná kastrace nebo nedojde k opylení klasu. Tyto ztráty

představují v hrubém odhadu finance potřebné k úhradě mzdy pracovníků, kteří křížení provádějí. Druhým a finančně mnohem výraznějším momentem může být skutečnost, že se v kastrováném klasu vyvine zrno, avšak nepůjde o křížence, nýbrž v důsledku samoopylení se bude jednat o zrno z mateřské odrůdy. Vzhledem k tomu, že současné odrůdy ječmene a pšenice jsou morfologicky v zrnu velmi podobné, lze tuto skutečnost pozorovat nejdříve ve štěpící F2 generaci, což znamená, že s daným materiálem byly všechny operace prováděny zbytečně a představují finanční ztrátu. Její rozsah se může zvýšit, pokud se uvedená skutečnost zjistí po více letech práce s takovým "hybridním" materiálem.

Ekonomický přínos dané metodiky pro uživatele lze tedy spatřovat v minimalizaci možné finanční ztráty, způsobené nesprávným postupem v procesu tvorby nových materiálů ječmene nebo pšenice (dle kvalifikovaného odhadu může tvořit taková průměrná ztráta až 100 tis. Kč ročně).

VI) SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

DeVries, A. P. (1971): Flowering biology of wheat, particularly in view of hybrid seed production – A review. *Euphytica* 20:152-170.

Graman, J., Čurn, V. (1998a): Šlechtění rostlin (obecná část). Skripta ZF JU, České Budějovice, 1998, 133 s.

Graman, J., Čurn, V. (1998b): Šlechtění rostlin (obiloviny, luskoviny). Skripta ZF JU, České Budějovice, 1998, 194 s.

Inagaki, M. N. et al. (1997): Use of Pollen Storage and Detached-tiller Culture in Wheat Polyploid Production through Wide Crosses. *Cereal Research Communications*, 25, 1997, p. 7-13, ISSN 0133-3720.

Kleinhofs, A., Graner, A. (2001): An integrated map of the barley genome. *Advances in Cellular and Molecular Biology of Plants* 6: 187-200, 2001.

Martinek, P. et al. (2005): Gene resources of wheat (*Triticum aestivum* L.) with different arrangement of spikelets in spike. 7th International Wheat Conference, Mar del Plata, 2005.

Smoček, J., Psotová, H. (1981): Vhodný roztok pro pěstování klasů na odstříženém stéble. *Sborník ÚVTIZ, Genet. a šlecht.*, 17, 1981, s. 309-311.

Smoček, J. et al. (1982): Ear Crossing on Detached Stem. *Scienta agriculturae bohemoslovaca*, 14, Praha 1982, p. 109-111.

Starling, M.L. (1980): Barley in: Hybridization of crop plants. Eds, Walter R. Fehr and Henry H. Hadley; Published 1980 by American Society of Agronomy: Crop Science Society of America in Madison, Wis.

Wells, D.G. (1962): Notes on the hybridization of barley and wheat. *Crop Sci.* 2, 1962, p. 177-178.

Zimolka, J. et al. (2005): Pšenice – pěstování, hodnocení a užití zrna. Nakladatelství Profi Press, s.r.o., Praha, str.10, ISBN 80-86726-09-6.

Zimolka, J. et al. (2006): Ječmen – formy a užitkové směry v České republice. Nakladatelství Profi Press, s.r.o., Praha, 2006, str.10, ISBN 80-86726-09-6.

http://mcm.yc.cz/skola/slechteni_a_semenarstvi/prednasky/slechteni-prednasky_zs_2006-sedlak.doc

**VII) SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY
METODICE**

Lekeš, J., Vaculová, K., 1988. Metody tvorby genetických zdrojů krmného ječmene. Záv. zpráva VŠÚO Kroměříž, 1988, 36 s.

Smoček, J., Psotová, H. (1981): Vhodný roztok pro pěstování klasů na odstříženém stéble. *Sborník ÚVTIZ, Genet. A šlecht.*, 17, 1981, s. 309-311.

Smoček, J. et al. (1982): Ear Crossing on Detached Stem. *Scienta agriculturae bohemoslovaca*, 14, Praha 1982, p. 109-111.

Vaculová, K., Zavadil, M., Zavadilová, J., Sehnalová, E., 1985. Možnosti využití tří druhů klasových izolátorů. *Úroda*, 7, 1985, příloha šlechtitelů a semenářů.

Oponenti:

Ing. Petr Svačina
PLANT SELECT, s.r.o., Hrubčice 111, 798 21 Bedihošť
E-mail: petr.svacina@limagrain.com

Ing. Vladimíra Horáková
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Národní odrůdový úřad,
Hroznová 2, 656 06 Brno
E-mail: vladimira.horakova@ukzuz.cz

Ing. Marta Balounová
Ing. Kateřina Vaculová, CSc.
Prof. Ing. Jaroslava Ehrenbergerová, CSc.
Dr. Ing. Pavlína Hrstková

Metodika křížení – ječmen, pšenice

Vydal: Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787/121, 767 01 Kroměříž
Tisk: Agrotest fyto, s.r.o.
Foto: Ing. Marta Balounová, Ing. Kateřina Vaculová, CSc.
Obálku navrhl: Ing. Marta Balounová, Ing. Petr Míša, CSc.
Tisk obálky: Alfa Vita – Marcela Formanová, Postoupky 168, 767 01 Kroměříž
Kontakt: balounova.marta@vukrom.cz, vaculova.katerina@vukrom.cz
Počet stran: 26 s.
Náklad: 50 ks
Vydání: 1. vydání
Rok vydání: 2010

© Agrotest fyto, s.r.o.

ISBN e-verze: 978-80-87555-01-9