

Mendelova univerzita v Brně

Zahradnická fakulta v Lednici

HODNOCENÍ VYBRANÝCH POTOMSTEV KŘÍŽENÍ RÉVY VINNÉ

Z HLEDISKA REZISTENCE K HOUBOVÝM CHOROBÁM

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce

Ing. Miroslav Vachůn, Ph. D.

Vypracovala

Bc. Ivana Smejkalová

Lednice 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Hodnocení vybraných potomstev křížení révy vinné z hlediska rezistence k houbovým chorobám vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém soupisu literatury.

Souhlasím, aby práce byla uložena v knihovně Zahradnické fakulty

Mendelovy univerzity v Brně a zpřístupněna ke studijním účelům.

V Lednici, dne.....

Podpis diplomata.....

Poděkování

Tímto bych velmi ráda poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Miroslavu Vachůnovi, Ph.D za ochotu a poskytnutí cenných rad a informací. Dále bych chtěla poděkovat Kateřině Zimmermannové za korekci pravopisných chyb a Mgr. Ing. Martinovi Reyovi za jazykovou podporu.

OBSAH

1	ÚVOD.....	5
2	CÍL PRÁCE.....	6
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	7
3.1	HISTORIE REZISTENTNÍHO ŠLECHTĚNÍ	7
3.1.1	<i>Historie moštových PIWI odrůd českého původu.....</i>	9
3.2	ONTOGENETICKÁ A INDUKOVANÁ REZISTENCE	10
3.3	PROCES REZISTENTNÍHO ŠLECHTĚNÍ	12
3.3.1	<i>Genetika rezistence</i>	13
3.4	METODY A POSTUPY ŠLECHTĚNÍ	15
3.5	MOLEKULÁRNÍ GENETIKA	17
3.6	METODY HODNOCENÍ ÚROVNĚ ODOLNOSTI K CHOROBÁM.....	18
3.7	HOUBOVÉ CHOROBY RÉVY VINNÉ.....	21
3.7.1	<i>Plíseň révy.....</i>	21
3.7.2	<i>Padlí révy.....</i>	24
3.7.3	<i>Šedá hniloba hroznů révy.....</i>	28
4	MATERIÁL A METODY.....	30
4.1	VÝCHOZÍ MATERIÁL	30
4.1.1	<i>BIANCA</i>	30
4.1.2	<i>HIBERNAL.....</i>	31
4.2	POLNÍ POZOROVÁNÍ (SCREENING).....	32
4.2.1	<i>Charakteristika pozemku</i>	32
4.2.2	<i>Charakteristika klimatu</i>	32
4.2.3	<i>Průběh počasí a tlak houbových chorob v roce 2014.....</i>	33
5	VÝSLEDKY	38
6	DISKUZE	41
7	ZÁVĚR	43
8	SOUHRN	44
9	RESUME	45
10	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	46

1 ÚVOD

V moderním vinohradnictví na Moravě a v Čechách došlo v posledních letech k velkým změnám. Neustálý vývoj ke zvyšování kvality hroznů, je základem pro výrobu kvalitního vína. Požadovaná kvalita hroznů jde ruku v ruce s dalšími faktory jako stanoviště, půda, podnebí, ročník, výnos, ošetřování vinice, podnož a ušlechtilá odrůda. Moderní management kvality ve vinohradnictví respektuje průběh počasí během celého ročního cyklu ošetřování vinic. V České republice se vinice obhospodařují v systémech integrované, nebo ekologické produkce. Hlavním cílem je minimalizovat vnější chemické vstupy při současném udržení vysoké kvality hroznů.

Šlechtění nových odrůd, které jsou geneticky odolné vůči houbovým chorobám, je významnou součástí celého procesu pěstování zdravých hroznů. Tato práce je velice časově náročná a mnohdy i neúspěšná. Réva vinná se pěstuje ve vinici více než 25 let, proto je pro ni důležité získání rezistence ke všem možným formám určitého patogenu. Používání světového genofondu kulturních rostlin do šlechtitelského procesu je podmínkou úspěšného vzniku nových odrůd. Rozmanitost genofondu umožňuje spojení vlastností, které byly vytvořeny v průběhu evoluce do jednoho genotypu. Použití molekulární genetiky umožňuje identifikaci genů rezistence a jejich využití ve šlechtění na odolnost vůči chorobám a škůdcům.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je hodnocení vybraných potomstev křížení révy vinné z hlediska rezistence k houbovým chorobám v podmínkách jižní Moravy. Hodnocena byla hlavně odolnost révy vinné k plísni révové (*Plasmopara viticola*).

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Historie rezistentního šlechtění

Ve 2. polovině 19. století se do Evropy rozšířili původci nebezpečných houbových chorob - plísně révy (*Plasmopara viticola*) a padlí révy (*Erysiphe necator* Schwein) a také nebezpečný škůdce mšička révokaz. Během krátké doby zdecimovali významné plochy evropských vinic (Pavloušek, 2011).

Producenti révových sazenic a výzkumníci se poté začali zabývat myšlenkou využít v boji s těmito nebezpečnými patogeny šlechtění. Jejich cílem bylo vytvoření „ideální révy“, která by měla dostatečnou rezistenci k uvedeným patogenům a poskytovala zároveň vysokou kvalitu hroznů a vína. Využití přirozené rezistence mělo být vhodnou alternativou k intenzivnímu používání pesticidů proti chorobám révy vinné (Pavloušek, 2011).

V počátcích šlechtění na rezistenci bylo založení genu odolnosti k plísni, padlí i révokazu považováno za polygenní, a získání ideální révy bylo proto velmi obtížné. Požadovaného cíle nebylo navíc dosaženo. Šlechtitelské směry na tvorbu odrůd rezistentních k révokazu (podnoží) a odrůd disponujících zvýšenou odolností k houbovým chorobám se posléze rozdělily (Pavloušek, 2011).

Protože plíseň révy (*Plasmopara viticola*) se v 19. století v Evropských vinicích rychle rozšiřovala, směřovalo šlechtitelské úsilí především k tvorbě nových odrůd rezistentních vůči této chorobě, které by zároveň poskytovaly přijatelná vína (Alleweldt, 1980). Teprve kolem roku 1970 se přidalo šlechtění zvyšující odolnosti vůči padlí (Kozma, 2002).

Zapojení světového genofondu odrůd révy vinné bylo nezbytnou podmínkou úspěšné realizace šlechtitelských programů. Divoké druhy (*Vitis spp.*) se již na počátku staly cennými genovými zdroji rezistence. Později byly do šlechtění zapojeny také asijské druhy, především *Vitis Amurensis Rupr.* (Pavloušek, 2011).

Zavedení nových odrůd se zvýšenou odolností proti houbovým chorobám do praxe však nemělo vůbec jednoduchou cestu. Např. Becker a Zimmerman (1980) uvádějí, že odrůdy révy s genotypem amerických odrůd (*Vitis spp.*) měly v Evropě negativní ohlas. Bylo tomu tak z několika důvodů. Staré francouzské hybridy z jednoduchého křížení amerických *Vitis spp.* s *Vitis vinifera* nebo ze zpětných křížení

hybridů a odrůd *Vitis vinifera* produkovaly vína nižší kvality. Na druhé straně byly rezistentní k mrazu, houbovým chorobám a měly dobrý výnos. Dalším protiargumentem byla diskuze o zdravotní prospěšnosti hybridních vín. Podnět k ní daly pokusy, které prováděli Breider, Wolf, Schmidt (1965) s euro-americkými hybridy révy u slepic plemena Leghorn. V následné analýze Breider a Wolf (1967) uvádí škodlivé působení moštu z rezistentních hybridů a sloučeniny, které vedly k vývojovým vadám a ovlivňovaly nervový systém slepic, nazývají biostatika. Toto negativní působení euro-amerických hybridů však velmi brzo vyvrátil Schürch aj. (1968) a poté Stoewsand aj. (1969). Konkrétně Stoewsand aj. (1969) dokazují, že v hybridních odrůdách nejsou přítomné vůbec žádné přirozené toxické látky. Negativní působení rezistentních odrůd tak vyvrací.

Na setkání expertní skupiny, které neslo název „Šlechtění révy vinné“ v Bordeaux v roce 1977 byla iniciována diskuze o vývoji odrůd rezistentních k houbovým chorobám a révokazu a o pojmenování těchto odrůd. Název „přímoplodící hybridy“ se vzhledem k minulosti jevil jako nevhodný. Na základě genealogického původu se proto začaly tyto odrůdy označovat jako vytvořené v rámci „interspecifického křížení“ (Pavloušek, 2011).

Šlechtění „interspecifických odrůd“ pokračovalo poměrně velkou intenzitou. V 90. letech 20. století došlo k registraci mnoha odrůd v Německu, Maďarsku, Jugoslávii, Rakousku, zemích bývalého Sovětského svazu i v ČR. Šlechtění se stalo zajímavé především pro okrajové vinohradnické oblasti, pro země střední a východní Evropy a biologicky hospodařící vinaře ve všech evropských zemích (Pavloušek, 2011).

V rámci vinohradnické a vinařské legislativy EU však není pojem „interspecifická odrůda“ vymezen. Naopak *Vitis spp.*, tj. druhy patřící do rodu *Vitis*, ze kterých je dovolena výroba jakostního vína, jsou v nařízení jasně vymezeny, a přiřazení odrůdy do botanického taxonu má být proto jednoznačné. Podle § 3 čl. 19 nařízení EK č. 1493/1999 je výroba jakostního vína v zemích EU povolena pouze z odrůd náležejících k botanickému druhu *Vitis vinifera*. Při registraci nových odrůd se zvýšenou odolností k houbovým chorobám došlo tedy k porovnání jejich morfologických znaků. Rozhodnutí, zda nově vyšlechtěná odrůda patří k botanickému druhu *Vitis vinifera*, bylo založeno na tzv. ampelografických znacích. Ty umožnily ověřit, jestli morfologické znaky nové odrůdy patří mezi znaky již existujících odrůd

Vitis vinifera, což se potvrdilo. Od té doby se rezistentní druhy řadí do botanického druhu *Vitis vinifera* – réva vinná (Pavloušek, 2011).

Aby se mezi pěstiteli posílil důraz na pozitivní vlastnosti rezistentních odrůd, tzn. zvýšenou odolnost k houbovým chorobám, jsou označovány jako PIWI odrůdy. Jejich pěstování je ideální cestou pro produkci kvalitních hroznů a vína v podmínkách biologického vinohradnictví. PIWI odrůdy pěstují biovináři v Německu, Rakousku, Maďarsku, Švýcarsku, Jižním Tyrolsku, Polsku i v ČR (Pavloušek, 2011).

Pěstování PIWI odrůd umožňuje:

- Minimalizaci použití pesticidů: k ochraně proti houbovým chorobám se mohou využívat pomocné prostředky zlepšující zdravotní stav révy nebo přípravky na bázi mědi a síry. PIWI odrůdy lze na určitých stanovištích pěstovat bez jakékoliv ochrany proti houbovým chorobám.
- Vypěstování kvalitních hroznů pro výrobu jakostních vín s přívlastkem.
- Produkci stolních hroznů, moštů nebo hroznových šťáv z biologicky ošetřovaných vinic (Pavloušek, 2011).

3.1.1 Historie moštových PIWI odrůd českého původu

Zkoušení francouzských „přímoplodících hybridů“ probíhalo v Československu již ve 20. – 30. letech 20. století. Testováním velkého sortimentu se zabýval Karel Neoral na Šlechtitelské stanici vinařské v Mutěnicích. Žádná z hodnocených odrůd však nebyla introdukována do praxe (Pavloušek, 2011).

K obnovení zájmu o odrůdy se zvýšenou odolností došlo v 60. letech 20. Století na vysoké škole zemědělské v Brně. Vilém Kraus začal v lednickém ústavu genetiky Mendeleum s křížením odrůd *Vitis vinifera* z různých ekologicko geografických skupin s *Vitis amurensis* a některými „seibelovými“ hybridy. Z této šlechtitelské práce vznikla odrůda Rondo, jejíž šlechtění bylo úspěšně zakončeno v Geisheimu a odrůdu v Německu registrovali (Pavloušek, 2011).

Druhá vlna šlechtění na rezistenci začala u nás v 80. letech 20. století. Při spolupráci zahradnické fakulty v Lednici a vědecko – výzkumného sdružení „Rezistant“, představovaného Milošem Michlovským, byl shromážděn rozsáhlý genofond „interspecifických odrůd“. Genofond soustředil především odrůdy ze zemí bývalého sovětského svazu a Jugoslávie, Maďarska, Rakouska, ale také Německa,

Kanady a USA. Genofond se stále udržuje a hodnotí na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Lednici (Pavloušek, 2011).

Československé šlechtění PIWI odrůd pracovalo s významným donorem rezistence – Seibel 13666. Tato odrůda posloužila při vzniku mnoha nových odrůd s velmi dobrou odolností k chorobám. Seibel 13666 neobsahuje, stejně jako většina jeho potomků diglukosidická antokyaninová barviva (Pavloušek, 2011).

Šlechtění PIWI odrůd v ČR v podniku Vinselekt Miloše Michlovského, na Zahradnické fakultě Mendelovy univerzity v Lednici a u dalších privátních šlechtitelů (Pavloušek, 2011).

Mezi PIWI odrůdami zapsanými ve Státní odrůdové knize je možné najít odrůdy Malverina, Rinot, Laurot, Cerason, Sevar a Nativa. Několik následujících je přihlášeno do odrůdových zkoušek nebo jsou již registrovány: Erilon, Savilon, Kofranka, Merlan (Pavloušek, 2011).

3.2 Ontogenetická a indukovaná rezistence

Ontogenetická rezistence je schopnost odolávat infekci po dosažení určitého vývojového stádia, díky změnám, ke kterým dochází při vývoji a stárnutí rostlinných pletiv. Pochopení mechanismů ontogenetické rezistence a její soulad s různými podmínkami umožňuje lépe předpovídat její konečný vliv na postup choroby a tím lépe aplikovat přístupy k ochraně proti houbovým chorobám. Přesné vysvětlení ontogenetické rezistence dovoluje optimalizovat použití fungicidů, a zacílit je na období vyšší citlivosti rostliny k houbovému patogenu. Pochopení mechanismů této rezistence a jeho dopad na rozvoj houbového patogena pomáhá v předpovídání epidemií v polních podmínkách (Ficke aj., 2002).

Indukovaná rezistence je schopnost odolávat infekci, navozené specifickými vnějšími stimuly. Následnými změnami jsou vytvořeny nebo zesíleny obranné mechanismy. Indukovaná rezistence se aktivuje pouze v době napadení škůdcem, jinak je neaktivní. Je tedy podmínkou, aby rostlina včas rozeznala parazita podle chemických sloučenin nazývaných elicitory. Ty jsou schopné aktivovat, nebo stimulovat další látky v rostlině, které se podílí na její obranné reakci. Když dochází ke kontaktu patogena s rostlinou, nastává raná fáze obranné reakce, která trvá několik minut. Spustí se působením elicitorů, na receptory rostliny. Během několika minut dochází ke změně

koncentraci iontů, syntéze oxidu dusnatého, aktivních forem kyslíku a aktivaci enzymů proteinkináz. Mezi aktivními formami kyslíku je významný peroxid vodíku, který je sám o sobě toxický pro patogen, podílí se na zesílení buněčné stěny a vzniku hypersenzitivní reakce. Pozdní fáze obranné reakce trvá několik dnů. Dochází při ní k aktivaci obranných genů, k syntéze fytoalexinů, PR proteinů a inhibitorů proteáz (Pavloušek, 2011).

Mechanismy indukované rezistence:

1. Tvorba fytoalexinů, které jsou syntetizované a akumulované rostlinou jako odpověď na napadení patogenem. Patří sem například terpenoidy, flavonoidy a stilbeny. Pro určité rody rostlin je typická určitá skupina těchto látek. Pro révu to jsou stilbeny, nejznámější z nich je resveratrol a viniferin. Stilbeny působí na klíčení spor a růst mycelia plísně šedé i toxicky.
2. Rostlina vyrábí specifické bílkoviny, nazývané PR proteiny, kterých dnes známe nejméně 17 tříd. Často napadají buněčné stěny patogenů, hub, jejich spor i jiných mikroorganismů. Další mají chemické aktivity, případně posilují buněčnou stěnu rostliny (Pavloušek, 2010).

PR – 1	<ul style="list-style-type: none"> • Neznámá aktivita
PR – 2	<ul style="list-style-type: none"> • Beta – 1, 3 glukanasová aktivita • Hydrolýza buněčných stěn mikroorganismů
PR – 3	<ul style="list-style-type: none"> • Chitinasová aktivita • Hydrolýza buněčných stěn hub
PR – 5	<ul style="list-style-type: none"> • Permeabilizace membrán houbových spor
PR – 9	<ul style="list-style-type: none"> • Peroxidasová aktivita • Zesílení rostlinné buněčné stěny
PR – 10	<ul style="list-style-type: none"> • Ribonukleasová aktivita

Tab. 1 PR Proteiny (Rausová, 2010)

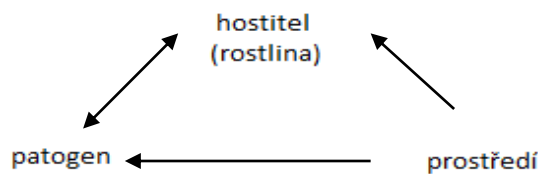
3. Hypersenzitivní reakce (dále je HR) je lokální reakce rostliny, vedoucí k programovému odumření některých buněk, za účelem zbavit parazita možnosti výživy (Greenberg, 1997, Pontie et al., 1998). Buňky obvykle do dvou dnů odumřou, vyplní se vzduchem, korkovatí, získávají typickou hnědou barvu a vytvoří nekrózu. Rostlina tak ztrácí kousek funkční tkáně, výměnou za likvidaci

spory patogena. HR je u současných rezistentních odrůd hlavní obranou odolné révy proti peronospoře i oidiu (Pavloušek, 2010).

3.3 Proces rezistentního šlechtění

Šlechtění na odolnost k chorobám je často zatěžováno nedostupností (neexistencí) genetických zdrojů, krátkou trvanlivostí či nízkou úrovní rezistence. Proces rezistentního šlechtění je složitý, neboť musí respektovat:

- a) vzájemné vztahy složek (Obr. 1):



Obr. 1 Vzájemné vztahy složek

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

Proměnlivost biotických složek spočívá v existenci druhů, variet, ras, kmenů, biotypů, také ve vzniku mnoha mutací, fyziologicky specializovaných ras apod., s různou agresivitou a virulencí (Graman, Čurn, 1997).

Předpoklady efektivního rezistentního šlechtění:

- 1) znalost biologie a bionomie patogena, včetně rasového spektra a možnosti zjištění rasové příslušnosti (např. pomocí testovacího sortimentu).
- 2) Znalost mechanismu rezistence, včetně typu odolnosti a genetického založení rezistence
- 3) Projev odolnosti (tolerance) či náchylnosti
- 4) Existence genetických zdrojů rezistence a možnost jejich využívání
- 5) Znalost techniky inokulací, umělých infekcí v polních i skleníkových podmínkách, znalost optimálních podmínek pro rozvoj choroby (škůdce) i způsobů hodnocení stupně odolnosti (náchylnosti) (Graman, Čurn, 1997).

3.3.1 Genetika rezistence

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

- Mimojaderný systém dědičnosti
- Jaderný systém dědičnosti

Mimojaderný systém (cytoplasmatická dědičnost) se projevuje rozdíly ve štěpných poměrech v generacích po reciprokém křížení.

V jaderném systému může být dědičnost rezistence založena:

- a) oligogenně (jedním nebo několika major geny) s dominantním, recesivním a neúplně dominantním projevem s malou závislostí na prostředí. Příkladem může být vertikální rezistence, projev přecitlivělosti aj. Oligogenní způsob založení rezistence přesně odpovídá hypotéze gen proti genu. Geny se mohou projevovat i v interakcích (komplementárně), s pleiotropiím účinkem a mohou se uplatnit i geny a modifikátory. Oligogenně založená rezistence se ve štěpících generacích chová podle platných zákonů dědičnosti, a to v závislosti na počtu genů a jejich projevu. V genetické analýze se používá:
 - přímá metoda – tj. křížením odolné odrůdy s náchylnou odrůdou a vyhodnocením štěpících generací.
 - Nepřímá metoda - tj. podle reakce testované odrůdy k několika rasám patogena a porovnáním s reakcí odrůd o známém genetickém založení. K tomuto účelu se používá tzv. mezinárodně uznávaný testovací sortiment. K ověření identity genů se používá vyhodnocený výsledek uměle infikovaných rostlin generace F_2 z křížení odrůda x linie se známým genem.
- b) Polygenně s účinkem mnoha minor genů, s intermediárním projevem dědičnosti v generaci po křížení. Uplatňuje se silný vliv podmínek prostředí. Systém umožňuje také projev transgrese i kombinaci s major geny.

Projev rezistence má kvantitativní charakter, např. delší dobu inkubace, méně sporulujících ložisek, nižší sporulace apod. Uplatňuje se při horizontální rezistenci (Graman, Čurn, 1997).

V systému genetické proměnlivosti rezistence hostitele (rostliny) se kromě kombinací a rekombinací genů uplatňuje i mutabilita genů. Stejně je

tomu i v genetické proměnlivosti patogenů, kde navíc kupř. u mikroorganismů se uplatňují ještě další mechanismy proměnlivosti (Graman, Čurn, 1997).

Jako genetické zdroje rezistence jsou využívány:

- Plané druhy
- Přirozený genofond kulturních rostlin
- Staré i nové odrůdy domácího a zahraničního původu
- Linie, indukované mutace a šlechtitelské polotovary

První praktické techniky pro analýzu DNA objevily až v roce 1990 a první z těchto genů byl objeven až v roce 2002, díky čtení genomu a metodě srovnávání genetických map máme dnes celkem jasno, čím se odlišují odolné révy od neodolných (Graman, Čurn, 1997).

Patogen	Gen rezistence	Autor
Plíseň révy	Rpv1 – <i>Muscadinia rotundifolia</i>	Merdinoglu aj. (2003)
	Rpv2 - <i>Muscadinia rotundifolia</i>	Wiedemann – Merdinoglu aj.(2006), Bellin aj. (2010)
	Rpv3 – Regent	Welter aj. (2007)
	Rpv3 – Bianca	Bellin aj. (2009)
	Rpv4 – Regent	Welter aj. (2007)
	Rpv5 – <i>Vitis riparia</i>	Marguerit aj. (2009)
	Rpv6 - <i>Vitis riparia</i>	Marguerit aj. (2009)
	Rpv7 – Bianca	Bellin aj. (2009)
	Rpv8 - <i>Vitis riparia</i>	Moreira aj. (2010)
	Rpv9 - <i>Vitis riparia</i>	Moreira aj. (2010)
	Rpv10 – <i>Vitis amurensis</i>	Schwander aj. (publikace v přípravě)
Padlí révy	Ren1 – Kishmish vatkana, Dzhandzhal Kara	Hoffmann aj. (2008) Coleman aj. (2009)
	Ren2 – Illinois 547 – 1	Balbo aj. (2001)
	Ren3 – Regent	Welter aj. (2007)
	Ren4 – <i>Vitis romanetii</i>	Ramming aj. (2011)
	Run1 – <i>Muscadinia rotundifolia</i>	Bouquet (1986) Pauquet aj. (2001)
Révokaz	Rdv1 – Börner	Hausmann aj (2010)

Tab. 2 Souhrn doposud zmapovaných genů rezistence k houbovým chorobám a škůdců (www.vivc.de)

3.4 Metody a postupy šlechtění

Metody šlechtění na odolnost jsou odlišné podle skupin chorob:

a) Vůči virovým chorobám

Šlechtění na odolnost k virovým chorobám je velmi obtížné a náročné. Složitost šlechtění souvisí s možností latentního výskytu, maskování i se zvláštnostmi způsobu přenosu virů. U mnohých virů není dosud známá genetická podstata odolnosti, nebo jsou k dispozici jen dílčí poznatky. Často nejsou známé genetické zdroje odolnosti (Graman, Čurn, 1997).

Ve šlechtění se využívá kategorií rezistence vhodných pro příslušnou virovou chorobu (relativní rezistence, imunita, intolerance, extrémní rezistence apod.) (Graman, Čurn, 1997).

Z metod šlechtění se uplatňuje hlavně křížení (důležitá je volba vhodných rodičů), indukované mutace a v poslední době i metody genového inženýrství (Graman, Čurn, 1997).

V široké míře se využívají i nepřímé metody, které eliminují zdroje nákazy a brání rozšíření virových chorob (negativní selekce napadených rostlin, různé diagnostické metody včetně imunoenzymatického postupu ELISA), produkce viruprostého rozmnožovacího materiálu (meristemové kultury) (Graman, Čurn, 1997).

b) Vůči bakteriózám

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

c) Vůči houbovým chorobám

Šlechtění na odolnost vůči houbovým chorobám je relativně nejlépe propracováno, když na odlišné úrovni u rostlin samosprašných a cizosprašných. V mnoha případech je známá a propracována i genetická stránka odolnosti.

Ze šlechtitelských metod se nejvíce uplatňuje křížení, liniové šlechtění, v některých případech jsou využitelné i indukované mutace a to v závislosti na genetickém založení odolnosti (oligogenní, polygenní). U mnoha samosprašných plodin se využívá i vertikální rezistence (Graman, Čurn, 1997).

Přirozený výběr má tendenci upřednostňovat převahu rostlinných druhů, kterým se daří množit jejich potomstvo a tolerovat stresové faktory převládající v konkrétním prostředí (Brown, 2008).

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

Moderní šlechtění odrůd se zvýšenou rezistencí vůči houbovým chorobám využívá druh *Muscadinia rotundifolia*. Americké druhy *Vitis berlandieri*, *Vitis riparia*, *Vitis rupestris*, *Vitis cinerea* a *Vitis aestivalis* a umožnily vznik mnoha podnoží a přímoplodých hybridů Seibela a Seyve Villarda. Jedno z hlavních genových center asijských odrůd představuje Čína. Čínské druhy *Vitis spp.* se vyznačují mnoha pozitivními, včetně rezistence k hlavním houbovým chorobám, a dobrou kvalitou hroznů. Z Číny pochází více než 35 druhů. Jejich bobule nemají nežádoucí „fox“ vůni ani chuť, která se vyskytuje u jmenovaných amerických odrůd. Významným asijským druhem je rovněž amurská réva – *Vitis amurensis* Ruprecht. *Vitis amurensis* se ukázal jako genetický zdroj disponující nejen vysokou mrazuvzdorností, ale rovněž malou citlivostí vůči plísni révové, dobrou akumulací cukrů a ranou dobou zrání (Pavloušek, 2011).

3.5 Molekulární genetika

Molekulární DNA znaky můžeme využívat díky genovému inženýrství pro určení a charakterizaci genomů kulturních rostlin.

Molekulární markery jsou založeny na detekci elektroforézou. Morfologické znaky se použily pro nepřímou selekci jako markery. Každý marker je umístěn na stejném chromozomu ve vzdálenosti od genu, na který selektuje, aby se současně přenášel do další generace. Přenos molekulárního markeru především bílkovin, se používal již dříve (Chloupek, 2008).

V praxi využíváme takové molekulární markery, které jsou na chromozomu velmi blízko genu pro odolnost k houbovým chorobám. U potomstva můžeme pozorovat přenos molekulárního znaku v zastoupení nepřesně pozorovaného znaku (Ondřej, Drobník, 2002)

Geny kódující zásobní izoenzymy nebo proteiny jsou vhodnými markery. Zásobních proteinů je méně a můžeme je používat jako DNA markery.

Použití proteinových markerů:

1. Hodnocení genetické variability
2. Charakteristika odrůd při registračním řízení.
3. Identifikace izolátů patogenů
4. Stanovení podílu cizoopylení
5. Selektce podle markerových genů, např. rezistence k virózám

(Chloupek, 2008)

Díky DNA markerům můžeme vytvořit krátké úseky DNA molekul a rozlišit heterozygoty a homozygoty

DNA markery dělíme na:

1. Markery založené na PCR

Název pochází z anglického „Polymerase Chain Reaction“ – polymerázová řetězová reakce. Principem je pomocí PCR replikovat nukleonové kyseliny

2. Markery založené na hybridizaci DNA

RFLP název je z anglického „Restriction Fragment Length Polymorphism“ – polymorfismus délka restrikčních fragmentů, restrikčních není moc používaná. Princip spočívá v hybridizaci DNA a využití restrikčních endonukleáz. Restrikční endonukleáza štěpí vzorky DNA. V agarózovém gelu probíhá jejich elektroforéza a Southernův přenos. Polymorfyzmus můžeme zjistit ve velikosti restrikčních fragmentů DNA (Knoll, Vykoukalová, 2002)

3.6 Metody hodnocení úrovně odolnosti k chorobám

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

Za infekční zdroje slouží namnožené zárodky patogena, chorobné rostliny, infikovaná zelenina apod. Infekce se aplikuje postřikem, poprachem, injekčně, vtíráním do listů, infikovanou půdou apod. (Graman, Čurn, 1997).

K hodnocení odolnosti se používá bonitační stupnice 1 -9 bodů (1 – náchylná, 9 – odolná), nebo se vyjadřuje % napadené plochy, počtem (%) napadených či odolných jedinců (Graman, Čurn, 1997).

K hodnocení úrovně napadení plísní révou u rodu *Vitis spp.* slouží různé deskriptory (klasifikátory), zejména deskriptor OIV (Office International de la Vigne et du Vin, 1983) a z něj vyhází klasifikátory IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) a UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). Tyto klasifikátory jsou však až příliš složité, obsahují příliš mnoho úrovní napadení. Přechody mezi jednotlivými stupni nejsou úplně přehledně stanoveny, proto si někteří autoři vytvořili vlastní jednodušší modifikace (např. Reuveni, 1998, Cohen, 1999, Kozma, 2003, aj.)

Deskriptory jsou zharmonizované klasifikátory rodu *Vitis L.*, které byly sjednoceny a sloučeny v jeden. Podle něj byl i v ČR v roce 1999 zpracován tentýž klasifikátor, sloužící jako podklad pro dokumentaci víceletých výsledků hodnocení popisných znaků genetických zdrojů kolekce révy vinné v České republice. Publikován byl v rámci národního programu konzervace využití genetických zdrojů rostlin a je přizpůsoben pro evidenci v centrální dokumentaci genetických zdrojů EVIGEZ (EVIDence GENových Zdrojů). Jeho konečná verze přesně sleduje klasifikátor publikovaný EU (European Union), který vychází hlavně z klasifikátorů OIV, IBPGR/IPGRI a UPOV (tyto byly harmonizovány a sloučeny) a je doplněna o znak rezistence k zimním mrazům, k abiotickému faktoru, který se v podmínkách České republiky výrazně uplatňuje (Hubáčková a Faberová, 1999). Pro úplnost je vždy připojeno i číslo deskriptoru OIV. Klasifikátor zahrnuje 71 popisných znaků, které jsou doplněny o 4 znaky vztahující se k pokusným podmínkám hodnocení. Nedílnou součástí je i národní evidenční číslo (ECN) hodnoceného genetického zdroje (GZR) jako jeho jednoznačný identifikátor v rámci kolekce. Součástí klasifikátoru je přehled dalších druhů rodu *Vitis L.* a jejich kódování pro EVIGEZ (Hubáčková a Faberová, 1999)

Indikuje se rozsah plísňí infikovaných skvrn na listech 4-6 keřů (tj. 4-6 opakování) asi 3 týdny od začátku kvetení

- 1 = neohraničené rozsáhlé skvrny způsobené infekcí nebo úplně infikované listové čepele – silná fruktifikace houby – zřetelné a husté mycelium – velmi raný opad listů;
- 3 = rozsáhlé neohraničené skvrny způsobené infekcí – velmi silná fruktifikace houby – četné mycelium – opad na tak raný jako ve stupnici 1;
- 5 = ohraničené skvrny o velikosti 1 – 2 cm v průměru – více nebo méně silná fruktifikace houby – nepravidelná tvorba mycelia;
- 7 = nižší nekrotické skvrny – nižší fruktifikace houby – méně mycelia;
- 9 = tečkovité nekrózy nebo bez symptomů, žádná fruktifikace houby nebo mycelium (Hubáčková a Faberová, 1999)

Vyhodnocení infekce – Devíti – bodová stupnice dle deskriptoru OIV – list (1983):

1. Velmi nízká odolnost (odrůda silně náchylná)
3. Nízká odolnost (odrůda náchylná)
5. Střední odolnost (středně náchylná – tolerantní odrůda)
7. Vysoká odolnost (slabě náchylná – rezistentní)
9. Téměř úplná odolnost (velmi silná rezistence)

Dalším významným klasifikátorem pro hodnocení napadení plísňí révové na listech révy je deskriptor EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), PP 1/31(3), 2002. Tento klasifikátor je využívám zejména v polních podmínkách při registraci nových chemických přípravků používaných proti plísni révové a je upřednostňován organizací SRS (Státní rostlinolékařská správa ČR).

Vyhodnocovací klíč dle metodiky EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2002;

- 1 = bez příznaku choroby;
- 2 = drobné olejovité skvrny do 5%
- 3 = olejovité skvrny od 5 – 10%
- 4 = větší olejové skvrny od 10 – 25%
- 5 = velké slité olejové skvrny od 25 – 50%
- 6 = velké slité olejové skvrny od 50 – 75%;
- 7 = plně zasažený nekrotický list nad 75%

3.7 Houbové choroby révy vinné

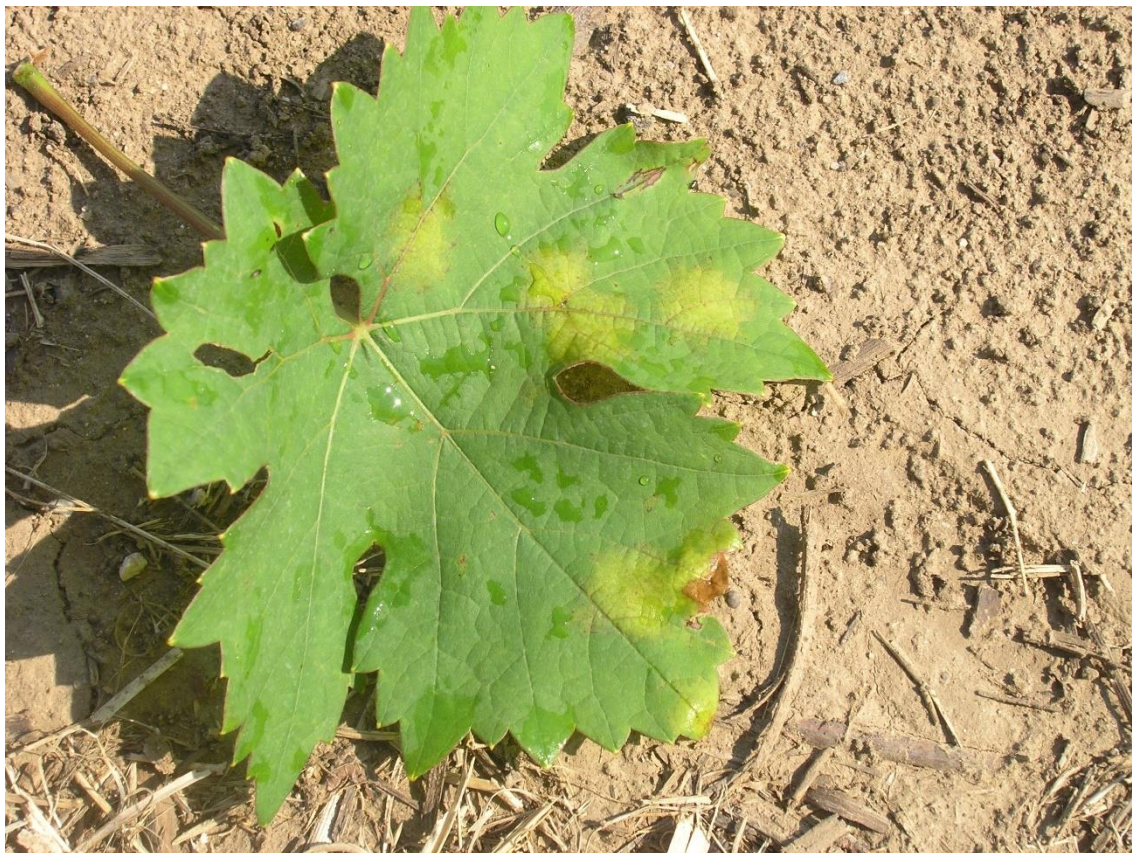
Mezi významné houbové choroby révy vinné řadíme plíseň révy, padlí révy, šedou hnilobu.

3.7.1 Plíseň révy

Poprvé se v Evropě objevila v roce 1878 ve Francii, kam se rozšířila za Severní Ameriky. První příznaky byly zaznamenány u „evropské révy“ v oblasti Bordeaux. V krátké době se rozšířila do dalších evropských vinařských oblastí, kde začala způsobovat velké hospodářské škody. Plíseň révy se stala nejvýznamnější houbovou chorobou révy vyskytující se v našich vinicích. Původcem je houba *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. & deToni patřící mezi *Oomycetes* a podle současné taxonomie mezi *Peronosporomycetes* (Spring, 2004).

Houba napadá všechny zelené části révového keře – listy, květenství, letorosty a bobule. Primární příznaky se většinou objevují na mladých listech. Na horní straně listové čepele nacházíme tzv. „olejové skvrny“. U bílých odrůd jsou tyto skvrny zbarveny žlutě, u barvířek mohou být načervenalé. Za příznivých podmínek pro rozvoj houby tzn. za teplého a vlhkého počasí v průběhu noci se na spodní straně listové čepele objevují bílé, rozvětvené nosiče sporangií, které vyrůstají z průduchů. Při silném napadení jsou pokryty celé listy. Napadená místa na listu následně hnědnou a nekrotizují. Při silném napadení dochází i k defoliaci, která snižuje akumulaci cukrů v bobulích, omezuje vyžívání jednoletého dřeva a tím snižuje mrazuodolnost zimních oček a jednoletého dřeva. Poškození plísní révy se může vyskytovat také na vrcholcích

mladých letorostů, které mohou usychat. Příznakem jsou opět olejovité a nahnědlé skvrny (Pavloušek, 2011).



Obr. 2 Olejové skvrny na listech révy způsobené *Plasmopara vitcola*

Plísni révy bývají také napadeny květenství a hrozny. Nejcitlivější jsou květenství a bobule do fenofáze hráškovatění. Nejdříve se na nich vytváří bílý povlak, květy postupně usychají a bobule se zbarvují do hněda až fialova. V době po hráškovatění se bobule zbarvují modře až fialově, scvrkávají a mohou usychat celé hrozny nebo jejich části. Napadení bobulí se s postupujícím zráním snižuje. U zrajících hroznů však může být napadena i třapina, které získává hnědočervenou barvu a usychá (Pavloušek, 2011).

K přesné identifikaci plísně révy lze využít poměrně jednoduchou metodu. Listy s nánaky olejových skvrn nebo hrozny s možnými příznaky se vloží do polyethylenového sáčku společně s ovlhčenou částí rostlinných pletiv. Následuje inkubace ve tmě, přes noc. Při teplotách 20 – 25 °C. Ráno se může aktivní sporulace projevit na spodní straně olejových skvrn na listech, třapině nebo malých bobulích (Pavloušek, 2011).

Plasmopara viticola je biotrofní patogen parazitující výhradně na druzích rodu *Vitis*. Rozvíjí se v mezibuněčných prostorech rostlinných pletiv ve formě hyf, které vytváří kulovité haustoria. Ta pronikají buněčnými stěnami a ke své výživě využívají buňky. *Oospory* přezimují v opadaném listí, dozrávají na jaře a klíčí ve vodě, kde vytváří primární sporangium, které produkuje 30 – 60 zoospor. Pro vyzrání oospor je důležitá teplota (suma efektivních teplot) a střídání teplot. Klíčení probíhá během vegetace od jara až do poloviny léta, jakmile teplota dosáhne 10°C a ovzduší má odpovídající vlhkost. Pro klíčení spor je důležitá voda ve formě srážek nebo rosy, která ovlhčuje opadlé listy. K primární infekci dochází, když se zoospory z povrchu půdy dostanou na vodní film na povrchu zelených částí rostlinného pletiva a následně prorůstají průduchy do hostitelské rostliny. Pro začátek primární infekce je nutné, aby byly horní 2 cm půdy vlhké po dobu delší než 16 hodin teplota vyšší než 8 °C. K rozstříkávání spor na listovou plochu je potřeba déšť (Pavloušek, 2011).

Primární infekce způsobuje pouze nižší napadení révy vinné. Vytváří průměrně 1 – 2 olejové skvrny na 50 m listové stěny. Sporulace na spodní straně olejových skvrn probíhá relativní vlhkosti vyšší než 98 %, teplotě vyšší než 13 °C a vyžaduje minimálně 4 hodiny tmy. Spory vytvořené na spodní straně listové čepele při primární infekci jsou zdrojem sekundární infekce. K vypuknutí sekundární infekce jsou potřebné teplé a vlhké noci a ovlhčené listy. Sekundární infekce, při níž dochází velmi rychle k produkci nových spor, může být velmi ničivá. Počet, velikost a stáří olejových skvrn určuje potenciál pro novou sekundární infekci. Za příznivých podmínek se mohou z jedné skvrny vytvořit i tisíce spor (Pavloušek, 2011).

K prognóze primárních infekcí lze využívat velmi jednoduchou metodu podle SHMÚ Bratislava. V principu jde o porovnání křivky kumulativního úhrnu srážek s křivkou prognostického grafu vhodnosti podmínek pro výskyt plísně révy. Toto vyhodnocování vyžaduje sledovat dešťové srážky pomocí jednoduchého srážkoměru, přičemž se zaznamenávají týdenní úhrny srážek. Květenství jsou nejcitlivější před kvetením a během něj a malé bobule pouze několik týdnů po kvetení. Později se u nich vytváří ontogenetická rezistence. Na napadení plísní révy jsou však citlivé trápiny a stopky, i když bobule dosáhly ontogenetické rezistence. Pozdní napadení bobulí, např. na začátku zaměkání je způsobeno právě napadení trápiny a stopek (Pavloušek, 2011).

Během vegetace probíhá sekundární infekce nepohlavním rozmnožováním – tvorbou sporangii citronovitého tvaru na rozvětvených sporangioforech během vlhkých nocí. Sporangia oddělená ze sporangioforů jsou přenášena větrem. Období od infekce do projevu primárních znaků se nazývá inkubační doba. Za příznivých podmínek, tzn. za příznivých teplot (22 – 26°C) a ovlhčení listů, je inkubační doba krátká a houba dokáže sportovat 3 - 5 dnů od začátku infekce. RUMBOLZ aj. (2002) uvádí tyto podmínky pro sporulaci: relativní vzdušná vlhkost 95 – 100 %, nejméně 4 hod. tmy s teplotou vyšší než 12,5 °C. Pro sporulaci je proto optimální teplá a vlhká noc. V takových případech je třeba předpokládat infekční tlak a zabývat se ochranou (Pavloušek, 2011).

Ochrana proti plísni révy se skládá z přímých a nepřímých zásahů. Nepřímá ochrana představuje maximální péči o listovou stěnu. Velký vliv na výskyt a šíření plísně révy mají mikroklimatické podmínky lokality. Důležité je dále dodržování vzdušnosti prostoru, aby omezili ovlhčení listů na minimální dobu. Součástí nepřímé ochrany je rovněž pěstování odrůd révy vinné se zvýšenou odolností vůči houbovým chorobám. Základem kvalitní přímé ochrany je prognóza a signalizace plísně révy. Pro tento účel se hodí několik metod. K prognóze primární infekce se často využívá metoda SHMÚ Bratislava, dále metoda Ing. A. Mušky a program GALATI. Velmi důležité je stanovení prvního termínu ošetření, a to před kvetením révy vinné. Při ochraně proti plísni révy je třeba dokonalé pokrytí spodní strany listů fungicidy. V období intenzivního růstu a kvetení révy je ochrana kontaktními fungicidy velmi krátkodobá, protože, první přírůstky již nejsou chráněny. Před kvetením je proto kvůli pokrytí celého období až do odkvětu révy vhodnější ošetření systémovými fungicidy. U rizikových skupin fungicidů je třeba zohledňovat možnosti rezistence a dodržovat antirezistentní strategii. I v pozdějších fázích vegetace se ošetřuje především mladá listová plocha na záliscích, které je velmi důležitá pro vyzrávání hroznů. K ochraně lze využívat fungicidy uvedené v seznamu přípravků na ochranu rostlin nebo pomocné látky určené pro biologické vinohradnictví (Pavloušek, 2011).

3.7.2 Padlí révy

Původce padlí je houba *Erysiphe necator* Schwein. (syn. *Uncinula necator* (Schw.) Burr) patří mezi *Ascomycetes* a do *Erysiphales*. Původce padlí – *Erysiphe*

necator je biotrofní parazit, který infikuje pouze druhy patřící do rodu *Vitis*. Do Evropy se choroba rozšířila z Ameriky. První příznaky choroby byly rozpoznány v roce 1845 v Anglii u zahradníka Tuckera na révě vinné ve skleníku. Velmi rychle se pak ničivě šířila do Evropských vinic (Pavloušek, 2011).

Houba napadá všechny zelené části révy. První viditelné příznaky lze pozorovat již brzy po rašení. Jde o bělavošedé povlaky na listech a vrcholcích letorostů, které se označují termínem „ukazovací výhony“. Objevují se obvykle ve stádiu 3 – 6 listů. Vyrůstají přímo z infikovaných oček a jsou zdrojem infekce. Napadení na listech se objevuje na horní i spodní straně listové čepele. Na horní straně jsou skvrny světlejší, na spodní stříbřitě lesklé. Napadená místa získávají hnědou až černou barvu. Okraje listů se svinují směrem nahoru. Silně napadené listy osychají a opadávají. Na napadení padlím révy jsou výrazně citlivá květenství i malé bobule. Bobule jsou pokryté šedým povlakem a při silném napadení brzy po kvetení nekrotizují. Při napadení bobulí od velikosti hrášku může docházet k jejich praskání a výhřezu semen. Poškozené bobule mohou pak druhotně napadat hniloby, bakterie nebo kvasinky, což velmi negativně ovlivňuje kvalitu vína. Citlivé na napadení padlím jsou až do začátku zaměkání (BBCH 85), poté jejich citlivost postupně klesá. Jestliže však dojde k rozvoji infekce již před zaměkáním bobulí, může po zaměkání. Rovněž u padlí se projevuje ontogenetická rezistence (Pavloušek, 2011).

Příznaky napadením padlím révy se mohou také objevit na letorostech a kůře jednoletého dřeva. Na zelených letorostech nacházíme šedé povlaky a na kůře jednoletého dřeva červenohnědé zbarvené skvrny, které však nejdou zdrojem přezimujícího stádia. Na epidermis zeleného rostlinného pletiva vytváří houba husté, bílé až šedé mycelium. Živiny z rostliny odebírá pomocí haustorií, a proto se zařazuje mezi ektoparazity. Přezimuje dvěma způsoby. V našich pěstitelských podmínkách je nejčastější přezimování jako propagule v zimních očkách. V průběhu vývoje zimních oček se dostává mycelium dovnitř očka a zůstává v něm v dormantním stavu až do začátku dalšího vegetačního období. Jestliže dojde k silnému rozvoji houby a napadení před začátkem dřevnatění šupin zimních oček, tvoří se často větší množství mycelia. Tím je dána možnost výraznější infekce v následujícím roce. Přezimující stádium v zimních očkách je citlivé na teploty nižší než -15°C (Pavloušek, 2011).

Houba přezimuje rovněž ve formě askospor v kleistotecích na kůře dřeva. V jarním období se při dešťových srážkách kleistotecia otvírají a uvolňují askospory. Ty po dopadu na hostitelskou rostlinu klíčí při teplotách 20 – 22°C po dobu 4 hodin. Infekce askosporami z konidií je ve střední Evropě velmi ojedinělá. Ke klíčení není nutná kapalná voda, ale vysoká až 90 – 98 % vzdušná vlhkost. Konidie mohou být přenášeny větrem na dlouhé vzdálenosti. Teploty mezi 18 – 28°C podporují růst mycelia. Pro produkci velkého množství konidií jsou příznivé vyšší teploty a vlhké noci. Spory nepříznivě ovlivňuje deštivé počasí a dochází k oslabení mycelia. Intenzivní srážky mohou částečně spory z listů umývat. Teploty nad 33°C nejsou pro rozvoj padlí révy příznivé (Pavloušek, 2011).

Nepřímá ochrana se zakládá především na mikroklimatických podmínkách ve vinici. Důležité je provádět zelené práce, kterými se snižuje vysoká vzdušná vlhkost uvnitř keřů, jež vede k rozvoji padlí révy. Dalším možným způsobem ochrany je vybírat odrůdy se zvýšenou odolností vůči houbovým chorobám. Magarey (2010) uvádí, že velmi nejistá prognóza padlí révy je úloha růží. Padlí u růží je odlišné od padlí révy a vytváří se za odlišných podmínek. Jestliže se objeví tato choroba na růžích, je již většinou příliš pozdě na správnou a včasnou ochranu proti padlí u révy. Přímá ochrana používá prognózu a signalizaci padlí révy. Pro tento účel je možno využít několik metod. Nejčastěji metodu Ing. A. Mušky nebo prognózu pomocí programu GALATI. Zajímavou metodou prognózy padlí révy je metoda, kterou vyvinuli autoři Gubler, Rademacher, Vasquez a Thomas (1999) z univerzity v Davisu. Metoda má označení „Powdery mildew Risk index“ a je založena na poznatku, že vysoké teploty mohou omezovat vývoj padlí révy při delším období s teplotami nad 33 °C. Teplota nad 33 °C trvající 12 hodin a více dokáže zničit padlí úplně, jestliže je přímo exponováno k UV záření (Pavloušek, 2011).

Pro zahájení výpočtu indexu je třeba, aby se vyskytly tři po sobě jdoucí dny s teplotami 21 – 30°C po dobu nejméně 6 hodin.
Index se zvyšuje o 20 bodů za každý den s teplotou 21 – 30°C po dobu méně než 6 hodin.
Index klesá o 10 bodů za každý den s teplotou 21 – 30°C po dobu nejméně 6 hodin.
Index klesá o 10 bodů za každý den s teplotou 21 – 30°C po dobu méně než 6 hodin.
Index 60 – 10 naznačuje, že patogen se může rozmnožovat každých 5 dnů.
Index 0 – 30 naznačuje, že patogen je minimálně aktivní a může se rozmnožovat každých 15 dnů.

Tab. 3 Výpočet hodnoty indexu rizika (Gubler, Rademacher, Vasquez a Thomas, 1999)

Hodnota indexu rizika se pohybuje mezi 0 – 100, kdy 0 bodů je nízké a 100 bodů velmi vysoké riziko infekce. Z tabulky také jasně vyplývají příznivé podmínky pro infekci padlím révy. Přímou ochranu lze zahájit podle předpokladu tvorby a přezimování mycelia. Mrazové teploty působí na přezimování houby negativně. Předpokladem menší tvorby přezimujícího stádia jsou rovněž pozdní infekce (červenec, srpen) v minulé vegetaci. V příznivých podmínkách se padlí révy rozvíjí velmi rychle a intenzivně. Ošetření se proto často zahájí jedním nebo dvěma ošetřeními před kvetením a následně se opakuje podle podmínek pro rozvoj houby. Před kvetením zvolíme ošetření systémovým fungicidem. Po kvetení révy se ošetřuje v závislosti na podmínkách příznivých pro výskyt patogenu kontaktními a systémovými fungicidy. K ochraně lze využívat fungicidy uvedené v seznamu přípravků na ochranu rostlin nebo pomocné látky určené pro biologické vinohradnictví (Pavloušek, 2011).

Síraté přípravky působí také díky odpařování síry z povrchových pletiv rostliny. Jejich aplikaci proto vyhovují teploty vyšší než 15 °C. Síra v plynné formě se může rozšiřovat listovou plochou. U rizikových skupin fungicidů je třeba zohledňovat možnosti rezistence a dodržovat antirezistentní strategii (Pavloušek, 2011).

3.7.3 Šedá hniloba hroznů révy

Původcem hniloby révy je houba *Botrytis cinerea*, která se vyskytuje především ve své anamorfní formě. *Botrytis cinerea* se neobjevuje pouze na révě vinné, ale má velmi široký okruh hostitelských rostlin. Houba žije převážně saprofytický. Bobule napadené *Botrytis cinerea* produkují vysoký obsah enzymu „lakázy“, který oxiduje antokyaniny a flavonoidy a způsobuje hnědnutí moštu nebo vína. Bílá vína potom získávají nahnědlý odstín a červená mají nízkou barvu. V malé míře může šedá hniloba hroznů révy ovlivňovat kvalitu i pozitivně, a to při výskytu „ušlechtilé formy“. Letorost může být napaden velmi brzy po rašení révy, ve stádiu 3 – 6 listů. Místa nákazy se zbarvují zelenohnědě, letorosty uvadají a odlamují se. V době intenzivního růstu jsou napadány i mladé listy, které se zbarvují šedohnědě a za příznivých podmínek jsou potaženy šedým povlakem konidioforů s konidii. Šedá hniloba se může vyskytovat i na květenstvích, zejména za deštivého počasí v průběhu kvetení, kdy květní čepičky často opadají jen nedokonale, a právě na nich se rozvíjí *Botrytis cinerea*. Květenství hnědne a usychá. Napadení se také může vyskytovat na třapině, někdy i v kombinaci s jejím abiotickým vadnutím. Třapina postupně hnědne, uvadá a hrozny mohou zcela opadávat. Na napadeném jednoletém dřevě se ukazuje žlutobílé zbarvení a černé okrouhlé skvrny tvořené sklerociem. Při velmi silné nákaze jednoleté dřevo nevyzrává a přes zimu usychá (Pavloušek, 2011).

Houba přezimuje jako podhoubí nebo sklerocie v napadených částech rostliny. Zdrojem infekce proto mohou být napadené letorosty, zbytky hroznů, úponky, zbytky třapiny či listů. V aktuálním vegetačním období jsou to infikované listy, zbytky květů a zejména květní čepičky. Platí proto pravidlo, že jestliže šedá hniloba hroznů silně postihla vinici v minulém vegetačním období nebo se vyskytla infekce na listech brzy na jaře, je třeba věnovat zvýšenou pozornost ochraně již před kvetením. Za příznivého počasí se tvoří větší množství konidioforů s konidii, které se na začátku vegetačního období přenáší větrem nebo rozstříkáváním dešťových kapek na zelené rostlinné pletivo. Klíčení konidií a počátek infekce probíhá za vysoké vlhkosti a příznivé teploty. Po proniknutí do pletiva hostitele hyfy rostou, rozvětřují se a vytvoří husté šedé mycelium, na němž se vyvíjí konidiofory s konidii. Klíčovými parametry pro rozvoj šedé hniloby jsou teplota a doba ovlhčení. Optimální je teplota mezi 20 – 24°C (Pavloušek, 2011).

Dva způsoby, kterými může *Botrytis cinerea* napadat bobule révy vinné.

- Prvním způsobem je latentní infekce, která vzniká během kvetení révy. Houba se vyskytuje v nekrotickém pletivu po opadu květní čepičky. Po kvetení je rozvoj houby inhibován stilbeny, které se tvoří v zelených pletivech. Při zrání hroznů obsah stilbenů klesá a *Botrytis cinerea* napadá bobule (Evans, 2010).
- Druhou cestou mohou být spory, které přežívají na zbytcích květů, třápinách a listech. Šedá hniloba se rozvíjí až po zaměkání bobulí (Evans, 2010).

Rozvoj infekce z latentních zdrojů podporuje vysoká vlhkost vzduchu v zóně hroznů i vysoká vlhkost půdy. Houba může být po dlouhou dobu v latentním stavu a projeví se, až začnou bobule zaměkat. Potom se hniloba většinou rozvíjí zevnitř hroznů, od třápiny. Houba napadá bobule většinou mikropórami ve slupce, během kvetení, nebo přes mechanická poškození. Na napadení šedou hnilobou jsou citlivější husté hrozny. Hustě uspořádané bobule mají pórovitější slupku, tenkou kutikulu a v místě dotyku je porušená voskovitá vrstva, která chrání jejich povrch. Ovlhčení hroznů zvyšuje riziko rozvoje choroby. Klíčení spor stimuluje cukry a aminokyseliny, které z bobule unikají (Pavloušek, 2011).

Chránit révu vinou proti šedé hnilobě je možné preventivními opatřeními a přímým zásahem s využitím produktů na ochranu rostlin nebo pomocnými prostředky pro zlepšení zdravotního stavu révy (Pavloušek, 2011).

4 MATERIÁL A METODY

Vzájemně mezi sebou proběhlo křížení Franko-amerických hybridů ('Bianca', 'Hibernal') a ověřil se přenos genů odolnosti u odrůdy 'Hibernal'.

Pro vyhodnocení úrovně napadení plísní révou se používají různé deskriptory (klasifikátory), jako OIV, IPGRI, UPOV, EPPO aj. Tyto deskriptory jsou hodně složité, a proto si někteří autoři zabývající se testováním plísně révové vytvořili vlastní zjednodušené modifikace. K vyhodnocení byl modifikován a použit deskriptor podle Kozma a Dula (2003).

Úroveň	Procento napadení	Příznaky
1	0 – 0,5%	Symptomy nebo hypersenzitivní reakce, malinké skvrny, bez sporulace
2	0,5 – 10%	Hypersenzitivní reakce, velmi lehká sporulace
3	10 – 30%	Hypersenzitivní reakce, lehká sporulace
4	30 – 50%	Velké olejové skvrny, silná sporulace
5	>50%	Velké olejové skvrny, velmi silná sporulace, nekrózy

Tab. 4. Modifikovaná stupnice napadení plísně révové vycházející z deskriptoru míry napadení interspecifických hybridů podle Kozma a Dula (2003)

4.1 Výchozí materiál

Do vzájemného křížení byly vybrány odrůdy 'Bianca' a 'Hibernal' z vinice Mendelea ZF MZLU. Mezi nejodolnější odrůdy k plísní révové patří zejména odrůda 'Bianca' (Vanek a kol., 1995). Odrůda 'Hibernal' je poměrně odolná k plísní révové, ale navíc splňuje i předpoklad výroby kvalitního vína (Becker, 2000).

4.1.1 BIANCA



Raná bílá moštová odrůda.

Původ: Vyšlechtěna v Maďarsku z křížení Seyve Villard 12375 x Bouvierův hrozen.

Obr. 3 odrůda Bianca

Odrůdové znaky: List okrouhlý, pětilaločnatý s pilovitým okrajem. Výkroje mělce naznačené, stopkový výřez tvaru U, stopka dlouhá. Povrch listu hladký, tmavě zelený, lesklý. Hrozen středně velký, řidší, válcovitý. Bobule kulatá, středně velká, zelenožlutá, slupka pevná, dužnina rozplývavá. Mrazům i houbovým chorobám odolává výborně, pro svou nenáročnost se hodí i do okrajových poloh, ale potřebuje dostatek vody. Víno je extraktivní s ovocnou příchutí, obsah kyselin v moště však během dozrávání rychle klesá, má schopnost vytvářet vysoké množství cukrů. Termín sklizně se proto musí řídit obsahem kyselin (Sedlo, 2008).

4.1.2 HIBERNAL



Pozdní moštová bílá odrůda.

Obr. 4 Odrůda Hibernál

Původ: Německo, kříženec /‘Seibel 7053‘ x ‘Ryzlink rýnský‘ klon 239 Gm/F2 generace. Odrůda byla křížena ve výzkumném ústavu Geisenteimu. V Německu se pěstuje na necelých 100 ha, ve Švýcarsku na menší ploše. V ČR zatím významně rozšířena není. Rok zapsání do Státní odrůdové knihy 2004.

Odrůdové znaky: List je středně velký až velký, tvar čepele srdcovitý, bez vyznačených laloků s velmi mělkými horními bočními výkroji. Vrchní strana čepele listu je středně puchýřkovitá. Hrozen je středně velký, hustý se středně dlouhou stopkou. Bobule je malá až středně velká, kulatá. Barva bobule je červenošedá, dužnina je bez zbarvení. Doba rašení oček je střední. Růst je středně bujný s polovzpřímenými letorosty. Sklízňová zralost začíná v poslední dekádě října.

Odolnost: Proti napadení plísní révou a padlím révovým je odrůda odolná, proti napadení plísní šedou je středně odolná až odolná. Proti poškození zimními i jarními je odrůda odolná.

Poloha a půda: Vzhledem vegetační doby je odrůda náročná na stanoviště, na půdu náročná není. Nesnáší však extrémně suché půdy.

Podnože: Volíme podle typu půd a tvaru keře. Vhodné jsou ‘Kober 5BB‘, ‘Teleki 5C‘, SO 4‘.

Vedení a řez: Hodí se pro všechny způsoby vedení, snáší dlouhý i krátký řez.

Výnos: Je středně vysoký o průměrné cukernatosti téměř 22°NM.

Hodnocení: Víno je výborné kvality, jemně aromatické vůně, kořenité, charakteru a typu 'Ryzlinku rýnského'. Pro svoji vyšší odolnost k houbovým chorobám je odrůda vhodná pro integrované vinohradnictví případně i k produkci biovína (Sedlo, 2008).

4.2 Polní pozorování (screening)

Polní screening se uskutečnil na půdě Mendelea v roce 2014 celé jedno vegetační období. Proběhlo otestování míry odolnosti semenáčů v roce 2013 (vzešlých z křížení v roce 2012). Z těchto semenáčů byla namátkově vybrána část z nich (10 ks z hlediska nedostatku prostoru) a zasázena do půdy ve vinici Mendelea v hustém sponu 0,30 x 1,25 m koncem října 2013. Semenáče nebyly po celý rok chemicky ošetřovány proti houbovým chorobám.

4.2.1 Charakteristika pozemku

Polní pokus probíhal na pozemku Zahradnické fakulty Mendelovy univerzity v Lednici na Moravě. Vinice je vysázena na pozemku v areálu Mendelea s nadmořskou výškou 177 m. n. m. Lednice na Moravě se nachází v kukuřičném výrobním typu, subtypu ječném. Oblast je charakterizována jako teplá, podoblast suchá, okresek opět teplý a suchý s mírnou zimou. Podle dlouhodobého průměru, průměrná teplota dosahuje 10 °C a průměrný úhrn srážek činí 517,6 mm.

Poloha je dobře osluněná, otevřená. Pozemek je mírně skloněný na jihozápad a převážně rovinný. Půda je hlinitopísčité s obsahem 20 – 25% jílovitých částic. Půdy jsou rozpustné a lehké. Humusový horizont je hluboký 0,4 – 0,6 m. Převažují severozápadní větry přicházející dolnomoravským úvalem. Pozemek lemuje stromořadí Bezručovy aleje, která jej chrání před větry. Bezručova alej je po obou stranách Valtické cesty a sousedí na západní straně s pozemkem.

Mendeleum je vědecko-výzkumné pracoviště Zahradnické fakulty Mendelovi univerzity Brno, v Lednici na Moravě a patří k nejstarším geneticko–šlechtitelským pracovištím v České republice.

4.2.2 Charakteristika klimatu

Katastr Lednice patří do makroblasti teplé, oblasti teplé a sumou aktivních teplot větších než 2800 °C a to podle agroklimatické rajonizace. Podoblasti převážně suché. Hodnota klimatického ukazatele zavlažení v rozmezí 100 – 150 mm, okresek

s T_{\min} -18°C . Pouze 1 až 2 krát za 10 let se zde vyskytuje absolutní minimum pod -20°C .

Pavlovské vrchy ovlivňují místní klima a vytváří poměrně velký srážkový stín. Srážky přicházejí ze severozápadu v poměrně malém množství. Směr větrů převládá severozápadní a jihovýchodní.

Nejteplejší měsíc v roce 2014 byl červenec s průměrnou teplotou $20,7^{\circ}\text{C}$, nejchladnější měsíc byl leden s průměrnou teplotou $0,9^{\circ}\text{C}$. Maximální naměřená teplota byla 20. července, a to $25,9^{\circ}\text{C}$. Průměrný roční počet dnů se srážkami je 85. Dlouhodobý průměr ročního úhrnu srážek je 524 mm. Z toho 60% srážek připadá na vegetační období. Teplota vzduchu nad 10°C nastupuje v průměru 5. dubna a končí 15. října, což je 185 dní.

4.2.3 Průběh počasí a tlak houbových chorob v roce 2014

Zima byla velmi teplá a převážně suchá. Všechny zimní měsíce byly teplotně nadprůměrné a mimo leden srážkově podprůměrné. Teploty nepoklesly pod -15°C . Obdobný charakter měl i počátek jarního období. V důsledku velmi teplého března došlo k dřívějšímu nástupu vegetace révy. Také první týden a převážná část 3. dekády dubna byly velmi teplé. Ve 3. týdnu dubna poklesly lokálně teploty pod bod mrazu. Srážkově byl duben podprůměrný. Vydatnější dešťové srážky byly především ve 2. týdnu a v závěru měsíce. Květen byl chladnější, vyšší teploty byly především na počátku 1. týdne a ve 4. týdnu. Dešťové srážky se v květnu pohybovaly v blízkosti normálu, jen lokálně byly významně nadprůměrné. Červen byl převážně teplý, velmi teplý byl především 2. týden a závěr měsíce. Srážkově byl červen významně podprůměrný. Červenec byl velmi teplý a srážkově v různém stupni nadprůměrný. Velmi teplý byl závěr 1. týdne, 3. a 4. týdne. Vydatné dešťové srážky byly především ve 3. dekádě měsíce. První dekáda srpna byla velmi teplá, v dalším období se střídala teplejší a chladná období. Celkově byl srpen teplotně podprůměrný a srážkově nadprůměrný. Dešťové srážky byly především ve 2. polovině měsíce. Mimořádný byl i počet dešťových dnů. Září bylo teplotně střídavé, teplejší byla 1. Dekáda a konec 3. týdne měsíce. Srážkově bylo září převážně vysoce nadprůměrné.

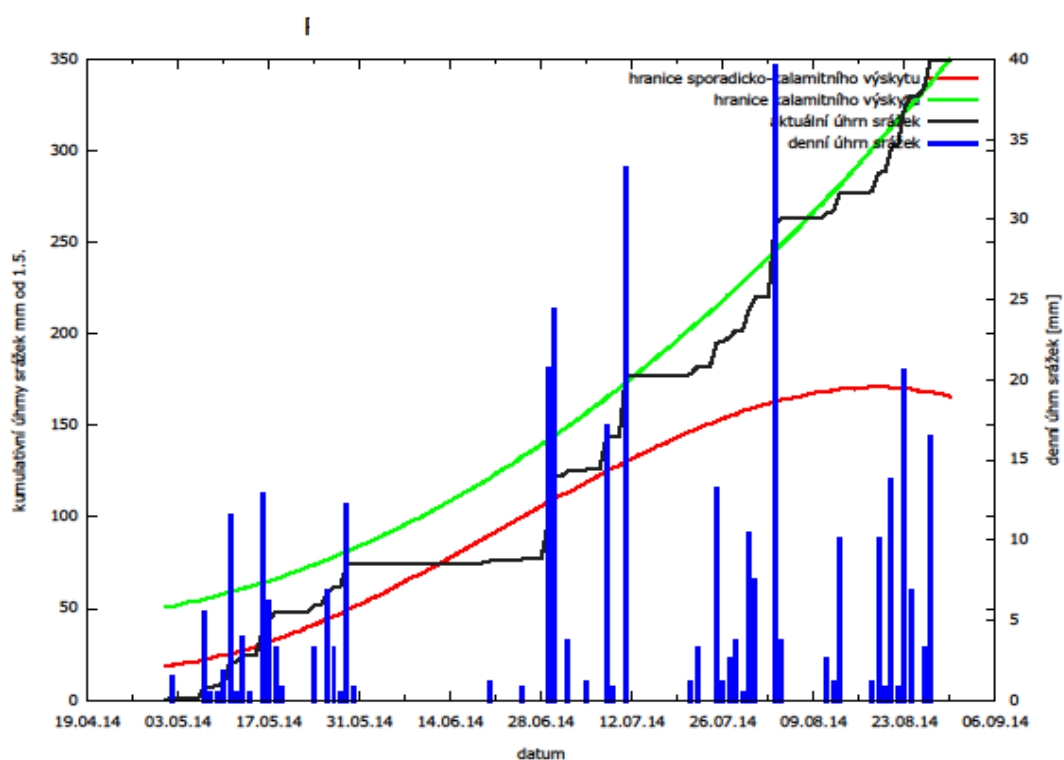
Charakteristické pro průběh počasí v předloňském roce bylo střídání teplých a chladných period, suchých a vlhkých období. Dešťové srážky měly i v předloňském roce převážně lokální charakter.

Přezimující oospory plísně révové byly zralé již v 1. týdnu května. Od počátku zralosti může docházet k primárním infekcím. Ke splnění podmínek primární infekce došlo poprvé až v závěru května a na počátku června. V červenci přes lokálně příznivé podmínky nedošlo k významnému šíření. Změna nastala až v průběhu vydatných dešťových srážek ve 2. polovině srpna a na začátku září. Tam, kde byly výskyty, a byla ukončena ochrana, došlo i k významnému napadení a předčasnému opadu listů.

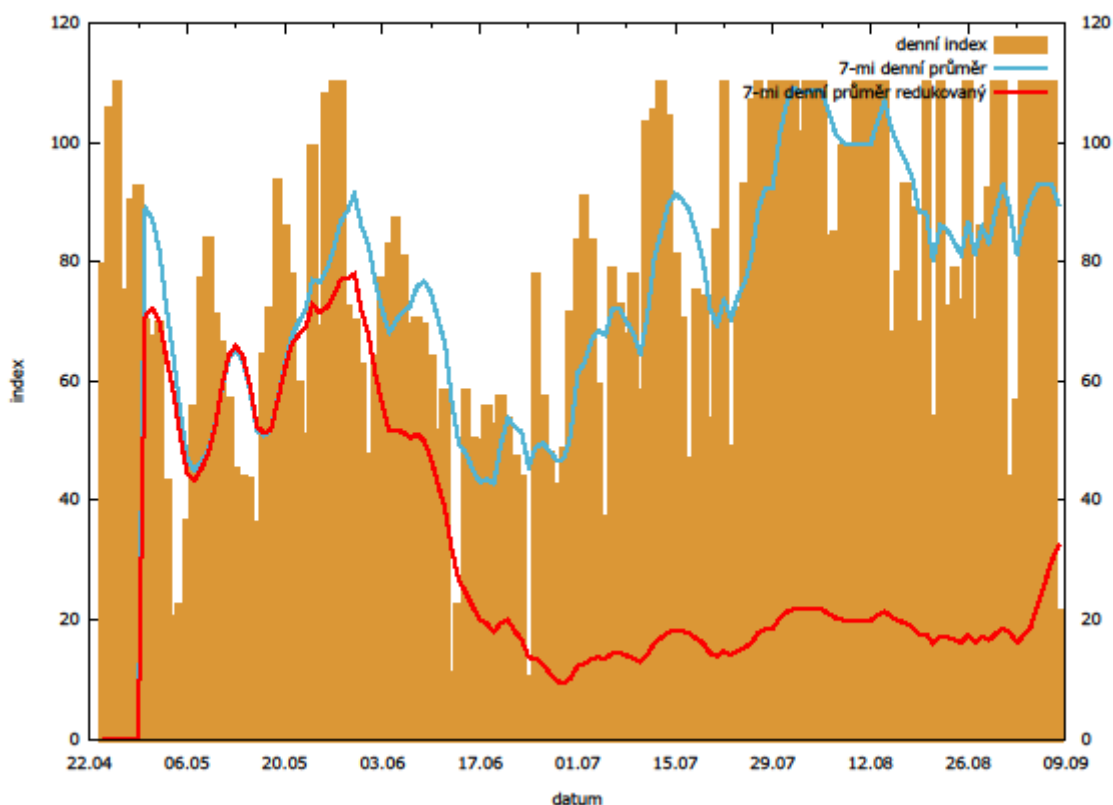
Datum	Prům. teplota (°C)	Min. teplota	Jednodenní srážky	Dvoudenní srážky	Jednodenní podmínky	Dvoudenní podmínky
11.5.2014	12,5	8,5	11,5	13,2	splněny	Splněny
16.5.2014	10,7	8,9	12,8	12,8	splněny	Splněny
17.5.2014	11,1	9,8	2,5	8,3	nesplněny	Splněny
27.5.2014	16,2	13,3	3,2	10	nesplněny	Splněny
29.5.2014	12,9	9,2	10,2	12,5	splněny	Splněny
29.6.2014	21,8	16	18,6	18,6	splněny	Splněny
30.6.2014	15,9	14	26,4	45	splněny	Splněny
1.7.2014	17	10,8	0	26,4	nesplněny	Splněny
9.7.2014	17,8	14,1	8,6	17,9	nesplněny	Splněny
11.7.2014	17,3	14,2	33,2	33,2	splněny	Splněny
12.7.2014	19,1	13,5	0,0	33,2	nesplněny	Splněny
25.7.2014	20,4	12,5	13,2	13,2	splněny	Splněny
26.7.2014	21,6	13,3	1,1	14,3	nesplněny	Splněny
31.7.2014	20,9	17,9	11,8	17,8	splněny	Splněny
3.8.2014	21,2	16,5	35,0	35,0	splněny	Splněny
4.8.2014	20,2	16,1	8,2	43,2	nesplněny	Splněny
13.8.2014	17,9	14,8	10,0	11,4	nesplněny	Splněny
19.8.2014	15,3	12,3	10,0	11,1	splněny	Splněny
20.8.2014	15,2	12,0	0,4	10,4	nesplněny	Splněny

21.8.2014	15,1	10,7	14,0	14,4	splněny	Splněny
22.8.2014	14,5	10,2	0,7	14,8	nesplněny	Splněny
23.8.2014	15,9	9,6	20,2	20,9	splněny	Splněny
24.8.2014	15,3	9,8	7,2	27,4	nesplněno	Splněno
27.8.2014	14,8	9,3	17,1	19,6	splněno	Splněno
1.9.2014	14,8	13,8	28,3	36,5	splněny	Splněny
2.9.2014	14,5	13,3	18,3	46,5	splněny	Splněny
3.9.2014	17,1	15,3	0,0	18,3	nesplněny	Splněny

Tab. 5 Signalizace splnění podmínek primárních infekcí plísně réвовé



graf 1 Prognostický graf podle Šteberly - Lednice



Graf 2 Signalizace padlí na révě podle Kasta – Lednice 2014

Významný byl výskyt padlí révy. V důsledku časného a silného výskytu v předchozím roce byl předpoklad početných zdrojů primární infekce a teploty v průběhu zimy nepoklesly pod -15°C , při niž dochází k eradikaci patogenu. Za těchto podmínek mělo být ošetření zahájeno již ve fázi 5 – 6 listů. V tomto období však nebyly nevhodné podmínky pro patogen, takže bylo ošetření oddáleno. První ošetření bylo prováděno až při oteplení ve fázi 8. listu. Velmi příznivý pro patogen byl 2. týden června. V tomto období došlo k prvnímu významnějšímu šíření choroby. Rozhodující pro šíření byly dlouhodobě příznivé podmínky v závěru června a v první polovině července. V tomto období došlo, pokud nebyla prováděna dostatečně intenzivní ochrana, k významným výskytům choroby.

Lokálně vydatné dešťové srážky a nižší teploty ve 2. Polovině května vytvořily příznivé podmínky pro výskyt botrytické hniloby květenství a skvrnitosti listů révy. Při napadení došlo u náchylných odrůd k zavadání a zasychání vrcholků letorostů včetně květenství i k napadení listů. Šíření choroby zastavila změna počasí od začátku června. V období kvetení a především ve fázi dokvétání byly nepříznivé podmínky pro šíření

patogenu. Ošetření náchylných odrůd s hustým hroznem v tomto období nebylo potřebné. Významná změna nastala od poloviny srpna, kdy opakované deště vytvořily velmi vhodné podmínky pro výskyt šedé hniloby hroznů révy. V důsledku velmi příznivých podmínek pro patogen došlo lokálně k velmi silnému napadení, především náchylných odrůd.

V souvislosti s průběhem počasí v období dozrávání byly také silnější výskyty octové hniloby. Postižené bobule se zbarvují světle hnědě (bílé odrůdy) nebo červenohnědě (modré odrůdy) a dužnina bobulí je kašovitě rozrušená. Typická je octová vůně napadených hroznů. Původci hniloby jsou octové bakterie (rod *Acetobacter*) a divoké kvasinky (rody *Candida*, *Pichia aj.*), které atakují poškozené bobule.

Lokálně byly zaznamenány také silnější výskyty modré hniloby hroznů (*Penicillium expansum*). Napadeny byly především hrozny poškozené padlím révy.

5 VÝSLEDKY

Míra odolnosti proti plísni révové, byla prověřena u Všech testovaných semenáčků. Testováno bylo 20 semenáčků, vzešlých ze vzájemného křížení Franko-amerických hybridů ('Bianca', 'Hibernal')

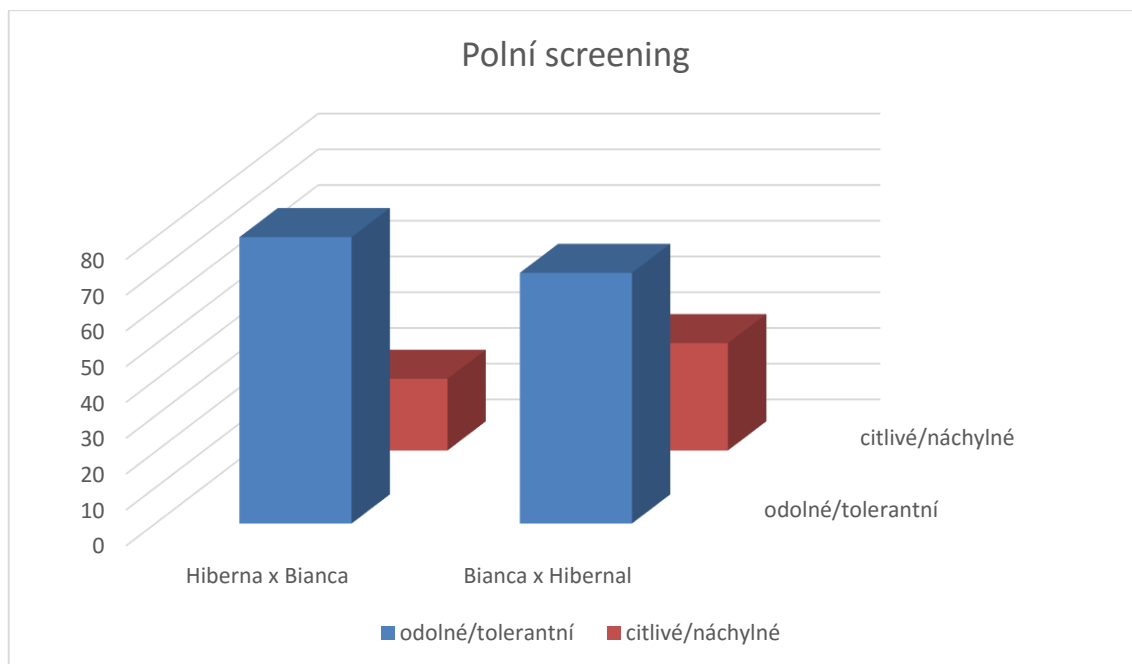
	Rezistent	Rez/Tol	Tolerant	Citlivý	Náchylný
Kombinace	Úroveň (stupeň) rezistence				
	1	2	3	4	5
Hiberna x Bianca	3	3	2	1	1
Bianca x Hibernal	3	3	1	2	1

Tab. 6 popisuje poměry tolerantních, odolných semenáčků (úroveň 1-3) a citlivých, náchylných (úroveň 4-5) u daných kombinací.

	rez. průměr	rozptyl	náchyl. průměr	Rozptyl
Hibernal x Bianca	2,666667	0,222222	1	0
Bianca x Hibernal	2,333333	0,888889	1,5	0,25

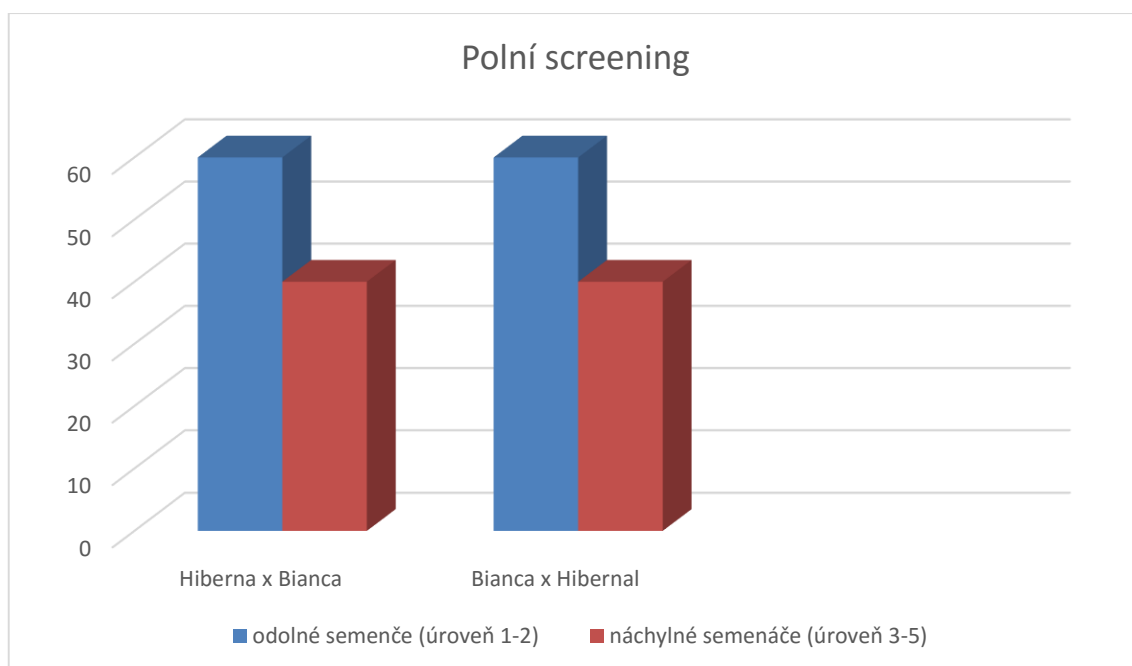
Tab. 7 Průměrná rezistence, náchylnost a rozptyl u pozorovaných semenáčků

V tab. je uvedena průměrná rezistence i náchylnost u sledovaných semenáčků. Dále vidíme hodnotu rozptylu u jednotlivých pozorování.



Graf 3 uvádí poměry odolných/tolerantních semenáčů (1-3) a citlivých/náchylných semenáčů (4-5).

Graf č.3 znázorňuje procentuální zastoupení odolných a náchylných semenáčů. Jak vidíme křížení 'Hibernal x Bianca' je na 80% odolné proti plísni révové a křížení ' Bianca x Hibernal', je na 70% odolné proti plísni révové.



Graf 4 popisuje procentuální zastoupení odolnosti u všech semenáčů.

Graf 4 popisuje zastoupení velmi odolných semenáčů (úroveň 1-2) a citlivým až náchylných semenáčů (úroveň 3-5). Jak vidíme v grafu, obě křížení sejevily, že mají stejnou odolnost k plísni révové.

6 DISKUZE

Diplomová práce s názvem: „Hodnocení vybraných potomstev křížení révy vinné z hlediska rezistence k houbovým chorobám“ se zabývala problematikou hodnocení rezistence u révy vinné k plísni révové (*Plasmopara viticola*). Experimentální měření probíhala na stanovišti v Lednici.

S nástupem moderního vinohradnictví a rozšířením ekologické produkce je hlavním cílem minimalizovat vnější chemické vstupy a udržet vysokou kvalitu hroznů. Šlechtěním nových odrůd, které jsou geneticky odolné vůči houbovým chorobám, si vytváříme dobrý předpoklad pro vypěstování zdravé rostliny a získání kvalitních hroznů. Kvalita hroznů závisí nejen na rezistenci odrůdy vůči houbovým chorobám, ale i na dalších faktorech jako stanoviště, půda, podnebí, ročník, výnos, ošetřování vinice. Šlechtitelská práce je velmi náročná, zdlouhavá a mnohdy i neúspěšná.

Mezi základní šlechtitelské metody patří bezesporu křížení – *hybridizace*. Křížením dvou rodičovských (parentálních) forem s rozdílnými znaky vzniká hybridní potomstvo označované jako hybridní semenáčky – křížence (Jelínek, 1945). Podstatou je spojení genetického základu dvou i více odrůd do jedné nové odrůdy. Rozmanitost genofondu umožňuje spojovat v jednom genotypu vlastnosti, které byly vytvořeny v průběhu evoluce v různých ekologicko-geografických skupinách (Volynkin, 2009).

Do pokusu se vyberou takové rodičovské odrůdy, které se svými vlastnostmi nejvíce přibližují požadovanému výsledku. Za mateční volíme odrůdy, jejichž znaky chceme v nové odrůdě přednostně fixovat (Pospíšilová a Korpas, 1998). Gen rezistence Rpv3 (*Rezistence to plasmopara viticola 3*) byl poprvé identifikován při mapování populace hybridů Regent x Frankovka (Fischer aj., 2004). Bellin aj. (2009) soudí, že za odolnost odrůdy Bianca k *Plasmopara viticola* odpovídá také jeden dominantní gen. Tato rezistence se shoduje s Rpv3 odrůdy Regent. Rezistentní alela Rpv3 vyvolá hypersenzitivní reakci do 48 hodin od inokulace (naočkování) listů a výsledkem jsou nekrotické skvrny, které lze považovat za fenotypový projev alely Rpv3.

Křížení testovaných hybridních semenáčků proběhlo standartním způsobem, tj. kastrace květních lat, jejich izolace, přenos pylu požadované odrůdy, sběr a stratifikace semen, výsev těchto semen. Je velmi těžké získat stejný počet hybridních semenáčků v jednotlivých kombinacích vlivem různých faktorů během hybridizace. Denzer a kol. (1995) uvádí, že získané hodnoty odolnosti z pokusů prováděných provokačních metod

ve skleníku nebo pařeništi či laboratoři nejsou zpravidla shodné s hodnotami, jaké bude táž odrůda či hybrid vykazovat v polních podmínkách. Dále uvádí jako vhodnou laboratorní metodu listových terčíků pro zjišťování míry odolnosti proti plísni révy. Někteří autoři např. Kozma (2000), Eibach (2000), Vanek (1995), Becker (2002), Korbuly (2002) uvádí, že odrůda 'Bianca' vykazuje vyšší odolnost k místním rasám plísně révové. Toto tvrzení se potvrdilo i v pokusu mé práce.

Odrůda	Citlivost proti houbovým chorobám		
	Plíseň révová	Padlí révové	Plíseň šedá
Bianca	7	7	9
Hibernal	5	6	5

Tab. 8 Citlivost rodičovských odrůd k plísni révové - hodnoceno deskriptorem OIV. Sestaveno dle: Vanek a kol., 1995; Basler a Peeninger, 2000 (1 – odrůda je náchylná/9 – odrůda je rezistentní)

Nové semenáče můžeme testovat různými způsoby a metodami. V roce 2000 Cindrič a kol., testovali semenáče vzniklé z interspecifického křížení v polních podmínkách za působení přirozeného infekčního tlaku v daném roce. Vlivem závislosti na síle infekčního tlaku a době působení je tato metoda zdlouhavá a mnohdy málo přesná.

V pokusu se potvrdilo, že při křížení s Odrůdou Bianca, je možné získat potomstva s vyšší odolností proti plísni révové. Nesmíme zapomenout, že její odolnost, je úzce vyhraněna (vertikální typ rezistence). Hybrydi vzniklí křížením s odrůdou Hibernal jsou méně odolní. Rezistence je pouze střední k plísni révové. Rezistence rostliny je závislá na rase patogena a oblastech pěstování.

Heritabilita odolnosti proti plísni révové u nově vzniklých hybridů je prokazatelná.

7 ZÁVĚR

Postupným rozšiřováním plísně révové do všech významných vinohradnických oblastí bylo nutností zaměřit se na šlechtění odolných odrůd k této plísni. Dnes se proto nejvíce prosazují nové odolné odrůdy tzv. *interspecifické*. Ty vzešly křížením druhu *Vitis vinifera* L. “evropské révy“ s dalšími *Vitis spp.* “americkými nebo asijskými druhy“. Stupeň rezistence u těchto odrůd nám ovlivňuje spousta faktorů např. klimatické podmínky stanoviště, průběh počasí, pěstitelský tvar, chemická ošetření vinice. Proti houbovým chorobám se započalo šlechtění již v 19. století a stále trvá a zdokonaluje se.

Do pokusu byly zvoleny jako mateřské rostliny odrůda ‘Bianca’ a ‘Hibernal’. Odrůda ‘Bianca’ je dobrým donorem rezistence proti plísni révové. Tato skutečnost se potvrdila i v této práci. Odrůda ‘Hibernal’ má pouze střední rezistenci k plísni révové. Celkově vzniklí hybridy jsou průkazně rezistentní k místním rasám patogena.

8 SOUHRN

Hodnocení vybraných potomstev křížení révy vinné z hlediska rezistence k houbovým chorobám

Diplomová práce se zabývá hodnocením rezistence k houbovým chorobám u vybraných křížení révy vinné. Pokus byl prováděn v roce 2014 na pokusném stanovišti v katastrálním území Lednice na Moravě. Testováno bylo 20 semenáčů vzešlých ze vzájemného křížení hybridů. V pokusu se potvrdilo, že odrůda Bianca je dobrým donorem rezistence a tudíž je téměř rezistentní k místním rasám patogena plísně révové. Odrůda Hibernál je středně odolná vůči plísni révové.

Klíčová slova: houbové choroby, rezistence, křížení, polní pozorování,

9 RESUME

Evaluation of selected progenies of crossing grapevine in terms of resistance to fungal diseases

This thesis deals with the evaluation of resistance to fungal diseases at selected crossings of grapevine. The experiment was done in 2014 at the experimental station in the cadastral region of Lednice in Moravia. 20 seedlings emerged from intersecting hybrids were tested. The experiment confirmed that the variety Bianca is a good donor of the resistance and therefore it is almost resistant to local races of pathogen of grapevine mildew. Hiberna variety is moderately resistant to grapevine mildew.

Keywords: fungal diseases, resistance, crossing, field observations,

10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ALLEWELDT, G., 1980: *The breeding of fungus and Phylloxera – Resistant Grapevine Varieties*. Proceedings of 3rd International Symposium on Grape Breeding: str. 242 – 250.
- BECKER, N., ZIMMERMANN, H. 1980: *Wine Quality of Newly – Bred Grape Varieties Resistant to Downy Mildew*. Proceedings of 3rd International Symposium on Grape Breeding: str. 308 – 323.
- BELLIN, D., PERESSOTTI, E., MERDINOGLU, D., WIDEMANN-MERDINOGLU, S., ADAM-BLONDON, A.F., CIPRIANI, G. MORGANTE, M., TESTOLIN, R., DI CASPERO, G., 2009: Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theor. Appl. Genet.*, 120: 163 – 176.
- BREIDER, H., WOLF, E., 1967: *qualität und Resistenz V. Über das Vorkommen von Biostatica in der Gattung Vitis und ihren Bastarden*. *Der Züchter*, 36: 366 – 379.
- BREIDER, H., WOLF, E., SCHMITT, A. 1965: *Embryonalschäden nach Genuss von Hybridenweinen*. *Weinberg und Keller*, 12: 165 – 182.
- BROWN, Jack a P CALIGARI. *An introduction to plant breeding*. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2008, viii, 209 p. ISBN 1405133449.
- DENZER, H.-STAUDT, G.-SCHLOSSER,E.: The behavior of *Plasmopara viticola* on resistant and susceptible grapevine varieties. *Vitis* (34), 1995, s. 113-117. ISSN: 0042-7500
- EVANS, K. J., 2010: *Botrytis. Questions and answer*. Fact Sheet GWRDC, Australia.
- FABEROVÁ, Iva (ed.). *Historie a současný stav práce s genofondy v ČR: sborník referátů ze semináře konaného 11. listopadu 2001 ve VÚRV, pracoviště Olomouc*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, c2002. Genetické zdroje. ISBN 80-86555-14-3.
- FICKE, A., GADOURY, D. M., SEEM, R. C., 2002: *Ontogenic resistance and plant disease management: A case study of grape powdery mildew*. *Phytopathology*, 92: 671 – 675.

GRAMAN, J., ČURN, V. *Šlechtění rostlin: (obecná část)*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1997, 133 s. ISBN 80-7040-255-5.

GREENBERG, J. T. (1997): Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 525-545.

GUBLER, W. D., RADEMACHER, M. R., VASQUEZ, S. J., THOMAS, C. S., 1999: *Control of powdery mildew using the UC Davis powdery mildew risk index*. ASPnet Feature. Published online. The American Phytopathological Society.

JELÍNEK, J.: *Nauka o dědičnosti a její význam v ovocnictví*. Slovenská ovocnářská společnost, Bratislava 1945.)

KOZMA, P. - DULA, T.: Inheritance of resistance to downy mildew and powdery mildew of hybrid family *Muscadinia* x *V. vinifera* x *V. amurensis* x Franco-american hybrid. *Acta Horticulturae* (no 603), 2003, s. 457-463. ISSN: 0567-7572

KOZMA, P., 2002 *Goals and methods in grape resistance breeding in Hungary*. *International Journal of Horticultural Science*, 8, 41 – 46.

KOZMA, P., ml.: Winegrape breeding for fungus disease resistance. VII International symposium on grapevine genetics and breeding. *Acta Horticulturae* (528), 2000, s. 511516. ISSN: 0567-7572

MAGAREY, P., 2010: *Powdery Mildew, Questions and Answers*. Fact Sheet GWRDC, Australia.

NIKS, R. E. a kol. *Breeding crops with resistance to diseases and pests*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 2011. 198 s. ISBN 978-90-8686-171-2.

PAVLOUŠEK, P. -- SOTOLÁŘ, R. -- NEČAS, T. New experience with agronomic properties of new red wine fungus resistant varieties. In *Proceedings of XXVIII th World Congress of Vine and Wine, 4-9 July, Wien, Austria*. 1. vyd. Wien: Kongress sekretariat (OIV) - Austropa Interconvention, 2004, s. 14.

PAVLOUŠEK, P. 2010: Rezistence révy vinné: část 1. Objasnění genetické podstaty rezistence. *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod s vínem* /. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, roč. 103, č. 1-2, s. 26-30.

PAVLOUŠEK, P. 2010: Rezistence révy vinné: část 2. Objasnění genetické podstaty rezistence. *Vinařský obzor: Odborný časopis pro vinohradnictví, sklepní hospodářství a obchod s vínem* /. Velké Bílovice: Svaz vinařů České republiky, roč. 103, č. 3, s. 26-30.

PAVLOUŠEK, P. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2.

PONTIER, D.; Balague C.; Roby D. (1998): The hypersensitive response. *C. R. Acad. Sci. III, Sci. Vie* 321, 721-734.

POSPÍŠILOVÁ, D. – KORPÁS, O.: *Nové Šlachtenie viniča na Slovensku*. Svornosť Bratislava, 1998, s. 7-10. ISBN: 80-967689-0-5.

SEDLO, Jiří a Ivana LUDVÍKOVÁ. *Přehled odrůd révy 2008*. Velké Bílovice: Svaz vinařů ČR ve spolupráci s ÚKZÚZ, 2014. ISBN 978-80-903534-3-5.

SCHÜRCH, A., LANDIS, J., HEUSSER, H., RÜTTNER, J., 1968: *Versuche über eine allfällige Wirkung Traubensäften von Hybridreben auf den Gesundheitszustand wachsender Ratten und Küken*. Schweiz. Landwirtschaft. Forsch., 7: 161 – 174.

SOTOLÁŘ, R. -- VACHŮN, M. Comparison of Laboratory Leaf Disk Technique against Traditional Methods in Hotbed and Field Screening Procedures for Evaluation of Grape Seedlings for Downy Mildew Resistance. *Acta Horticulturae*.2007. sv. 754, č. 1, s. 345--352. ISSN 0567-7572.

SPRING, Otmar a Marco THINES. On the necessity of new characters for classification and systematics of biotrophic Peronosporomycetes. *Planta*[online]. 2004, vol. 219, issue 5 [cit. 2015-04-18]. DOI: 10.1007/s00425-004-1341-3.

STOEWSAND, G. S., BERTINO, J., ROBINSON. W. B. 1969: *Response of growing Chicks to Varietal Wines and Juices*. American Journal of Enology and Viticulture, 20: 45 – 55.

VANEK, G. – ACKERMANN, P. – PÉTER, B.E. – GLOS, L. – HLUCHÝ, M. – HRNČÁR, M. – KAKALÍKOVÁ, L. – KORPÁŠ, O. – KOTYAS, F. – PÁL, K.jr. – KŘIVÁMEK, V. – LITSCHMANN, T. – MALÍK, F. – MICHLOVSKÝ, M. – NOVOTNÝ, M. – REPKA, V. – SZABÓ, T. – ŠURINA, B. – VALACHOVIČ, A. –

VANEKOVÁ, Z. – ZÁRUBA, P.: Vinič-odrody (1 část), Vydavatelství Příroda v Bratislavě 1995. ISBN: 80-07-00646-X

VOLINKYN, V. A., 2009: Genetičeskij zakonomernosti projavlenija I nasledovnija ustojčivosti vinograda k patogenam s pozicii soprženoj evoluci biologičeskich objektov. Vinogradastvo i vinodelije, 2: 5-7.

Online zdroje

ACKERMANN, Petr. [online]. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/vyskyt-chorob-a-skudcu-ovocnych-drevin-a-revy-v-lonskem-roce.html>

RAUSOVÁ, K., Obranná reakce rostlin: Sledování obranné reakce révy. In: [online]. [cit. 2015 – 04 - 18]. Dostupné z:

http://www.vinoenvi.cz/uploads/Soubory/envi09/OBRANNA_REAKCE_ROSTLIN.pdf.

LITSCHMANN, Tomáš. [online]. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: <http://www.amet.cz/grafstLednice.pdf>

[online]. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTabContainer&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_4_Uzemni_tploty&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_tploty

ROŽNOVSKÝ, J. [online]. [cit. 2015-05-03]. Dostupné z: <http://www.cbks.cz/CD/prispevky/Dolezelova.pdf>

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Vzájemné vztahy složek.....	12
Obr. 2 Olejové skvrny na listech révy způsobené <i>Plasmopara vitcola</i>	22
Obr. 3 odrůda Bianca.....	30
Obr. 4 Odrůda Hibernál.....	31

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 PR Proteiny.....	11
Tab. 2 Souhrn doposud zmapovaných genů rezistence k houbovým chorobám a škůdců (www.vivc.de).....	15
Tab. 3 Výpočet hodnoty indexu rizika (Gubler, Rademacher, Vasquez a Thomas, 1999).....	27
Tab. 4. Modifikovaná stupnice napadení plísně révové vycházející z deskriptoru míry napadení interspecifických hybridů.....	30
Tab. 5 Signalizace splnění podmínek primárních infekcí plísně révové.....	35
Tab. 6 popisuje poměry tolerantních, odolných semenáčů (úroveň 1-3) a citlivých, náchylných (úroveň 4-5) u daných kombinací.....	38
Tab. 7 Průměrná rezistence, náchylnost a rozptyl u pozorovaných semenáčků.....	38
Tab. 8 Citlivost rodičovských odrůd k plísní révové - hodnoceno deskriptorem OIV. Sestaveno dle: Vanek a kol., 1995; Basler a Peeninger, 2000.....	42

SEZNAM GRAFŮ

graf 1 Prognostický graf podle Šteberly – Lednice.....	35
Graf 2 Signalizace padlí na révě podle Kasta – Lednice 2014.....	36
Graf 3 uvádí poměry odolných/tolerantních semenáčů (1-3) a citlivých/náchylných semenáčů (4-5).....	39
Graf 4 popisuje procentuální zastoupení odolnosti u všech semenáčů.....	39