



**Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska
tolerance k suchu a rezistence vůči padlí**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
doc. Dr. Ing. Pavlína Smutná

Vypracovala:
Bc. Veronika Slabá

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska tolerance k suchu a rezistence vůči padlí vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVANI

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. Dr. Ing. Pavlíně Smutné za cenné připomínky a RNDr. Ludmile Holkové, Ph.D. za teoretickou a praktickou pomoc. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janu Brotanovi z Ústavu agrosystémů a bioklimatologie za poskytnutí dat.

ABSTRAKT

Sucho je považováno za jeden z nejzávažnějších abiotických stresových faktorů, který výrazně ohrožuje zemědělskou produkci. Šlechtění nových odrůd ječmene se proto stále více zaměřuje na zvyšování úrovně odolnosti k abiotickému stresu, zvláště k suchu, za současného udržení dobrého zdravotního stavu a odpovídajícího výnosu a kvality zrna. Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že syrská odrůda Tadmor adaptovaná na podmínky extrémního sucha by mohla být využita jako zdroj vyšší odolnosti k suchu, při šlechtění jarních ječmenů. Hodnocení bylo provedeno u linií F5 generace vytvořených z reciprokého křížení mezi odrůdou Tadmor a sladovnickou odrůdou Jersey. Linie byly pěstované na dvou lokalitách, v Brně a v Žabčicích, a po sklizni byly vyhodnoceny vybrané parametry výnosu (HTS, podíl zrna nad sítím 2,0 mm, výnos zrna na rostlinu) a kvality (obsah dusíkatých látek a škrobu). Vlivem nedostatku srážek na lokalitě Žabčice došlo ke snížení výnosotvorných parametrů, především u HTS a podílu zrna nad sítím 2,0 mm. Z hlediska těchto parametrů se jako lepší jevíly linie, které měly odolnější odrůdu Tadmor jako matku. Z hlediska kvalitativních parametrů bylo zjištěno, že zrno sklizené na sušší lokalitě Žabčice vykazovalo vyšší obsah dusíkatých látek a méně škrobu než zrno sklizené na lokalitě v Brně. Statisticky průkazný vliv genotypu však byl zjištěn jen pro obsah dusíkatých látek. U vybraných linií byla v nezávislém experimentu vyhodnocena úroveň reakce na osmotický stres pomocí stanovení osmotického potenciálu a koncentrace osmoticky aktivní látky prolinu. Linie, které měly odrůdu Tadmor jako matku, vykazovaly ve stresových podmínkách vyšší hodnoty osmotického potenciálu (zápornější). Byl zjištěn silný vztah mezi hodnotami osmotického potenciálu a obsahu prolinu. V polních podmínkách bylo provedeno hodnocení úrovně tolerance k padlí travnímu a mezi jednotlivými liniemi byly pozorovány viditelné rozdíly ve stupni napadení. Molekulárními analýzami zaměřenými na detekci alel genu *mlo* byla u vybraných linií s nízkým stupněm napadení potvrzena přítomnost alely *mlo9*. Po vyhodnocení všech sledovaných parametrů, dobré reakce rostlin na fyziologické sucho a detekce přítomnosti genu rezistence byly vybrány dvě linie, které by mohly být doporučeny pro další využití ve šlechtění ječmene.

Klíčová slova: abiotický stres, dusíkaté látky, škrob, gen *mlo*, osmotický potenciál

ABSTRACT

Drought is considered as one of the most important abiotic stress factor, which can cause a severe impact on agriculture. The development of new cultivars of barley is therefore more focused on improving of abiotic stress tolerance to drought, as well as on maintaining of good health status, appropriate yield levels and quality parameters. This work was aimed at evaluation of barley cv. Tadmor, which is specifically adapted to drought and can be potentially used as a source of drought tolerance in barley breeding programmes. F5 generation lines derived from reciprocal crosses between cv. Tadmor and cv. Jersey (advanced European spring malting barley) together with parent cultivars were cultivated at two sites (Brno, Žabčice). The assessment was aimed at traits associated with yield (thousand grain weight – TGW, percentage of sieving fraction over 2.0 mm, grain yield per plant) and quality (protein and starch content). The effect of water-limited conditions at Žabčice site was demonstrated particularly in the TGW and the percentage of sieving fraction over 2.0 mm, while the lines from Tadmor x Jersey cross sustained the stress significantly better than those from Jersey x Tadmor cross. The lines grown in Žabčice reached in average a higher level of protein content and a lower level of starch content. The significant effect of genotype was detected only in protein content and was non-significant for starch. The reaction of selected lines on osmotic stress was studied in an independent experiment under controlled conditions. The plant stress reaction was evaluated according to changes in osmotic potential in leaves and accumulation of proline. Lines with Tadmor as a female parent showed higher values of osmotic potential in comparison with those derived from the reciprocal cross. The increase in osmotic potential under stress was strongly associated with the content of proline. The last part was focused on evaluation of susceptibility to powdery mildew caused by *Blumeria graminis*. The symptoms of powdery mildew on experimental lines were assessed in field and the lines, which were classified as resistant/susceptible, were further analysed for the presence of *mlo* allele. According to the results all resistant lines carried *mlo9*. With regard to all evaluated parameters, positive reaction on physiological drought stress and genetically controlled resistance against powdery mildew two lines can be recommended for further work.

Keywords: abiotic stress, protein, starch content, gene *mlo*, osmotic potential

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	9
2.1	Fyziologie stresu	9
2.1.1	Definice stresu a klasifikace abiotických stresorů.....	9
2.1.2	Reakce rostlin na abiotický stres	10
2.1.3	Stres z nedostatku vody	10
2.1.4	Mechanismy adaptace na vodní stres	12
2.2	Vodní režim rostlin	17
2.2.1	Příjem a transport vody v rostlině	17
2.2.2	Vodní potenciál	20
2.3	Rezistence ječmene vůči padlí travnímu.....	23
2.3.1	Ječmen	23
2.3.2	Padlí ječmene.....	23
2.4	Kvalitativní parametry sladovnického ječmene	34
2.4.1	Geneticko – šlechtitelské aspekty	34
2.4.2	Geny ovlivňující kvalitu ječmene.....	35
2.4.3	Kvalita sladovnického ječmene	35
3	CÍL PRÁCE	39
4	MATERIÁL A METODY	40
4.1	Rostlinný materiál	40
4.2	Hodnocení kvalitativních a kvantitativních parametrů	41
4.2.1	Hodnocení kvantitativních parametrů	41
4.2.2	Hodnocení kvalitativních parametrů – stanovení obsahu škrobu a dusíkatých látek v zrně.....	42
4.3	Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska rezistence vůči padlí... 42	
4.4	Hodnocení vlivu osmotického stresu na změny osmotického potenciálu listů a stanovení obsahu prolinu	45
5	VÝSLEDKY	47
5.1	Hodnocení kvalitativních a kvantitativních parametrů	47
5.1.1	Hodnocení kvantitativních parametrů	47
5.1.2	Hodnocení kvalitativních parametrů	51

5.2	Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska přítomnosti genu rezistence vůči padlí (<i>mlo</i>).....	54
5.2.1	Detekce alely <i>mlo11</i>	54
5.2.2	Detekce alely <i>mlo9</i>	55
5.3	Hodnocení vlivu osmotického stresu na změny osmotického potenciálu listů a stanovení obsahu prolinu	56
6	DISKUZE.....	61
7	ZÁVĚR	66
8	SEZNAM LITERATURY	68
9	PŘÍLOHY	81
9.1	Seznam použitých zkratk.....	82
9.2	Seznam obrázků	84
9.3	Seznam tabulek	86

1 ÚVOD

Za jeden z nejzávažnějších abiotických stresových faktorů je považováno sucho, které výrazně ohrožuje zemědělskou produkci. Časté výskyty déletrvajících období sucha, jsou doprovázeny vysokými denními teplotami a minimálními dešťovými srážkami.

Tolerance rostlin k abiotickým stresům je geneticky založena. Rostliny reagují na abiotický stres indukcí signálních kaskád, které vedou k expresi specifických ochranných genů a sestavení celkového obranné reakce (Fraire-Velázquez et al., 2011; Teulat et al., 2002).

Padlí travní patří v Evropě i v České republice k jednomu z nejrozšířenějších patogenů (Jørgensen, 1994). Původcem padlí ječmene je vřeckovýtrusná houba *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (Bgh) (Kusch et al., 2014). Odolnost ječmene vůči padlí je podmíněna šesti základními typy rezistence. Nejvyužívanějším typem rezistence je rasově nespécifická rezistence determinovaná genem *mlo* a rasově specifická rezistence determinovaná genem *m1a* (Jørgensen et al., 1993).

V současné době se šlechtění nových odrůd ječmene stále více zaměřuje na zvyšování úrovně odolnosti k abiotickému stresu, zvláště suchu za současného udržení dobrého zdravotního stavu a odpovídajícího výnosu a kvality zrna. Genové zdroje vyšší odolnosti k suchu jsou hledány v rámci genotypů adaptovaných na podmínky intenzivního sucha. Tato adaptace často vychází z místa původu genotypu.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Fyziologie stresu

2.1.1 Definice stresu a klasifikace abiotických stresorů

Stres byl definován, jako nepříznivý stav, který ovlivňuje nebo blokuje rostlinný metabolismus, růst a vývoj (Kranner et al., 2010). Působením stresového faktoru dochází k narušení vnitřní homeostáze rostliny a rostlina reaguje aktivací mechanismů na molekulární, biochemické, fyziologické a morfologické úrovni (Pérez-Clemente et al., 2013).

Klasifikace abiotických stresorů (Kůdela et al., 2013):

- 1) Podle povahy stresorů
 - a) Fyzikální
 - nedostatek nebo nadbytek záření,
 - vysoká nebo nízká teplota,
 - mechanické účinky větru a těles.
 - b) Chemické
 - nedostatek nebo nadbytek vody a živin,
 - nedostatek kyslíku,
 - nadbytek iontů,
 - toxické plyny, látky a pesticidy.
- 2) Podle původu či místa výskytu stresorů
 - a) Kosmické
 - sluneční záření (fotosynteticky aktivní či viditelné, ultrafialové, infračervené).
 - b) Atmosférické
 - toxické plyny a znečištěniny v ovzduší.
 - d) Hydrosférické
 - voda v ovzduší a půdě, závlahová voda.
 - d) Pedosférické
 - soli, ionty, koncentrace vodíkových iontů (pH) v půdě.

a pěstování odolných genotypů se jeví jako jediná možnost jak udržet a případně zlepšit kvalitu produkce v podmínkách vláhového deficitu (Teulat et al., 2002).

Voda je hlavní složkou živých buněk, v kterých zaujímá 80 – 95 % z celkové hmoty pletiv. Nejméně vody obsahují zralá semena, a to 5 – 15 %. Pokud obsah vody v listech poklesne pod 60 %, dochází zpravidla k nevratnému poškození pletiv a k odumření orgánů (Masarovičová et al., 2002; Šetlík et al., 2004).

Stres z nedostatku vody vzniká v důsledku vodního deficitu. Na úrovni rostlin nebo buněk je vodní deficit chápán jako stav, kdy je obsah vody nižší než při maximálním nasycení. Další příčinou vodního deficitu může být i to, že vodní potenciál půdy je nižší než vodní potenciál listů a rychlost transpirace je vyšší než příjem vody. Vodní deficit vede ke ztrátě turgoru a projevuje se zastavením růstu a vadnutím (Luštinec et al., 2003; Pavlová et al., 2005). Nejcitlivější reakce na nedostatek vody je zjišťována u dlouhivého růstu buněk postižených orgánů. Rychlost růstu je od jisté prahové hodnoty lineárně závislá na turgorovém tlaku. Ke zpomalení růstu dochází již při velmi malé ztrátě vody, kdy turgor klesne o 0,1 až 0,2 MPa. Zastavení růstu nastává při snížení turgoru na prahovou hodnotu pro růst, která leží mezi 0,3 až 0,4 MPa. K zastavení růstu dochází mnohem dříve, než ke zjevnému vadnutí listů či k ovlivnění hlavních metabolických procesů včetně fotosyntézy (Procházka et al., 1998). V důsledku toho se v rostlině hromadí různé nevyužité osmolyty, jako jsou antioxidanty, aminokyseliny, sacharidy a anorganické ionty (Showler et al., 2013).

Při dalším poklesu vodního potenciálu dochází k zvýšení koncentrace kyseliny abscisové (ABA). Biosyntéza ABA se zvyšuje v závislosti na deficitu vody. ABA se hromadí ve všech rostlinných orgánech, jako jsou listy a kořeny (Bray et al., 2007; Vlasáková et al., 2011). Bylo prokázáno, že ABA reguluje růst a vývoj rostlin, včetně dozrávání embrya, dormance semen, klíčení, dělení buněk, a reaguje na vlivy okolního prostředí, jako je sucho, zasolení, chlad, napadení patogeny a UV záření (Finkelstein et al., 2013). Zvýšením koncentrace ABA v listech dochází k uzavírání průduchů. Změna v otevřenosti průduchů vede ke snížení rychlosti výměny plynů, a tím se omezí ztráty vody transpirací a zároveň se ovlivní rychlost fotosyntézy (Brodribb et al., 2013; Leung et al., 2012).

Při poklesu vodního potenciálu k hodnotám okolo -1,0 Mpa dochází k tvorbě aminokyseliny prolinu (Procházka et al., 1998). Prolin může sloužit jako signální molekula k modulaci mitochondriálních funkcí, ovlivňuje buněčnou proliferaci nebo

smrt buněk a může také vyvolat specifickou genovou expresi (Anjum et al., 2011). Prolin působí jako osmolytická látka a spolu s aktivními formami kyslíku (ROS – Reactive Oxygen Species) stabilizuje strukturu proteinů, a tím chrání buňky před poškozením způsobené stresem (Krasensky et al., 2012; Szabados et al., 2009).

Jestliže se i nadále snižuje vodní potenciál listů (od -1,0 do -2,0 MPa), dochází k vážným metabolickým změnám. Rychlost fotosyntézy klesá na nulu a zpomalují se transportní procesy v buňkách (Procházka et al., 1998). Poměrně málo citlivý k vodnímu deficitu je dálkový transport látek. I při vysokých hodnotách vodního deficitu může rostlina mobilizovat rezervy organických látek ve starších orgánech a přemístit je do mladších, především generativních orgánů, a tím urychlovat reprodukční procesy (Luštinec et al., 2003).

Pokud v pokročilé fázi vodního stresu dojde k doplnění chybějící vody, všechny buněčné funkce se postupně vracejí do normálního stavu, i když návrat není okamžitý (Procházka et al., 1998) a při dlouhodobějším působení sucha může dojít až k odumření rostliny (Gloser et al., 1995).

Reakce rostlin na vodní stres mohou být klasifikovány následujícím způsobem (Akinci et al., 2012):

- I. krátkodobé změny související převážně s fyziologickými reakcemi, jako je uzavírání průduchů,
- II. aklimatizace v podobě určité akumulace vody (úprava osmotického potenciálu a morfologické změny),
- III. adaptace na vodní stresové podmínky (propracované fyziologické mechanismy, zejména pak změny v anatomii).

2.1.4 Mechanismy adaptace na vodní stres

Rostliny v podmínkách vodního stresu optimalizují svou morfologii a fyziologii s cílem maximalizovat produktivitu. Reakce rostlin na vodní stres se výrazně liší v závislosti na intenzitě a době trvání stresu, jakožto i podle druhů rostlin a jejich vývojového stádia (Lisar et al., 2012).

Shabala et al. (2012) popsal čtyři strategie rostlin související se stresem suchem:

- únik před suchem, a to tak, že se rostlina dokáže vyhnout suchu absolvováním životních cyklů před nástupem suchého období, neboli takzvaná avoidance (Kettnerová et al., 2012),
- omezení dehydratace, která se děje na základě schopnosti pletiva udržovat hydrataci, nebo na základě tolerance k suchu, která je dána vysokým vodním potenciálem a vyšším příjmem vody kořeny,
- tolerance dehydratace, což je schopnost normálně fungovat při dehydrataci nebo na základě tolerance k suchu při nízkém vodním potenciálu,
- u některých rostlin se vyskytuje specifická schopnost přežít úplné vysušení pletiv, jako například u rostliny *Craterostigma plantagineum* (Bartels et al., 2001).

Tyto mechanismy odolnosti vůči suchu se mění se zeměpisnou oblastí v závislosti na půdních a klimatických podmínkách (Shabala et al., 2012).

Avoidance

Strategie úniku před suchem je charakteristická rychlým fenologickým vývojem, vývojovou plasticitou a prodloužením dormance (Yue et al., 2006). Některé rostlinné druhy dokážou přečkat nepříznivé období sucha ve formě podzemního přežívajícího orgánu a vyhnout se tak poškození v důsledku sucha. Tyto hlízy a bulvy mají velkou zásobní kapacitu vody (Nilsen et al., 1996). Vytrvalé druhy využívají vývojové plasticity, aby se vyhnuly období s nedostatkem vody. Jde o opad listů během sucha, který je znám například z mediteránních a pouštních oblastí. Listy se vyvinou v zimě, kdy je relativně vysoká dostupnost vody, a tím, jak ke konci jara a v létě se snižuje množství dostupné vody, tak většina listů odpadne. Druhy opadavé za sucha přežijí periodu vodního stresu v dormantním stádiu (Kettnerová et al., 2012).

Omezení dehydratace

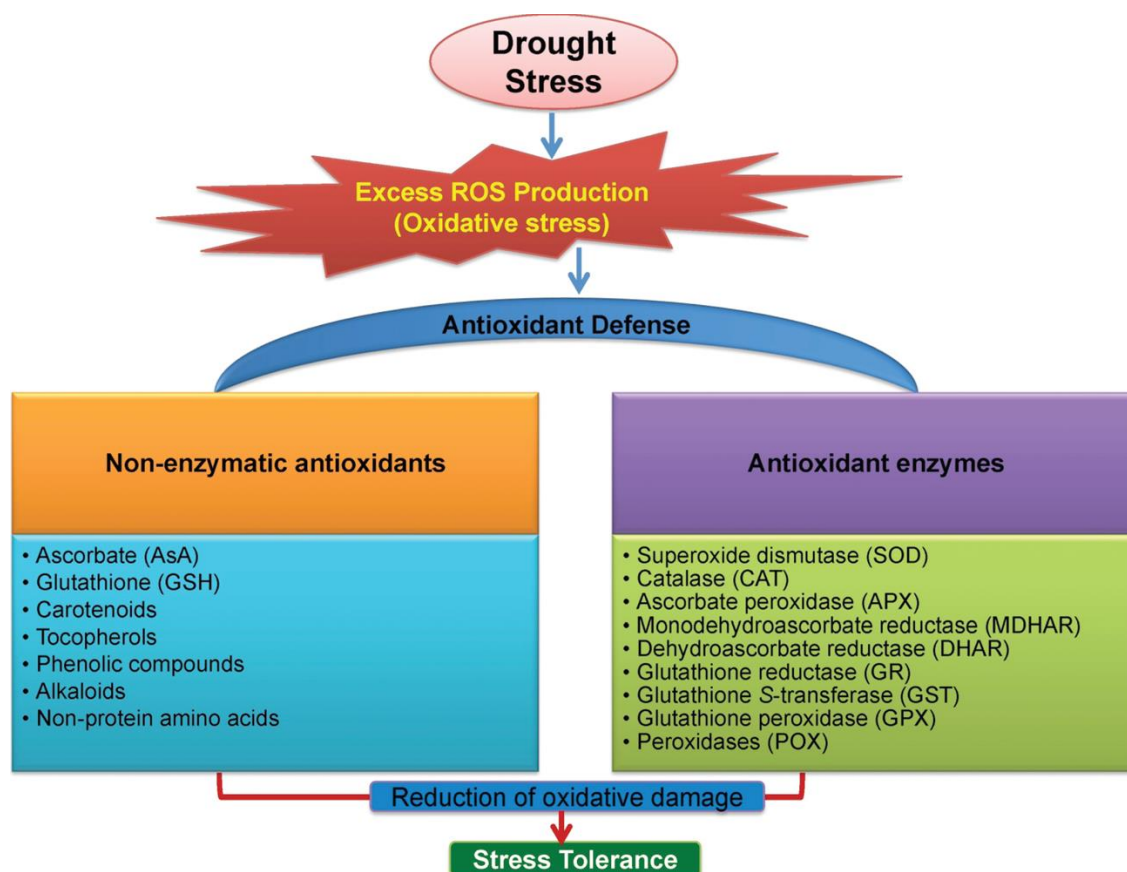
Je definováno jako schopnost rostliny udržet vysokou úroveň hydratace pletiv v podmínkách stresu suchem, a to zvýšením příjmu vody kořeny nebo snížením výdeje

(Smutná et al., 2013). Při nedostatku vody rostlina uzavíráním průduchů snižuje transpiraci, což jí umožňuje dočasně tolerovat nepříznivé podmínky (Fojtů et al., 2013). Mechanismus otevírání a zavírání průduchů je ovlivněn příjmem vody do svěracích buněk, který způsobí změny v turgoru buněk (Procházka et al., 2006). Je-li výpar vody příliš silný, turgor svěracích buněk klesá a dochází k jejich ochabování a zploštění, což má za následek uzavírání průduchové štěrbin. Stoupá-li turgor, svěrací buňky se napínají a dochází k otevírání průduchu (Penny et al., 1974; Outlaw et al., 1979). Uzavíráním průduchů může být transpirace regulována jen krátkodobě, dlouhodoběji omezením růstu (Smutná et al., 2013). Další strategií jak omezit dehydrataci je zvýšit příjem vody kořeny. U sóje bylo zjištěno, že na stres suchem reaguje zvýšením relativní rychlosti růstu kořenů a tím i vyšším příjmem vody. Delší kořenový systém umožňuje rostlinám absorbovat vodu z hlubokých vrstev půdy (Ghosh et al., 2014; Yoshimura et al., 2008). Některé druhy (např. *Brassica napus* L.) mají systémy jak doplnit deficit vody, a to vyvinutými kořenovými mechanismy, které dokážou lépe čerpat vodu do vakuol (Mohammadi et al., 2012).

Tolerance dehydratace

V podmínkách silného stresu souvisí se schopností udržet turgor lepší osmoregulací, nebo ochránit buněčné stěny a membrány před poškozením akumulací ochranných proteinů, cukrů a antioxidantních látek (Smutná et al., 2013). Mezi ochranné proteiny, které se akumulují v rostlinách vystavených stresu suchem, patří proteiny ze skupiny LEA (Late Embryogenesis Abundant) a HSPs (heat-shock proteins) a také aquaporiny, které se podílejí na regulaci transportu vody (Hussain et al., 2011). U trav a obilovin z čeledi *Gramineae* existuje několik zpráv o akumulaci sacharidů během různých abiotických stresů, kdy dochází k dlouhodobému ukládání sacharidů během reprodukčního vývoje. Obiloviny reagují na sucho spuštěním metabolismu ukládání rezerv do endospermu semen. Tento metabolismus je přísně regulován a má primární roli v reakcích mezi cukry, ABA a dráhou giberelinu zodpovědných za reakci na sucho (Mohammadkhani et al., 2008). Dalším účinným systémem ochrany je tvorba antioxidantů, které jsou rozděleny do dvou skupin, a to na enzymatické a neenzymatické látky. Tyto dvě skupiny zahrnují řadu enzymů, jejichž rozdělení je

uvedeno v *Obr. 2.*, který současně popisuje reakci rostlin na stres suchem. Posílená činnost složek antioxidačního systému snižuje oxidační poškození, rozvíjí a zlepšuje toleranci k suchu, a je tudíž považována za účinný nástroj při vývoji rezistence a adaptivních vlastností rostlin (Hasanuzzaman et al., 2013; Yazdanpanah et al., 2011).



Obr. 2 Antioxidační obranný systém rostlin vystavených suchu indukovaný oxidačním stresem (Hasanuzzaman et al., 2013)

Schopnost přežít úplné vysušení pletiv

Ve studii publikované Norwood et al. (2003) bylo zjištěno, že kořenový systém rostliny *Craterostigma plantagineum* je schopen přežít vysušení. Tato rostlina z čeledi krtičníkovitých roste v aridních oblastech polopouští Afriky. Výsledky ukázaly, že kořenový systém rostliny je schopný přežít vysušení, ale krátce po zavlažení kořenový systém zestárne a odumře. Avšak už dva týdny po nástupu rehydratace začne růst úplně nový kořenový systém. Během dehydratace se v kořenech akumuluje sacharóza ve vysoké koncentraci, což má vést k ochraně kořenového systému během

vysušení. Hlavní metabolické zásoby v kořenech *Craterostigma* však tvoří oligosacharid stachyóza, což je sacharidová rezerva pro syntézu sacharózy, a během vysušení jsou tyto zásoby metabolizovány. Zásoby stachyózy v kořenovém systému jsou pravděpodobně transportovány do jiných orgánů rostliny, aby se podpořil sacharidový metabolismus během vysušení pletiv. Při rehydrataci se zásoby stachyózy vracejí na původní hladinu během 96 hod., zatímco žádné změny zvýšeného obsahu sacharózy v kořenech v této době nenastávají. Udržování vysokého obsahu sacharózy v kořenech i po rehydrataci je možnou obrannou strategií proti následnému vysušení (Adamec et al., 2004).

2.2 Vodní režim rostlin

Voda tvoří 80 – 95 % hmotnosti rostlinných pletiv a hraje důležitou roli v růstu rostlin (Taiz et al., 1998). Rostliny vyžadují vodu pro řadu fyziologických procesů (např. syntéza sacharidů) a pro přidružené fyzikální funkce, např. udržování turgoru rostliny (Araya et al., 2007).

Hlavní funkce vody v rostlinách (Luštinec et al., 2003; McElrone et al., 2013):

- rozpouštění a distribuce anorganických a organických látek,
- podpora růstu rostlin,
- metabolická surovina fotosyntézy,
- stavební materiál buňky, zvláště ve vakuolách,
- prostředek snižování teploty transpirujících orgánů.

Rostliny, které jsou schopné krátkodobé kompenzace změny obsahu vody, můžeme rozdělit na poikilohydrické a homoiohydrické. Poikilohydrické rostliny jsou rostliny, které při nedostatku vody zmenšují svůj objem s minimálním narušením ultrastruktur buňky (Kincl et al., 2000). Mezi ně řadíme sinice a některé zelené řasy, ale i také některé mechy z rodu *Selaginella* spp. a kapradiny (Ogburn et al., 2010; Procházka et al., 2006). Homoiohydrické rostliny jsou rostliny, jejichž buňky mají velké centrální vakuoly, které vlastně vytvářejí v buňce zásoby vody pro krátkodobé vyrovnání kolísání mezi příjmem a výdejem vody (Kincl et al., 2000).

2.2.1 Příjem a transport vody v rostlině

Příjem vody buňkou

V rostlinné buňce jsou přítomny soustavy různých roztoků, které neustále mění svou koncentraci, ale i povahu (prave roztoky, koloidy, suspenze a emulze). Všechny tyto roztoky jsou ve styku s buněčnou stěnou a membránami – plazmalemou a tonoplastem (Procházka et al., 2006). Buněčná stěna je vždy pro roztoky propustná (Nobel et al., 2012), naproti tomu membrány (plazmalema i tonoplast) jsou vždy

semipermeabilní. Jestliže při hospodaření s vodou (vodní bilanci) sehrávají rozhodující úlohu v buněčné stěně její koloidní vlastnosti, pak pro plazmalemu a tonoplast jsou nejvýznamnější osmotické jevy difúze a osmóza (Procházka et al., 2006). Difúze je proces, při kterém se molekuly kapaliny nebo plynu pohybují z oblasti s vysokou koncentrací do oblasti s nižší koncentrací (Saupe et al., 2009). Tento proces je účinný při transportu vody na krátké vzdálenosti (Procházka et al., 1998). Osmóza je speciální druh difúze, kde je voda difuzní látkou. Je definována jako pohyb vody z oblasti s vysokou koncentrací vody, ale s nízkým obsahem rozpuštěných látek do oblasti s nižší koncentrací vody, ale s vyšší koncentrací rozpuštěných látek (Adams et al., 2014).

Vodní bilance

Vodní bilance je poměr mezi současným příjmem a výdejem vody. Tento poměr je rovný jedné, pokud rostlina přijímá tolik vody, kolik jí vydá. Vyrovnané vodní bilance rostlina dosahuje jen v krátkých časových intervalech v průběhu dne, kdy není příliš intenzivní transpirace a zároveň jsou k dispozici dostatečné zásoby fyziologicky dostupné vody v půdě (Masarovičová et al., 2002).

Při negativní vodní bilanci, kdy je výdej vody vyšší než příjem, vzniká vodní deficit. Stupeň vodního deficitu, při kterém jsou rostliny ještě schopny dosáhnout plného nasycení bez poškození, se označuje jako kritický vodní deficit. Deficit, u kterého jsou zjevné první příznaky poškození, je označován jako subletální deficit a stupeň, při kterém již rostlina není schopna se dosytit na původní hmotnost, se označuje jako letální deficit (Procházka et al., 2006). Projevem vodního deficitu je vadnutí rostlin, pokles turgoru, snížení vodního potenciálu listů, nižší rychlost růstu, snížení vodivosti průduchů a nižší obsah chlorofylu (Imahori et al., 2014; Hunter et al., 2011). Spodní listy, které obsahují nejvíce vody, postupně žloutnou a usychají. Voda ze spodních listů je odsávána horními listy, které mají tím menší hodnotu vodního potenciálu, čím výše jsou na rostlině postaveny. Mezi první symptomy nedostatku vody patří i zpomalení až zastavení dlouhivého růstu buněk, k tomuto dochází ještě před uzavřením průduchů (Kincl et al., 2000). Dále dochází k snížení vodivosti průduchů a k jejich uzavření, a tím k poklesu příjmu CO₂ (Hummel et al., 2010).

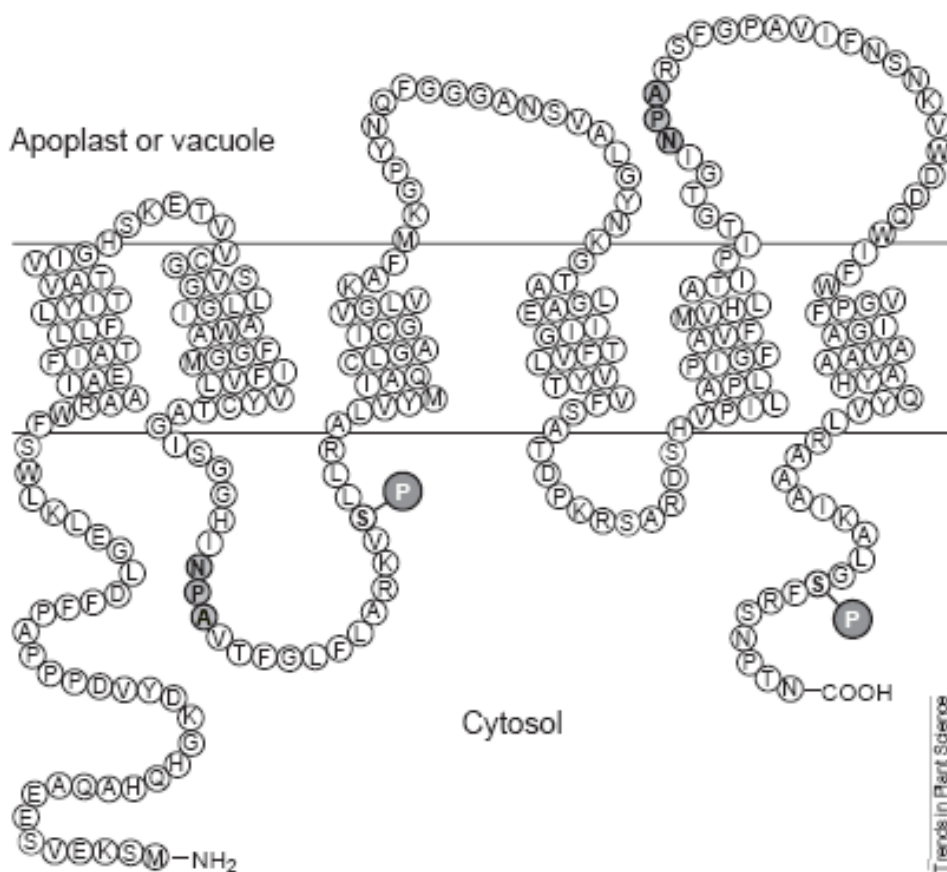
Příjem vody kořeny a radiální transport

Těsný kontakt mezi povrchem kořene a půdou je nezbytný pro efektivní absorpci vody kořenem. Absorpční plocha kořenů, potřebná pro příjem vody je dána velikostí a strukturou kořenového systému a tuto absorpční plochu zvětšuje růst kořenového systému a kořenových vlásků. Hustota kořenů a jejich hloubka ovlivňuje celkový příjem a následný transport vody do kořene (Chytilová et al., 2010). Vyšší suchozemské rostliny přijímají kapilární a gravitační vodu především kořenovými vlásky (Slabá et al., 2013). Kořenové vlásky jsou modifikované epidermální buňky. Podílejí se na zvětšení sorpčního povrchu kořenů, ale i na zvětšení objemu půdy, který kořenová soustava může využívat (Gloser et al., 1995). Hustota kořenového vlášení je závislá na přítomnosti fosforu a dusíku (Hajzler et al., 2010). Mezi důležité faktory ovlivňující velikost kořenového systému patří i odrůdová variabilita (Středa et al., 2009). Když se voda pohybuje z půdy do atmosféry, prochází přes různé struktury v rostlině (buněčná stěna, cytoplazmatická membrána) a mechanismus transportu vody se také mění podle struktur, kterými prochází. Mnoho let nebylo zřejmé, jakým mechanismem se voda pohybuje přes membrány buněk. Tyto nejasnosti byly vysvětleny objevem akvaporinů (Chytilová et al., 2010).

Akvaporiny

Akvaporiny jsou proteiny přítomné v plazmě a intracelulárních membránách rostlinných buněk, kde usnadňují transport vody anebo malých neutrálních rozpuštěných látek (močovina, kyselina boritá, kyselina křemičitá) nebo plynů (amoniak, oxid uhličitý) (Maurel et al., 2008). Třídění je založeno na sekvenční homologii jednotlivých genů a akvaporiny je takto možné rozdělit do 4 rodin, které se odlišují navzájem především svou subcelulární lokalizací. Dvě největší skupiny jsou pojmenovány právě podle membrán, ve kterých se vyskytují. Označení PIP (plasma membrane intrinsic proteins) tedy náleží akvaporinům plazmatické membrány a TIP (tonoplast intrinsic proteins) zástupcům v membránách vakuolárních. Další významnou skupinou jsou NIP (Nodulin-26-like intrinsic proteins). A čtvrtou skupinou jsou SIP akvaporiny (small basic intrinsic proteins) (Čavojská et al., 2007). Tyto proteiny procházejí z jedné strany membrány na druhou a svou strukturou zde vytvářejí póry umožňující transport vody. Akvaporiny nalezneme ve struktuře plazmalemy a

membrány vakuoly (tonoplastu). Proteinové podjednotky akvaporinů se spojují a vytvářejí tetramer. Každá podjednotka je složena ze šesti α -helixů (spirál) procházejících membránou (Obr. 3) (Maurel et al., 2007). Tyto spirály jsou vzájemně spojeny třemi extra a dvěma intracelulárními smyčkami a jejich N- a C- konce směřují do cytosolu (Chaumont et al., 2005). Charakteristickými skupinami aminokyselin, které jsou vždy přítomné ve struktuře akvaporinů, jsou dva tzv. NPA boxy (aminokyselinové sekvence asparagin–prolin–alanin) (Wallace et al., 2006). Další významnou, tentokrát především funkční skupinou, je histidinový zbytek (Quigley et al., 2001). Poslední nedílnou součástí struktury každého akvaporinu jsou jeden až dva serinové zbytky (Maurel et al., 1997; Luu et al., 2005).



Obr. 3 Struktura akvaporinu (Kjellbom et al., 1999)

2.2.2 Vodní potenciál

Vodní potenciál (ψ_w) vyjadřuje aktivitu vody v buňce a míru hydratace, čili schopnost buňky nasávat vodu, a určuje v jednotkách tlaku (Pa a MPa) o kolik je

aktivita vody v buňce nižší než aktivita čisté vody. Proto vodní potenciál vykazuje záporné hodnoty (Hnilička et al., 2008). Složkami vodního potenciálu je osmotický potenciál a tlakový potenciál (Marek et al., 2008). Vodní potenciál lze vyjádřit rovnicí (Procházka et al., 1998):

$$\Psi = \Psi_s + \Psi_p \text{ [Pa]}$$

Osmotický potenciál (Ψ_s)

Osmotický potenciál (OP) je číselně roven osmotickému tlaku, ale má vždy zápornou hodnotu, neboť rozpuštěné látky (soluty) potenciál vody snižují. Osmotický potenciál závisí na množství rozpuštěných částic (Lambers et al., 2008; www.kfrserver.natur.cuni.cz).

Osmotické přizpůsobení (OA – osmotic adjustment)

Schopnost osmotického přizpůsobení (OA – osmotic adjustment), neboli osmoregulace rostlině umožňuje omezit nadměrnou dehydrataci vlivem akumulace látek rozpuštěných v mezibuněčných prostorech, v důsledku čehož je vodní potenciál půdy nižší než vodní potenciál v rostlinách a zachovává se tak kladný gradient vodního potenciálu půdy pro pohyb vody do rostlin. Osmotické přizpůsobení je definováno jako množství organických látek anebo iontů solí nahromaděných v reakci na nízký vodní potenciál půdy (Verslues et al., 2004). Mezi hromaděnými sloučeninami jsou značné chemické rozdíly (Barányiová et al., 2011). Při osmoregulaci se mohou v rostlinách hromadit ionty K^+ , dále také snadno rozpustné organické sloučeniny, jako cukry (mannitol, sorbitol, pinitol), organické kyseliny a dusíkaté sloučeniny zejména aminokyseliny prolin, kyselina glutamová, glycin a myo-inositol (Morgan et al., 1992; Starck et al., 1995). Tyto látky se hromadí v cytosolu a vyrovnávají nebo snižují osmotický potenciál vakuolárního roztoku (Marschner, 1995). Akumulace osmoticky aktivních látek je důležitou reakcí buňky na nedostatek vody a vyvíjející se vodní stres v cytoplazmě i vakuole. Tyto látky umožňují snížit osmotický potenciál buňky, a tím osmoticky udržet v buňce vodu, kterou už buňka má, a rovněž extrahovat z půdy další. Jedná se o snahu rostlin o udržení turgoru buněk, produktivity a růstu rostlin (Ayele et al., 2001; Švec et al., 2010). Schopnost osmotického přizpůsobení v podmínkách stresu je dědičný znak (Zhang et al., 1999).

Tlakový potenciál (ψ_p)

Tlakový potenciál může být pozitivní nebo negativní a jedná se o tlakový rozdíl od atmosférického tlaku. Volná voda při povrchu půdy má tlakový potenciál roven nule. Negativní tlak v xylému se může pohybovat od 0 v extrémních podmínkách do -8 MPa. Pozitivní tlak je většinou nižší, kolem 0,5 MPa (Procházka et al., 1998; Procházka et al., 2006).

2.3 Rezistence ječmene vůči padlí travnímu

2.3.1 Ječmen

Kulturní ječmen (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*) je jednou z nejstarších domestikovaných plodin a vznikl domestikací planého ječmene (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*), k čemuž došlo v jihovýchodní Asii před více než 8 tisíci lety (von Bothmer et al., 2003; Jakob et al., 2014). Ječmen se k roku 2013 podle statistik celosvětově pěstuje na 49 mil. hektarech, z čehož se 24 mil. hektarů nachází v Evropě (www.faostat.org).

V roce 2014 byl v České republice ječmen pěstován na celkové výměře 350 tis. hektarů, z čehož bylo 103 tis. hektarů ozimého ječmene a 247 tis. hektarů jarního ječmene (www.czso.cz).

2.3.2 Padlí ječmene

Padlí patří v Evropě i v České republice k jednomu z nejrozšířenějších patogenů (Jørgensen, 1994). Původcem padlí ječmene je vřeckovýtrusná houba *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) (Kusch et al., 2014). Padlí travní se vyznačuje vysokou diverzitou a specializací dle hostitele, původcem padlí u jiných obilovin jsou specializované formy (f. sp.), přičemž tyto formae specialis nejsou přenosné mezi jednotlivými druhy (např. forma z ječmene není přenosná na pšenici) (Bittner et al., 2008). Padlí ječmene je obligátní parazit, který využívá ke své výživě jen asimilující části hostitelských pletiv (Skamnioti et al., 2008).

Taxonomie

Zařazení *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (www.eppo.cz):

Říše: *Houby*

Kmen: *Ascomycota*

Podkmen: *Pezizomycotina*

Třída: *Leotiomycetes*

Řád: *Erysiphales*

Čeleď: *Erysiphaceae*

Rod: *Blumeria*

Druh: *Blumeria graminis*

Symptomy

Bgh může napadat všechny nadzemní části rostliny, ale nejvíce se objevuje na listových čepelích a bázích stébel (Kazda et al., 2001). Počáteční příznaky jsou snadno přehlédnutelné, jelikož mají podobu chlorotických skvrn na rostlinných tkáních (www.cabi.org). Později se objevují zpočátku bělavé, vatovité kupky mycelia (Obr. 4), které se mění v šedohnědé povlaky, na kterých se tvoří černá chasmothecia (Hřudová et al., 2012). Silně napadené listy žloutnou a mohou předčasně odumírat (Häni et al., 1993).



Obr. 4 *Symptomy na listech – bělavé mycelium (Víchová et al., 2014)*

Biologie

Bgh se může rozmnožovat pohlavně (anamorfa) i nepohlavně (teleomorfa) (Talbot et al., 2004). Anamorfní stádium reprodukce začíná dopadem konidie či askospory na povrch listů a dalších nadzemních částí rostlin (Deising et al., 2009). Konidie vyklíčí a vytvoří zárodečné vlákno s apresoriem, které slouží k adhezi houby (Bindschedler et al., 2009). Z apresoria vyrůstá krátké infekční vlákno, na jehož konci se nachází infekční hrot, kterým *Bgh* mechanickým tlakem a enzymatickou aktivitou penetruje do epidermální buňky hostitele (Ridout et al., 2009). Vytváří se haustorium, což je specializovaný parazitický orgán, sloužící k přenosu živin z hostitelských buněk do houby (Szabo et al., 2001). V povrchovém myceliu se vytváří konidiofory, které jsou zpočátku tvořeny dvěma buňkami (Heffer et al., 2006). Spodní cibulovitěho tvaru, se nazývá bazální buňkou, která se dále nedělí. Horní se nazývá mateřskou buňkou a opakovaně se dělí, čímž vytváří vlastní, poměrně dlouhý nevětvený konidiofor, který je tvořen postupně dospívajícími konidiemi (Dreiseitl et al., 2010; Trigiano et al., 2013). Zralé konidie se uvolňují z vrcholu konidioforu, jsou snadno šířeny větrem a infikují sousední hostitelské rostliny (Moriura et al., 2006).

Teleomorfní stádium reprodukce houby začíná koncem vegetace hostitele, kdy se na stárnoucím myceliu diferenciují gametangia (samčí anteridium a samičí askogonia) (Bittner et al., 2008). Při plazmogamii dochází k splynutí samčích a samičích buněk a nastupuje dikaryofáze, při které vznikají askální mateřské dvoujaderné buňky a dvoujaderné sekundární mycelium. Následující diplofáze začíná karyogamií, splynutím obou buněčných jader, kdy vzniká diploidní zygota a chasmothecium (Dreiseitl et al., 2007; Dreiseitl et al., 2010). Diplofáze je ukončena meiotickým dělením za vzniku haploidních askospor (Graham et al., 2008). Uvnitř chasmothecií se vytvářejí vřecka (v jednom chasmotheciu může být až 30 vřecek), každé obsahuje 8 eliptických askospor, které se po uvolnění šíří vzduchem (Mehta et al., 2014).

Prostředí

Každý patogen potřebuje k vyvolání choroby hostitele vhodné podmínky prostředí. V raných fázích vývoje jsou kolonie padlí ovlivněny několika faktory, jako je relativní

vlhkost, intenzita světla a světelná perioda (Kenyon et al., 2002). *Bgh* je relativně nenáročná houba, optimální teplota pro její vývoj je mezi 15 a 22 °C, při relativní vlhkosti kolem 95 % (Reis et al., 2013; www.cropscience.bayer.com). Vývoj choroby se zpomaluje při teplotách nad 25 °C (Li et al., 2013).

Evropa, a to především její střední a severozápadní část, se vyznačuje vhodnými podmínkami, které umožňují téměř celoroční vývoj *Bgh* (Dreiseitl et al., 2000). Podílejí se na tom klimatické podmínky (vlhko a relativní chlad), stejně jako dlouhá vegetační doba (Dreiseitl et al., 2003).

Škodlivost

Při časném výskytu *Bgh* dochází k ovlivnění celé řady výnosotvorných prvků. Dochází k snížení výnosu v důsledku ztráty funkční zelené listové plochy, snižuje se počet zrn v klasu, hmotnost zrn a počet odnoží na jednotku plochy (Tratwal et al., 2014). Snížení výnosu zrna v důsledku *Bgh* může být až o 40 %, i když průměrné ztráty jsou menší a dosahují asi 10 až 20 % (Bélanger et al., 2002).

Odolnost ječmene

Typy rezistence ječmene k padlí travnímu

Jørgensen et al. (1993; 1994) rozlišuje šest základních druhů rezistence ječmene k padlí:

1. Rezistence determinovaná genem *mlo*, která je recesivní, ale rasově nespecifická. Hlavním mechanismem obrany je zesílení buněčné stěny, které zabraňuje průniku patogena do epidermálních buněk (Piffanelli et al., 2002).
2. Rasově specifické geny rezistence (gen *m1a*) jsou podmíněny dominantními geny, mají snadno rozlišitelný efekt a projevují se hypersenzitivní reakcí hostitele (An et al., 2006). U rasově specifické rezistence hrají v procesu rozpoznávání a v aktivaci obranných mechanismů důležitou roli produkty genů R (genů rezistence). Odpověď zprostředkovaná těmito geny je závislá na expresi komplementárního genu avirulence (*Avr*) patogena. Pokud je gen R hostitele komplementární k příslušnému genu *Avr* patogena, dochází k

rozpoznání a následné inkompatibilní interakci. Tato inkompatibilita spustí rychlou kaskádu signálů vedoucích k aktivní obranné odpovědi. V nepřítomnosti genu R nebo genu Avr se objevuje kompatibilní interakce a patogen je schopen způsobovat infekci. Tento genetický vztah mezi hostitelem a patogenem se nazývá mechanismus gen proti genu (Haltermann et al., 2001; Psočková et al., 2007).

3. Částečná rezistence je exprimována jako polygenní znak a může být silně ovlivněna faktory prostředí. Daná odrůda ječmene má svou hladinu částečné rezistence a každý patotyp padlí travního má určitý stupeň virulence. Pokud je patogen více virulentní, je ohrožen hostitel a naopak, v případě, že má hostitel vyšší hladinu rezistence, dojde k ohrožení patogena.
4. Indukovaná rezistence znamená snížení citlivosti rostlin k patogenu po předešlém kontaktu s nepatogenním agens (např. saprofyty, nepatogenní mikroorganismy, avirulentní izolát patogena aj.) na základě změny metabolické aktivity a expresního spektra napadených epidermálních buněk (Klumpler et al., 2006). Systémová reakce je slabá a je omezena na napadené epidermální buňky a buňky v nejbližším okolí. Po inokulaci nastává rychlá aktivace genů zodpovědných za reakci na onemocnění. Tyto geny kódují enzymy jako chitinázy, peroxidázy, glukanázy a další proteiny a glykoproteiny, z nichž se mnohé účastní základních metabolických procesů.
5. Pasivní rezistence zahrnuje změny ve strukturních, chemických a fyzikálních vlastnostech povrchu hostitelské rostliny, které brání infekci a změny faktorů nezbytných pro normální růst a vývoj patogena. Dochází k impregnaci buněčných stěn, zesílení kutikuly, tvorbě voskových vrstev (Parker et al., 2009).
6. Nehostitelská rezistence je komplexní genetický systém, který nepůsobí specificky proti určitému typu patogena. Mechanismy nehostitelské rezistence zahrnují přestavby buněčné stěny, hypersenzitivní buněčnou smrt, produkci fungicidních látek zabraňujících adhezi, klíčení a růstu patogena na povrchu

listu i uvnitř buněk. Příkladem jsou geny penetrace (PEN1, PEN2 a PEN3), díky nimž je houbě zabráněno pronikat do pokožky listů (Ellis et al., 2006).

Geny rezistence

U ječmene je známo mnoho genů odolnosti k padlí travnímu, přičemž většina z nich byla už zmapována. Jørgensen et al. (1994) shrnul známé lokusy genů determinujících odolnost k padlí travnímu s jejich lokalizacemi na chromozómech 1H (*Mla*, *Mlat*, *MlGa*, *Mlk*, *Mlnn* a *Mlra*), 2H (*MILa*), 4H (*Mlg*, *mlo*) a 6H (*Mlh*). Později byly lokalizovány geny *Mlj* na chromozómu 5H, *Mle*, *Mlf* a *mlt* na chromozómu 7H (Schönfeld et al., 1996). Byly také objeveny geny, které jsou nezbytné pro odolnost k padlí travnímu, a to geny *Rar1* a *Rar2* pro funkci různých alel genu *mlo* (Shen et al., 2003; Vidhyasekaran et al., 2007), a dále geny *Ror1* a *Ror2* nezbytné pro funkci genu odolnosti *mlo* (Acevedo-Garcia et al., 2013). Na všech chromozómech ječmene už byly identifikovány i lokusy s polygeny pro odolnost k padlí travnímu (Backes et al., 2003; von Korff et al., 2005; Yun et al., 2005). Mezi nejvýznamnější a nejlépe popsané patří geny *mlo* a *mlo*.

Gen *mlo*

Gen *mlo* se nachází na krátkém raménku chromozómu 1H v blízkosti telomery a má velikost 240 kb (Halterman et al., 2001; Kokina et al., 2008; Wei et al., 1999). Gen *mlo* zahrnuje genové rodiny asi 32 genů rezistence, jejichž mRNA navíc podléhá alternativnímu sestřihu. Primární funkcí produktů těchto genů je rozpoznávání signálů spojených s přítomností patogena (Halterman et al., 2003). Odlišné genetické varianty genu *mlo* se nacházejí v odrůdách ječmene po celém světě a jsou příčinou specifické odolnosti ječmene k nejrůznějším patotypům padlí (Wei et al., 2002).

Alely genu *mlo* patří do skupiny genů s CC (coiled-coil) strukturou, doménou NBS (nucleotide binding site) a repeticí LRR (leucine rich repeat), tzv. CC-NBS-LRR geny (Seeholzer et al., 2010). Z 32 předpokládaných genů rezistence se jich 15 přímo podílí na ochraně rostliny proti patogenu. Těchto 15 sekvencí kódujících proteiny je uspořádáno do pěti rodin včetně skupiny RGH (Resistance Gene Homolog), která je rozdělena do tří rodin RGH1, RGH2 a RGH3 (Cao et al., 2004; Wei et al., 2002; Zhoua et al., 2001). Tyto tři rodiny genů RGH zahrnují osm různých genů, které obsahují domény CC, NBS, LRR tvořící hlavní obranný komplex ječmene (Keller et al., 2007;

Srichumpa et al., 2005). Těchto osm RGH genů má více než 43% aminokyselinovou sekvenční homologii mezi rodinami a 78 až 100% homologii v rámci rodin (Shen et al., 2004). Předpokládá se, že proteiny kódované RGH přímo nebo nepřímo rozpoznávají produkty genů avirulence (Avr) specifické pro patogena a spouští obranné mechanismy. Obranné signální proteiny kódované těmito geny sdílejí konzervativní aminokyselinové domény s funkčně shodnými bílkovinami různých taxonů (Dangl et al., 2001).

Gen *m1a* se skládá ze tří genově bohatých skupin, které jsou odděleny dvěma komplexy transpozonů a 45 kb dlouhou genově chudou oblastí, která je složena ze středně a vysoce repetitivních sekvencí. V této genově chudé oblasti bylo identifikováno několik satelitních DNA sekvencí, blok devíti tandemových repetic a tandemová duplikace o velikosti 2,5 kb. Celkem jsou zde lokalizovány čtyři mikrosatelity a 17 rodin tandemových repetic s rozsahem od 2 do 29 kopií. V genu *m1a* bylo identifikováno 54 mikrosatelitů, z nichž 19 je asociováno s transpozony a 35 se jich nachází v oblastech, mimo transpozony. Z těchto mikrosatelitů umístěných v oblastech bez transpozonů je 10 lokalizováno v oblastech kódujících geny a 25 v intergenových úsecích (Klumpler et al., 2006; Wei et al., 2002). V genu *m1a* jsou zastoupeny všechny hlavní třídy transpozonů. Největší z nich je třída retrotranspozonů LTR (long terminal repeat), která zahrnuje čtyři rodiny typu Copia, tři rodiny typu Gypsy a jednu typu Athila (Mayer et al., 2012; Shirasu et al., 2000). Do rodiny typu Copia zahrnujeme retrotranspozony označované jako BARE-1, HORPIA-1,2 a 3, a také Inga (Polok et al., 2011; Vitte et al., 2003). Do rodiny typu Gypsy patří retrotranspozony označované jako BAGY-1 a 2, HORGY-1 a Sukkula (Alzohairy et al., 2012). Další transponovatelné elementy zastoupené v genu *m1a* jsou elementy MITEs, MuDR a další (Wicker et al., 2005; Gupta et al., 2013).

Gen *m1o*

Monogenní rezistence zprostředkovaná recesivní mutantní alelou (*m1o*) v genu *m1o* byla původně objevena u indukovaných mutantů ječmene rezistentních k padlí v roce 1942 (Jørgensen et al., 1992). V roce 1970 byla objevena další alela v divoké populaci ječmene pěstované v Etiopii a v roce 1979 byla uvolněna první komerční odrůda s tímto typem rezistence (Lyngkjær et al., 2000).

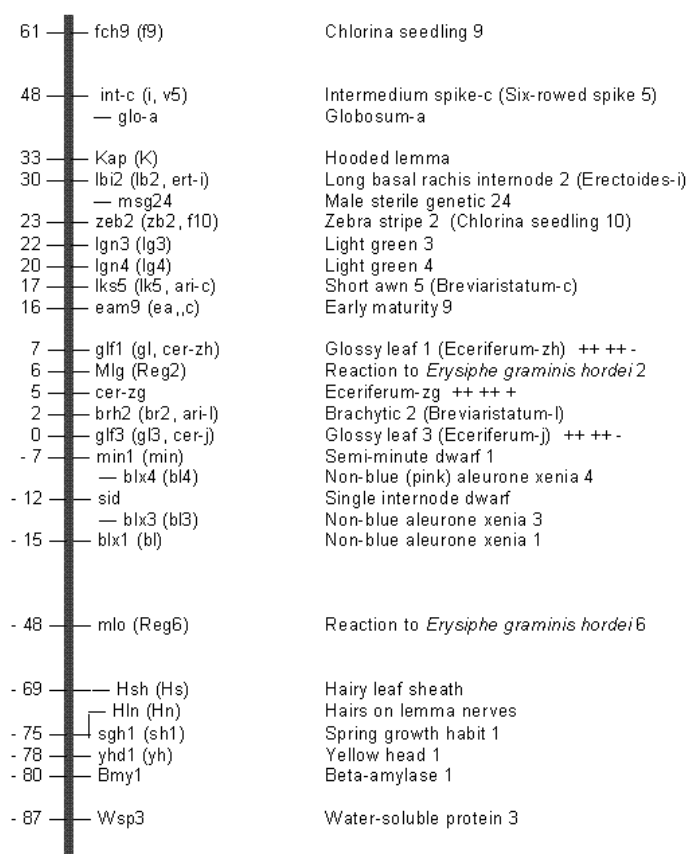
Funkce genu mlo

Funkce genu *mlo* je obecně chápána jako regulace procesu opravy buněčné stěny, kdy dochází k růstu intracelulární papily, která se tvoří v místě poranění způsobené v důsledku průniku *Bgh* (Dong et al., 2006). Mutace na různých místech v genu může vést k jeho poruše a výsledkem může být nadměrný růst papily. To způsobuje velmi vysokou úroveň odolnosti vůči padlí, protože papila roste obvykle rychleji, oproti rychlosti penetrace patogena. Absence regulační funkce genu *mlo* může u *mlo* mutantů vést k nežádoucím pleiotropním účinkům (Panstruga et al., 2008). Tento pleiotropní účinek se projevuje tvorbou makroskopických, nekrotických a chlorotických lézí na listech a dochází také k snížení výnosu (Freialdenhoven et al., 1996). Exprese genu *mlo* může být ovlivněna řadou environmentálních faktorů, jako je zvýšená teplota, nedostatek vody, intenzita světla nebo i krátkodobé osvobození od vodního stresu. Expozice těmto faktorům zvyšuje u rezistentních rostlin náchylnost k padlí asi o jeden řád (Czembor et al., 2002).

V současné době je gen *mlo* jediným zdrojem rezistence vůči vysoce virulentním rasám padlí a omezuje jejich rozšíření v zemědělském prostředí. Gen *mlo* je nejrozšířenější zdroj rezistence u odrůd jarního ječmene. Ve střední a západní Evropě se převážně pěstují odrůdy jarního ječmene s genem *mlo* (Panstruga et al., 2008).

Umístění genu mlo

Gen *mlo* je umístěn ve střední části na dlouhém rameni chromozomu 4H (Shtaya et al., 2006).

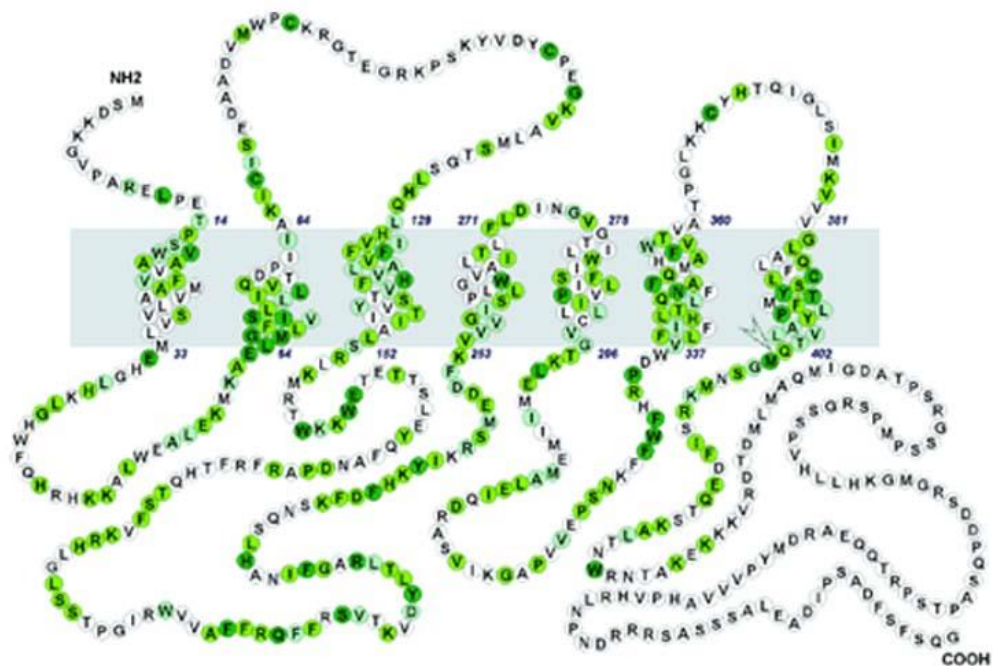


Obr. 5 Umístění genu *mlo* na chromozomu 4H (Forster et al., 2000; Franckowiak et al., 1997)

Molekulární struktura genu *mlo*

Divoký typ *mlo* alely je dlouhý 1599 bp a kódovaný protein obsahuje 533 aminokyselin (Büschges et al., 1997). Odvozený gen *mlo* má předpokládanou molekulovou hmotnost 60 kDa a tvoří ho sedm transmembránových domén, které jsou orientovány N-koncem vně a C-koncem dovnitř membrány (Chen et al., 2014; Piffanelli et al., 2002).

Extracellular



- invariant
- conservative changes
- non-conservative changes

Intracellular

Obr. 6 Molekulární struktura genu *mlo* (Lipidová dvojvrstva plazmatické membrány je znázorněna šedou barvou. Kruhy s písmeny představují aminokyseliny.) (Schulze-Lefert et al., 2004)

Alely genu *mlo*

Tab. 1 Charakteristika alel *mlo* (převzato z článku Reinstädler et al., 2010, upraveno)

Alela	Mateřská odrůda	Označení mutanta	Mutace na úrovni cDNA	Efekt na úrovni aminokyselin
<i>mlo</i> -1	Haisa	M66	T ⁴⁸⁴ →A	W ¹⁶² →R
<i>mlo</i> -2	Vollkorn	H3502	G ¹⁰⁴⁵ →A	A ³⁴⁹ →T
<i>mlo</i> -3	Malteria Heda	M.C.20	D ¹¹⁸⁸⁻¹¹⁸⁹	posun čtecího rámce po F ³⁹⁵
<i>mlo</i> -4	Foma	SR1	D ⁴⁷⁸⁻⁴⁸⁸	posun čtecího rámce po W ¹⁵⁹
<i>mlo</i> -5	Carlsberg II	R5678	G ³ →A	M ¹ →I
<i>mlo</i> -6	Carlsberg II	R6018	G ⁹⁸⁵ →A ^a	
<i>mlo</i> -7	Carlsberg II	R7085	G ⁶⁷⁷ →A	G ²²⁶ →D
<i>mlo</i> -8	Carlsberg II	R7372	A ¹ →G	M ¹ →V
<i>mlo</i> -9	Diamant	SZ5139b	C ²⁸ →T	R ¹⁰ →W
<i>mlo</i> -10	Foma	SR7	D ⁵⁴³⁻⁵⁴⁸	D 2 amino acids (F ¹⁸² a T ¹⁸³)
<i>mlo</i> -11	EP79, L92, L100	Grannenlose Zweizeilige		vloženy repetitivní Mlo fragmenty před intaktní Mlo
<i>mlo</i> -12	Elgina	Do 4122	C ⁷²⁰ →A	F ²⁴⁰ →L
<i>mlo</i> -13	Plena	Do 2018	T ⁸⁹ →A	V ³⁰ →E
<i>mlo</i> -16	Alsa	Do 2376	G ¹⁹¹⁷ A ^a	n.a.
<i>mlo</i> -17	Plena	Do 2034	C ⁹² →T	S ³¹ →F
<i>mlo</i> -26	Plena	Do 2118	T ⁸⁰⁹ →A	L ²⁷⁰ →H
<i>mlo</i> -27	Plena	Do 2021	G ⁹⁵³ →A	G ³¹⁸ →E
<i>mlo</i> -28	Nadja	Do 4228	C ⁶⁶⁵ →T	T ²²² →I
<i>mlo</i> -29	Sultan 5		C ¹⁰⁰¹ T	P ³³⁴ →L
<i>mlo</i> -30	Alsa	Do 2234, Do 2235	A ²²⁴² →T ^a	D 6 amino acids
<i>mlo</i> -31	Ursula	URS1	DG ⁸²⁶	posun čtecího rámce po G ²⁷⁶
<i>mlo</i> -32	Prudentia	PRU1	G ¹⁰³ →T	E ³⁵ →stop
<i>mlo</i> -33	Ursula	URS2	G ⁹¹⁶ →A	A ³⁰⁶ →T
<i>mlo</i> -34	Kristina	SR34a, SR34b, SR34c	G ¹²⁶⁹ →A	W ⁴²³ →stop
<i>mlo</i> -35	Kristina	SR39a, SR39b, SR47, SR48	A ⁶⁹² →T	H ²³¹ →L
<i>mlo</i> -36	Bonus	SR51a, SR51b	G ¹⁰⁷¹ →A	W ³⁵⁷ →stop
<i>mlo</i> -37	Bonus	SR60	C ²¹² →T	S ⁷¹ →F
<i>mlo</i> -38	Kristina	SR65	G ⁹⁵² →A	G ³¹⁸ →R
	Bonus	SR59	G ⁹⁵² →A	G ³¹⁸ →R
<i>mlo</i> -39	Bonus	SR71	C ¹⁰⁵¹ →T	Q ³⁵¹ →stop
<i>mlo</i> -40	Bonus	SR72	G ⁷⁹¹ →A	G ²⁶⁴ →D
<i>mlo</i> -41	Bonus	SR73	G ⁶²⁶ →A	R ²⁰⁹ →K
<i>mlo</i> -42	Bonus	SR66	C ⁵⁵⁹ →T	S ¹⁸⁷ →L
<i>mlo</i> -43	Bonus	SR63	C ⁶²⁸ →T	Q ²¹⁰ →stop
<i>mlo</i> -44	Bonus	SR57	G ⁶⁷⁸ →A ^a	

^a označení nukleotidů podle genomové sekvence (místo sestřihu mutace)

2.4 Kvalitativní parametry sladovnického ječmene

2.4.1 Geneticko – šlechtitelské aspekty

Odrůdy ječmene jsou základním nosným prvkem kvality. Zrno ječmene je zdrojem mnoha významných látek, umožňujících jeho široké využití (Tab. 2). Obsah a vzájemné poměry těchto látek mohou být záměrným šlechtěním do jisté míry pozměněny pro specifické využití. Při velmi často se měnící odrůdové skladbě je vyhledáván užší sortiment odrůd pro konkrétní využití. V podmínkách ČR je výběr zaměřen především na odrůdy, které poskytují kvalitní surovinu pro výrobu sladu (Prugar et al., 2008).

Tab. 2 Chemické složení obilky ječmene (%) (MacGregor et al., 1993, upraveno)

Sacharidy	
škrob	60 – 65
Nízkomolekulární sacharidy	
sacharóza	1 – 2
fruktosa	0,1
ostatní cukry	1
rafinosa	0,3 – 0,5
maltosa	0,1
glukosa	0,1
Neškrobové polysacharidy	
β-glukany	3,3 – 4,9
pentosany	9
celulosa	4 – 7
Tuky	3,5
Fosfáty	
fytin	0,9
Polyfenoly	0,1 – 0,6
Dusíkaté látky	7 – 18
rozpuštěné dusíkaté látky	1,9
albuminy a globuliny	3,5
hordeiny (prolaminy)	3 – 4
gluteliny	3 – 4
Minerální látky	2

2.4.2 Geny ovlivňující kvalitu ječmene

Mezi hlavní zásobní bílkoviny u ječmene patří hordein (Pistón et al., 2005). Hordein se dělí do třech hlavních skupin, a sice B, C a D, které představují přibližně 50 % z celkového obsahu proteinu v obilkách (Nalbandi et al., 2012). D-hordeiny jsou charakterizovány vysokým obsahem glutaminu, glicinu a prolinu. Syntéza těchto hordeinů je kódována genem *Hor3*, který se nachází na dlouhém rameni chromozomu 1H. C-hordeiny bohaté na glutamin, fenylalanin a prolin a B-hordeiny bohaté na glutamin jsou kódovány geny *Hor1* a *Hor2* a nachází se na krátkém rameni chromozomu 1H (Leistrumaitė et al., 2007). Mezi další geny, které ovlivňují kvalitu odrůd pro potravinářské využití, patří geny pro bezpluchost (n – nudum), geny pro vysoký podíl amylosy ve škrobu (*amo1*) a geny pro vysoký podíl lyzinu (např. *lys3a*) (Prugar et al., 2008).

2.4.3 Kvalita sladovnického ječmene

Ukazatel sladovnické jakosti (USJ)

USJ se používá pro hodnocení kvality jednotlivých odrůd (Chloupek et al., 2009). Úroveň jednotlivých znaků je výsledkem interakce mezi genotypem a prostředím. Je rozdíl mezi jakostí odrůdy a jakostí konkrétní partie. Znaky jsou hodnoceny stupnicí 1 – 9 (Psota et al., 2002).

$$USJ_j = 9 - \sqrt{P_j}$$

kde

$$P_j = \frac{\sum (B_{ij} - 9)^2 W_i}{\sum W_i}$$

kde B_{ij} = bodové hodnocení i-tého znaku j-té odrůdy,

W_i = váha i-tého znaku.

Jakostní požadavky na sladovnický ječmen (*Tab. 3, Tab. 4.*) se odvíjejí od normy 46 1100-5 (Psota et al., 2010).

Tab. 3 Hodnoty jakostních ukazatelů pro sladovnický ječmen (ČSN 46 1100-5, 2006)

Hodnoty jakostních ukazatelů ječmene sladovnického (ČSN 46 1100-5)	
Jakostní ukazatele	Hodnoty
Vlhkost v hmotnostních %, nejvýše	15,0
Přepad zrna nad sítím 2,5 mm podle 3.3 v hmotnostních %, nejméně	85,0
Zrnové příměsi sladařsky nevyužitelné podle 3.3 v hmotnostních %, nejvýše	3,0
Zrnové příměsi částečně sladařsky nevyužitelné podle 3.10 v hmotnostních %, nejvýše	6,0
Neodstranitelná příměs podle 3.15 c) v hmotnostních %, nejvýše	1,0
Klíčivost (H ₂ O ₂) v % z celkového počtu zrn, nejméně	96,0
Obsah N-látek (N × 6,25) v hmotnostních %:	
a) nejméně	10,0
b) nejvýše	12,0
Barva pluchy	žlutá i méně vyrovnaná

Tab. 4 Ukazatele sladovnické jakosti (Černý et al., 2007)

Parametr	Jednotky	Nepřijatelná hranice		Váha
		1	9	
dusíkaté látky v zrně ječmene	%	9,5	10,2	0,01
		11,7	11,0	
extrakt v sušině sladu	%	81,5	83,0	0,30
relativní extrakt při 45° C	%	35,0	40,0	0,20
		53,0	48,0	
Kolbachovo číslo	%	40,0	42,0	0,10
		53,0	48,0	
diagnostická mohutnost	j. WK	220	300	0,10
dosažitelný stupeň prokvašení	%	79,0	82,0	0,10
friabilita	%	79,0	86,0	0,10
β-glukanů ve sladině	mg.l ⁻¹	250	100	0,10

2.4.3.1 *Chráněné zeměpisné označení „České pivo“*

Chráněné zeměpisné označení (CHZO) České pivo bylo zapsáno nařízením komise (ES) č. 1014/2008 do Rejstříku chráněných označení původu a chráněných zeměpisných označení (Psota et al., 2008). Byly stanoveny základní parametry, které odrůdy vhodné pro České pivo musí mít (*Tab. 5*) (Psota et al., 2012).

Tab. 5 Základní znaky sladiny vhodné pro chránění zeměpisné označení České pivo (Psota et al., 2012)

Parametr	Hodnoty
extrakt v sušině sladu	min. 80 %
Kolbachovo číslo	39,0 ± 3 %
diastatická mohutnost	min. 220 W.-K
dosažitelný stupeň prokvašení	max. 82 %
friabilita	min. 75 %

Extrakt v sušině sladu

Extrakt sladu je předpokladem pozitivního vlivu na kvalitu finálního výrobku. Ovlivňuje výsledky kvašení, chemické složení hotového piva i jeho organoleptické vlastnosti. Stanovuje se relativní hustota kongresní sladiny a pomocí tabulek, kde je uveden hmotnostní zlomek extraktu v g na 100 g sladiny (%), se vypočte hodnota extraktu v původním sladu a v sušině sladu (Basařová et al., 2015).

Kolbachovo číslo

Kolbachovo číslo udává procentický podíl dusíkatých látek (stanovených Kjeldahlovou metodou) rozpuštěných ve sladince vůči celkovému obsahu ve vzorku sladu. Je ukazatelem proteolytického rozluštění sladu – modifikace sladu (Líšková et al., 2011).

Diastatická mohutnost

Je hodnota, která udává enzymový potenciál sladu, převážně beta-amylázy. Vlivem tohoto enzymového potenciálu dochází v procesu rmutování ke štěpení škrobu na

nízkomolekulární sacharidy. Udává se v jednotkách Windish – Kolbach (Hubík et al., 2002).

Dosažitelný stupeň prokvašení

Dosažitelný stupeň prokvašení je procentický podíl extraktu sladiny před a po kvašení. Vyjadřuje procento extraktu, které může být metabolizováno kvasinkami. Dosažitelný stupeň prokvašení je odrůdovou vlastností. Na jeho hodnotu má i vliv množství a podíl zkvasitelných cukrů, obsah stopových prvků a složení dusíkatých látek (Prugar et al., 2008).

Friabilita – křehkost sladu

Křehkost sladu souvisí s jeho rozluštěním neboli modifikací během klíčení, tj. odbouráním buněčných stěn škrobových zrn tvořených převážně neškrobovými polysacharidy a bílkovinné matrice. Dobře rozluštěná zrna jsou křehká a dobře se melou. V současnosti se ve velké míře posuzuje křehkost či tvrdost sladu vyjadřující stupeň modifikace pomocí přístrojů nazvaných friabilimetr (Basařová et al., 2015).

3 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo ověřit hypotézu, že syrská odrůda Tadmor s dobrou adaptací na podmínky extrémního sucha by mohla být využita jako zdroj vyšší odolnosti k suchu, při šlechtění jarních ječmenů. Hodnocení bude provedeno na liniích F5 generace odvozených z reciprokého křížení mezi odrůdou Tadmor a sladovnickou odrůdou Jersey. Cílem je vyhodnotit vybrané parametry výnosu a kvality na dvou lokalitách s odlišnými vláhovými podmínkami. Současně bude provedena analýza úrovně tolerance k padlí travnímu a detekce alel genu *mlo*.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Rostlinný materiál

Pro experiment byly vybrány linie generace F5, které vznikly reciprokým křížením odrůdy Tadmor a odrůdy Jersey. Odrůda Tadmor vznikla výběrem ze syrské krajové odrůdy Arabi Aswad v rámci šlechtitelského programu ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas). Tadmor je dvouřadá odrůda ječmene, která se vyznačuje velmi dobrou adaptací k suchu (250 – 400 mm srážek), vyšší odolností vůči oxidativnímu stresu z nadměrného ozáření danou nižším obsahem chlorofylu v listech a vyšším osmotickým potenciálem. Obilky odrůdy Tadmor jsou v porovnání s běžnými sladovnickými odrůdami užší a protáhlejší a mají tmavě zbarvenou pluchu (Tardy et al., 1998; Teulat et al., 1997; Volaire et al., 2003). Odrůda Jersey vznikla křížením odrůd Apex a Alexis a byla registrována v roce 2000. Udržovatelem je firma Limagrain Advanta Nederland B.V., NL. Jedná se o polopozdní odrůdu s vysokou sladovnickou kvalitou, která vyniká především nízkým obsahem beta-glukanů a odolností k padlí travnímu. Odrůda Jersey je nositelem rasově nespecifické resistance *mlo* k padlí travnímu (Dreiseitl et al., 2010), která doposud nebyla molekulárně identifikována (Dreiseitl, ústní sdělení). Na základě rodokmenu však lze očekávat výskyt *mlo11* (z odrůdy Apex) nebo *mlo9* (z odrůdy Alexis) (www.crpmb.org).



Obr. 7 Příklad zbarvení zrna u odrůd Tadmor a Jersey a vybraných linií po křížení TxJ

4.2 Hodnocení kvalitativních a kvantitativních parametrů

Hodnocení bylo provedeno u linií pěstovaných v polních podmínkách na dvou lokalitách (Brno, Žabčice). Klasová potomstva 45 linií byla vyseta do jednotlivých dvouřádků. Po sklizni byly linie rozříděny podle kombinace (JxT a TxJ) a barvy pluchy do čtyř skupin.

Průběh klimatických podmínek na sušší lokalitě Žabčice byl vyhodnocen na základě dat získaných z meteorologické stanice (viz přílohy Tab. 14). Výrazně nejnižší úhrn srážek byl v měsíci březnu (5,6 mm) a dubnu (11,2 mm).

4.2.1 Hodnocení kvantitativních parametrů

U linií generace F5 pěstovaných v polních podmínkách na lokalitách Brno a Žabčice byla po sklizni hodnocena hmotnost tisíce semen (HTS), podíl zrn nad sítem 2,0 mm, výnos zrn na rostlinu a intenzita napadení rostlin ječmene padlím. U Tadmoru

a jeho potomstva nebylo možné velikost předního zrna hodnotit přepadem nad sítím 2,5 mm, vzhledem k odlišnému tvaru semen odrůdy Tadmor (obilky jsou úzké a protáhlé).

Intenzita napadení rostlin ječmene padlím byla hodnocena podle Metodiky zkoušek užitné hodnoty pro ječmen, ÚKZÚZ 2013. Hodnocení rostlin bylo provedeno ve fázi 30 – 39 (začátek sloupkování až fáze jazýčku – jazýček praporcového listu již viditelný, praporcový list plně rozvinutý). Po zhodnocení intenzity napadení byl proveden postřik fungicidním přípravkem Fandango (3,3 ml / 1 l vody) ve dvou opakováních s rozestupem 14 dní.

4.2.2 Hodnocení kvalitativních parametrů – stanovení obsahu škrobu a dusíkatých látek v zrně

Stanovení obsahu škrobu a dusíkatých látek v zrně jednotlivých linií byl proveden nedestruktivní metodou přístrojem Nicolet Antaris s Fourierovou transformací (FT-NIR) (Čižmár et al., 2010). Spektra byla snímána v kompresní rotující kyvetě na integrační sféře přístroje FT-NIR v reflektančním módu, při počtu skenů 64, rozlišení 8°cm^{-1} a vlnočtu $12\,000\text{--}4\,000\text{ cm}^{-1}$ za použití programu Omnic. U každého vzorku byla provedena tři nezávislá měření a pro vytvoření kalibrační rovnice bylo použito průměrné spektrum. Kalibrační modely byly vypočítány metodou částečných nejmenších čtverců (PLS) z první derivace spekter v programu TQ Analyst (Bradáčová et al., 2014). Korelační koeficient kalibrace byl pro dusík roven 0,9939. U škrobu byl korelační koeficient roven 0,9907. Jako referenční metoda byla použita metoda stanovení škrobu dle Ewerse a dusíku dle Kjeldahla.

Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Excel a STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc. 1984-2011).

4.3 Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska rezistence vůči padlí

U rodičovských odrůd Tadmor a Jersey a vybraných linií byla identifikována alela *mlo*. Na základě zdravotního stavu byly vybrány linie zdravé označené jako 1/3, 1/11, 1/19, 1/23, 1/28, 1/49, 2/8, 2/11, 2/22, 2/28, 2/35, 2/44 a linie napadené označené jako

1/5, 1/14, 1/22, 2/25, 1/35, 2/6, 2/12, 2/15, 2/30, 2/41, 2/45. Současně byla hodnocena přítomnost alel *mlo11* a *mlo9* u rodičů odrůdy Jersey (Apex, Alexis) a nezávislé kontrolní odrůdy Derkado, která je nositelem alely *mlo11* (www.crpmb.org).

Odrůdy Tadmor, Jersey, Apex, Alexis, Derkado a vybrané linie byly vysety do sadbovačů a pěstovány za 12 hodinové fotoperiody při pokojové teplotě. Po 7 dnech byl proveden odběr listů. Izolace rostlinné DNA byla provedena za použití komerčního kitu DNeasy Plant Mini (Qiagen, Hilden, Germany). Při dodržení postupu pro izolaci DNA z rostlinných pletiv (DNeasy®Plant Handbook).

Detekce alely *mlo11*

Alela *mlo11* vznikla sekvenční duplikací *mlo* lokusu, proto je detekce této alely založena na určení těsně vázaných lokusů.

Detekce byla provedena dle metodiky Piffanelli et al., 2004.

Tab. 6 Reakční směs

Složka	Množství na 1 reakci (μl)
H ₂ O	14,9
10x konc. Cl (1,5mM MgCl ₂)	2,5
5x konc. Q	5
dNTPMix (10mM)	0,5
Primer F	0,6
Primer R	0,6
Taq DNA-polymeraza	0,1

Sekvence použitých primery:

F: CTCCATTTGACTTGACTCG

R: CATGCATGGTTATTGTAAGC

Tab. 7 Průběh PCR reakce za stanovených podmínek

Proces	Teplota (°C)	Délka trvání	Počet opakování
počáteční denaturace	94	3 min	1x
denaturace	94	40 sec	40x
navazani primeru	55	50 sec	
synteza DNA	72	1 min 20 sec	
zavěrečna synteza	72	10 min	1x
chlazení	4	24 hod	1x

Elektroforéza byla provedena na 1,5% agarozovém gelu.

Produkty:

530 bp → přítomnost alely *mlo11*

470 bp → nepřítomnost alely *mlo11*

Detekce alely *mlo9*

Detekce je možná pomocí 1 páru primerů společného pro obě alely. Jejich rozlišení se provádí pomocí restričního štěpení.

Detekce byla provedena dle metodiky Kokina et al., 2008.

Tab. 8 Reakční směs

Složka	Množství na 1 reakci (μl)
H ₂ O	14,9
10x konc. Cl (1,5mM MgCl ₂)	2,5
5x konc. Q	5
dNTPMix (10mM)	0,5
Primer F	0,6
Primer R	0,6
Taq DNA-polymeraza	0,1

Sekvence použitých primerů:

mlo9F02: CGCCAGCAAACCAGACACAC

mlo9R01: TTCCATGAGGACGGACACGA

Tab. 9 Průběh PCR reakce za stanovených podmínek

Proces	Teplota (°C)	Délka trvání	Počet opakování
počáteční denaturace	94	3 min	1x
denaturace	94	40 sec	40x
navazání primeru	60	30 sec	
syntéza DNA	72	1 min 30 sec	
zavěrečná syntéza	72	10 min	1x
chlazení	4	24 hod	1x

Štěpení *mlo9* HhaI:

K 15 μ l produktu byly přidány 2 μ l HhaI, 2 μ l 10xM a 1 μ l vody. Směs byla promíchána a štěpena dvě hodiny v termostatu při teplotě 37 °C. Poté byly přidány 2 μ l Loading Buffer. Elektroforéza byla provedena na 1,5% agarozovém gelu.

Produkty:

mlo9/HhaI: *mlo9* = 272pb + 49pb

WT Mlo = 195 pb + 77pb + 49 pb

4.4 Hodnocení vlivu osmotického stresu na změny osmotického potenciálu listů a stanovení obsahu prolinu

U rostlin ječmene pěstovaných v nádobovém pokusu byl hodnocen vliv osmotického stresu na změny osmotického potenciálu listů a byl stanoven obsah prolinu. Linie (F5) vzešlé z křížení Tadmor x Jersey (TxJ) a Jersey x Tadmor (JxT) byly vybrány na základě předběžného fenotypového hodnocení. Vždy dvě, které vykazovaly v předcházejícím roce vyšší odolnost k suchu (1/2, 1/23, 2/8, 2/25), a jedna která vykazovala nižší odolnost k suchu (1/28, 2/25).

Podmínky kultivace a odběr listů

Rodičovské odrůdy Tadmor a Jersey a vybrané linie generace F5 byly pěstovány hydroponicky v kultivačním boxu za 12 hodinové fotoperiody při 18 °C, kdy se teplota na noc snižovala o 3 °C. Po 21 dnech byla polovina semenáčků vystavena fyziologickému suchu -0,3 MPa pomocí PEG (polyethylenglykol). Za stejných teplotních a světelných podmínek byla pěstována kontrolní varianta bez přidání PEG. Fyziologickému suchu byly rostliny vystaveny po dobu 10 dnů. Od každého genotypu bylo odebráno 5 nezávislých vzorků (2 – 3 rostliny dohromady) a byl odebrán 3 list shora. Odebrané listy byly pro hodnocení uchovány při teplotě -80 °C.

Hodnocení osmotického potenciálu

Osmolarita byla hodnocena pomocí osmometru VAPRO. Před vlastním měřením byla provedena kalibrace přístroje pomocí sady tří kalibračních roztoků takzvaných

standardů. Standardy jsou roztoky o známé osmolaritě (standard 1: 290 mmol.kg⁻¹; standard 2: 1000 mmol.kg⁻¹; standard 3: 100 mmol.kg⁻¹), které jsou uchované v zatavených skleněných baňkách kvůli zamezení naředění vzdušnou vlhkostí. Pro měření je také důležitá kvalita vody a silikagelové náplně pohlcující vzdušnou vlhkost.

Stanovení osmolarity je založeno na stanovení rosného bodu vzorku (vzorek se odpaří a nechá zkondenzovat). Hodnoty osmolarity stanovené osmometrem je nutné vynásobit koeficientem (-0,002437), abychom získali hodnotu osmotického potenciálu v MPa.

Stanovení obsahu prolinu

Metodika dle Jiménez-Bremont et al., 2006 (úprava dle Solařová, ústní sdělení, 2015).

Příprava kalibrační řady roztoků prolinu (P)

25 mg prolinu rozpustíme v 25 ml destilované vody a promícháme. Ze zásobního roztoku odpipetujeme dané množství do 5 zkumavek a přidáme 10 ml destilované vody. Poté přidáme 10 ml roztoku ninhydrinu a vaříme ve vodní lázni 60 minut. Po zchlazení přidáme 10 ml toluenu a necháme třepat 60 minut. Vzniklou kalibrační řadu necháme stát přes noc v chladu a druhý den odebíráme svrchní toluenovou fázi a stanovujeme absorbanci při 520 nm. Na standardní kalibrační křivku byl použit L-prolin od firmy Sigma-Aldrich.

Stanovení prolinu ve vzorcích listů ječmene

Odvážíme 100 mg vzorku pletiva a přidáme 15 ml destilované vody. Vzorky s vodou rozmixujeme a povaříme ve vodní lázni 45 minut. Poté centrifugujeme (10 minut při 3000 rpm). Ze supernatantu odpipetujeme 5 ml a přidáme 10 ml roztoku ninhydrinu a povaříme ve vodní lázni 60 minut. Po zchlazení přidáme 10 ml toluenu a necháme třepat 60 minut. Vzorky necháme stát přes noc v chladu a druhý den odebíráme svrchní toluenovou fázi a stanovujeme absorbanci při 520 nm. Výsledná koncentrace prolinu byla přepočítána na $\mu\text{mol.g}^{-1}$ čerstvé hmoty.

5 VÝSLEDKY

5.1 Hodnocení kvalitativních a kvantitativních parametrů

5.1.1 Hodnocení kvantitativních parametrů

U linií generace F5, které byly odvozeny z křížení odrůd Tadmor a Jersey, pěstovaných v polních podmínkách na lokalitách Brno a Žabčice byla po sklizni hodnocena hmotnost tisíce semen (HTS), podíl zrn nad sítím 2,0 mm, výnos zrn na rostlinu a intenzita napadení rostlin ječmene padlím.

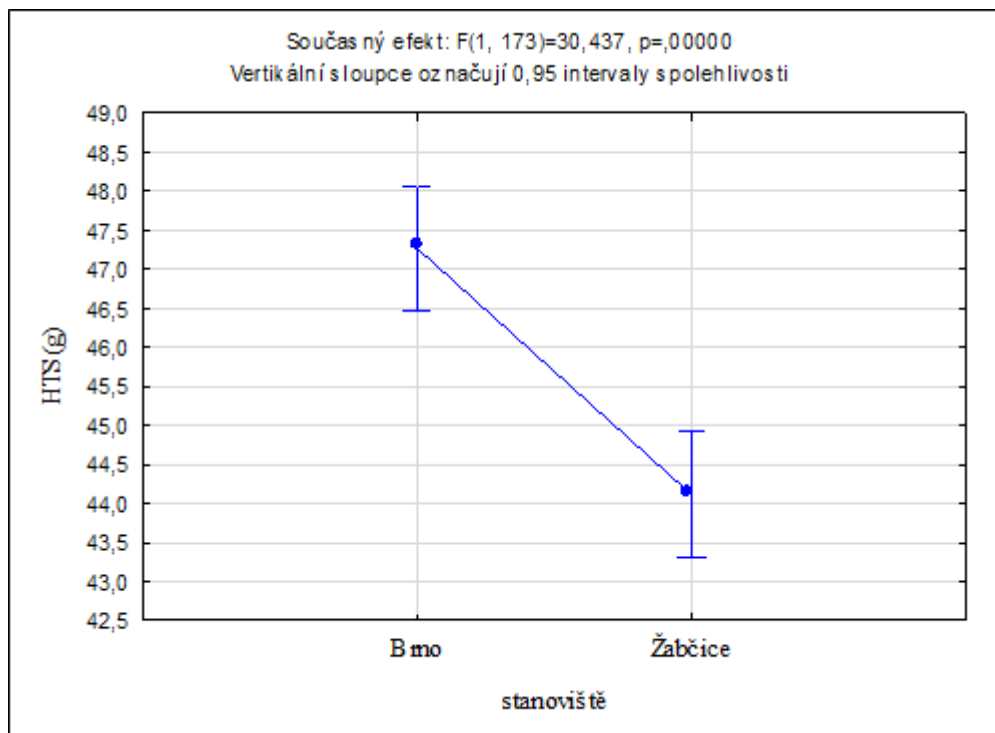
Tab. 10 Analýza variance pro hmotnost tisíce semen, výnos zrn na rostlinu a podíl zrn nad sítím 2,0 mm

Zdroj variability	d.f.	Výnos zrn na rostlinu		Hmotnost tisíce zrn		Podíl zrn nad sítím 2.0 mm	
		PČ	p	PČ	p	PČ	p
Stanoviště	1	4,869	0,13	443,6	0,00	2080	0,00
Kombinace (genotyp) + barva	3	5,924	0,04	161,5	0,00	368	0,00
Interakce lokalita*komb.+barva	3	1,231	0,63	14,9	0,38	261	0,00
Chyba	173	2,101		14,6		21	

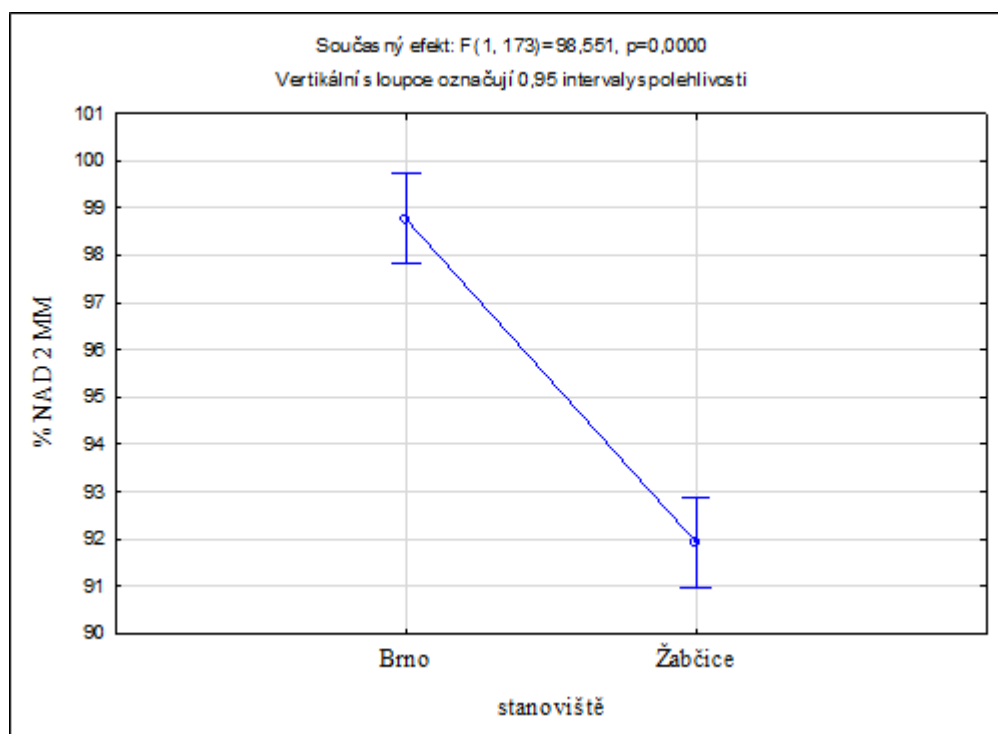
d.f. – stupně volnosti; PČ – průměrný čtverec; p – hodnota pravděpodobnosti

Analýza variance pro hodnocené parametry (viz Tab. 10) ukázala významný vliv jednotlivých faktorů a interakcí mezi nimi na jednotlivé výnosové parametry. Výnos zrna na rostlinu byl statisticky průkazně ovlivněn pouze genotypem a barvou pluchy. Hmotnost tisíce semen byla průkazně ovlivněna lokalitou, genotypem a barvou pluchy. Podíl zrn nad sítím 2,0 mm (velikost zrna) byla průkazně ovlivněna jak lokalitou, tak genotypem a barvou pluchy, ale i interakcemi mezi lokalitou, genotypem a barvou pluchy.

Z grafů (Obr. 8 a Obr. 9) je patrné statisticky průkazné snížení HTS a podílu zrn na sušší lokalitě (Žabčice). Snížení výnosu na jednu rostlinu bylo statisticky nevýznamné. Průměrná hodnota HTS byla na lokalitě Žabčice 44,1 g a na lokalitě Brno 47,7 g. Průměrná hodnota podílu zrn nad sítím 2,0 mm byla na lokalitě Žabčice 92 % a na lokalitě Brno 98,8 %.



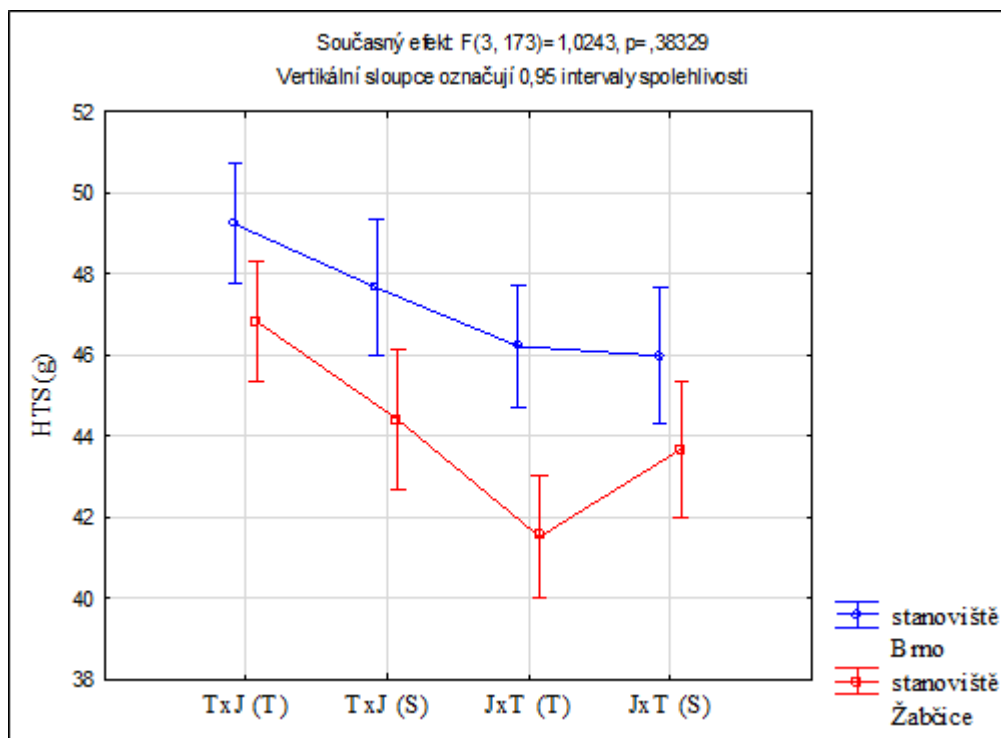
Obr. 8 Porovnání hmotnosti tisíce semen (g) na lokalitách Brno a Žabčice



Obr. 9 Porovnání podílu zrn (% nad 2,0 mm) na lokalitách Brno a Žabčice

Na obou lokalitách byly hodnoceny sledované parametry s ohledem na původ (genotyp s ohledem na reciproké křížení) a barvy pluchy. Ve všech hodnoceních byly pozorovány rozdíly v závislosti na původu (rodičovské kombinaci). U hodnot HTS byly

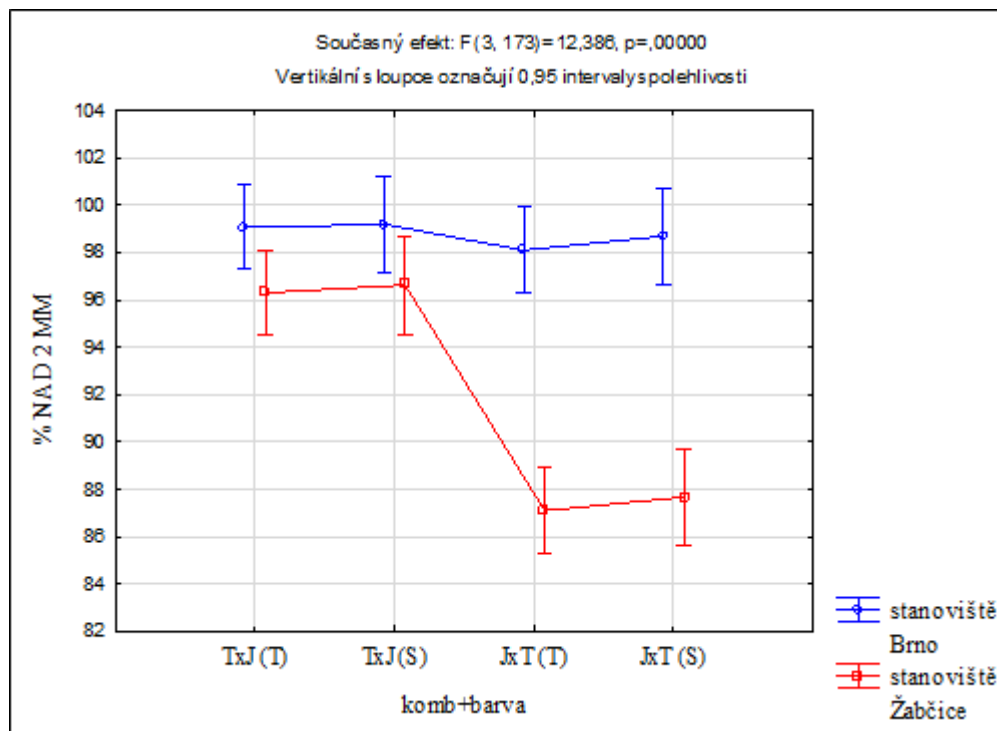
pozorovány průkazné rozdíly v závislosti na původu a barvě (Obr. 10). Pokud byl Tadmor použitý jako mateřská rostlina, odvozené linie vykazovaly na suché lokalitě nižší poškození ve všech sledovaných parametrech.



Obr. 10 Porovnání rozdílů hmotnosti tisíce semen v závislosti na rodičovské kombinaci a barvě pluchy na lokalitách Brno a Žabčice

* T – Tadmor; J – Jersey; (T) – tmavá barva pluchy; (S) – světlá barva pluchy

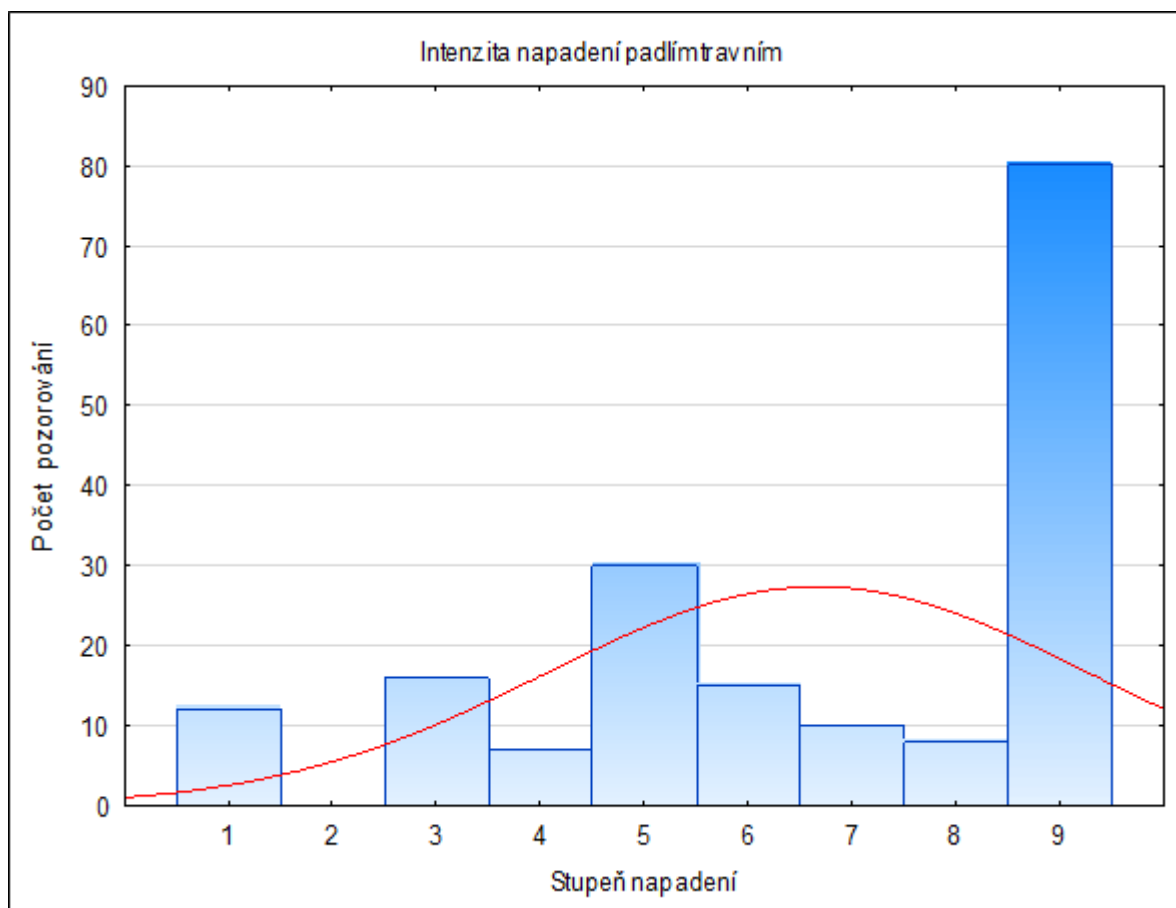
U hodnot podílu zrn nad 2,0 mm byly pozorovány průkazné rozdíly v závislosti na původu a barvě (Obr. 11). Pokud byl Tadmor použitý jako mateřská rostlina, odvozené linie vykazovaly na suché lokalitě vyšší hodnoty tohoto parametru v porovnání s liniemi J x T.



Obr. 11 Porovnání rozdílů podílu zrn (% nad 2,0 mm) v závislosti na rodičovské kombinaci a barvě pluchy na lokalitách Brno a Žabčice

* T – Tadmor; J – Jersey; (T) – tmavá barva pluchy; (S) – světlá barva pluchy

Výsledky hodnocení zdravotního stavu sledovaných linií na lokalitách Žabčice a Brno byly zpracovány do histogramu (Obr. 12). Z histogramu je zřejmé, že v hodnoceném potomstvu TxJ a JxT se vyskytovaly linie s různým stupněm napadení. Převážná část hodnocených linií generace F5 však nevykazovala známky viditelného napadení padlím travním (stupeň 9).



Obr. 12 Hodnocení intenzity napadení rostlin padlím travním u linií generace F5 pěstovaných v polních podmínkách

5.1.2 Hodnocení kvalitativních parametrů

U hodnocených linií a jejich rodičů byl ve sklizni na obou lokalitách stanoven obsah škrobu a dusíkatých látek v zrně.

Stanovení obsahu dusíkatých látek a škrobu

Tab. 11 Analýza variance pro obsah dusíkatých látek a škrobu

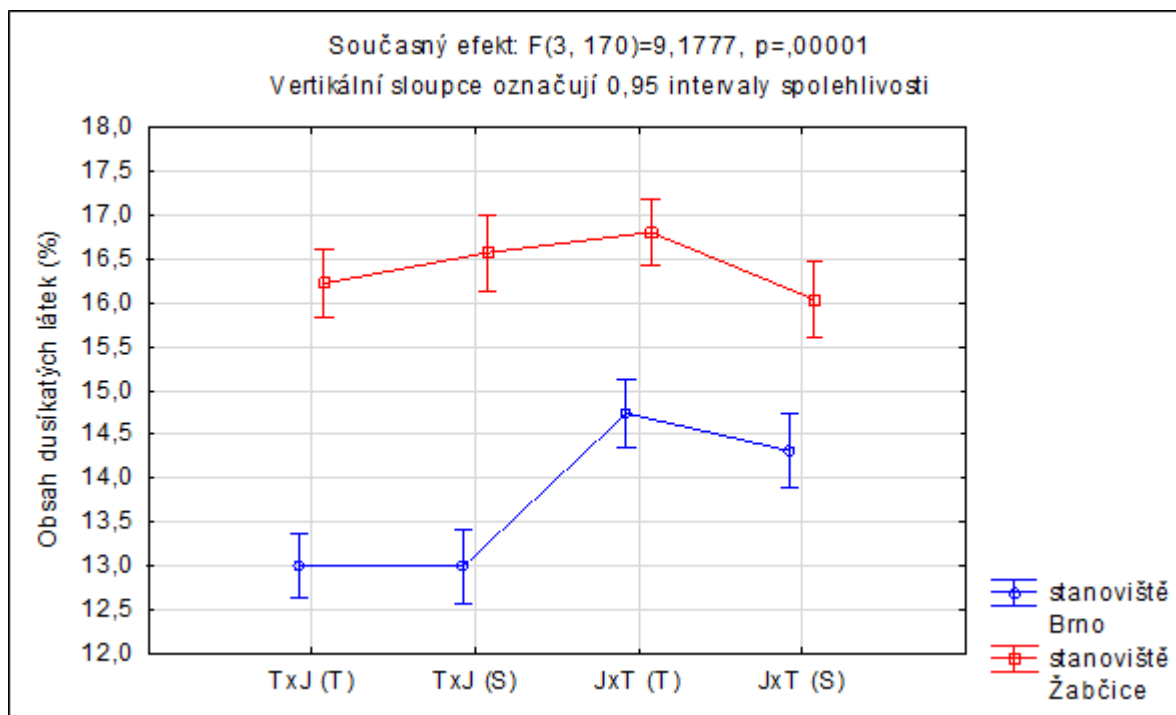
Zdroj variability	d.f.	Dusíkaté látky		Škrob	
		PČ	p	PČ	p
Stanoviště	1	309,28	0,000000	841,0	0,000000
Kombinace + barva	3	12,78	0,000000	19,3	0,000240
Interakce lokalita*komb.+barva	3	8,44	0,000012	2,7	0,421901
Chyba	170	0,92		2,8	

d.f. – stupně volnosti; PČ – průměrný čtverec; p – hodnota pravděpodobnosti

Analýza variance pro hodnocené parametry (viz *Tab. 11*) ukázala odlišný vliv jednotlivých faktorů a interakcí mezi nimi na jednotlivé kvalitativní parametry. Obsah dusíkatých látek byl průkazně ovlivněn lokalitou, tak genotypem a barvou pluchy, ale i interakcemi mezi lokalitou, genotypem a barvou. Obsah škrobu byl průkazně ovlivněn lokalitou, genotypem a barvou pluchy. Na základě těchto výsledků bylo možné následným testováním zjistit statisticky průkazné rozdíly mezi průměrnými hodnotami obsahu dusíkatých látek i škrobu (viz *Obr. 13,14*).

Obsah dusíkatých látek u linií pěstovaných na lokalitě Žabčice byl statisticky průkazně vyšší než u linií pěstovaných na lokalitě Brno (*Obr. 13*). Na lokalitě Žabčice však nebyl pozorován průkazný rozdíl tohoto parametru (obsah dusíkatých látek) v závislosti na původu linií. Naproti tomu na lokalitě Brno byly pozorovány průkazné rozdíly v průměrných hodnotách dusíkatých látek v zrně, v závislosti na původu linií (průměrné hodnoty se pohybovaly na lokalitě Žabčice od 16,3 % do 16,8 % a na lokalitě Brno od 13 % do 14,7 %). Průměrné hodnoty tohoto znaku u linií JxT (T) a JxT (S) (Jersey použit v křížení jako matka) se statisticky průkazně lišily od průměrných hodnot linií TxJ (T) a TxJ (S) (Tadmor použit v křížení jako matka). Z grafu je také patrné, že na obsah dusíkatých látek neměla vliv barva pluchy.

Obsah dusíkatých látek v zrně byl hodnocen na obou lokalitách také u rodičů. Z *Tab. 12* je zřejmé, že u Jersey bylo dosaženo průměrných hodnot na lokalitě Žabčice 17,82 % a na lokalitě Brno 14,63 %. U Tadmoru bylo dosaženo průměrných hodnot na lokalitě Žabčice 17,47 % a na lokalitě Brno 16,29 %.



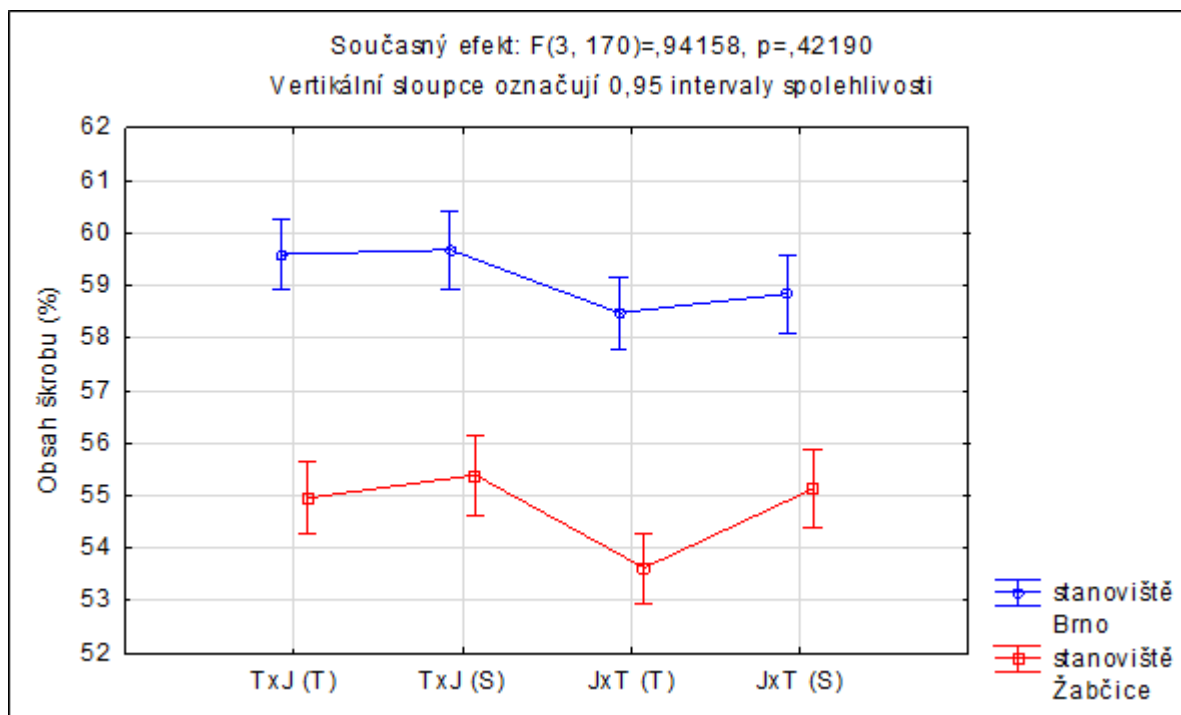
Obr. 13 Porovnání obsahu dusíkatých látek u linií ječmene generace F5 pěstovaných na lokalitách Brno a Žabčice z hlediska kombinace a barvy

Tab. 12 Obsah dusíkatých látek (%) u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey

	Brno	Žabčice
Jersey	14,63	17,82
Tadmor	16,29	17,47

Obsah škrobu u linií pěstovaných na lokalitě Brno byl statisticky průkazně vyšší než u linií pěstovaných na lokalitě Žabčice (Obr. 14). Na lokalitách Brno a Žabčice však nebyly pozorovány průkazné rozdíly tohoto parametru (obsah škrobu) v závislosti na původu linií a ani v závislosti na barvě pluchy. Pouze v případě průměrných hodnot dosahovaných u linií kombinace TxJ se světlou barvou pluchy a JxT s tmavou barvou pluchy byly pozorovány průkazné rozdíly na lokalitě Žabčice. Průměrné hodnoty tohoto parametru TxJ (S) dosahovaly 55,4 % a průměrné hodnoty kombinace JxT (T) byly nižší, dosahovaly pouze 53,8 %. Průměrné hodnoty se pohybovaly na lokalitě Žabčice od 53,8 % do 55,2 % a na lokalitě Brno od 58,3 % do 59,8 %.

Obsah škrobu v znu byl hodnocen na obou lokalitách také u rodičů. Z Tab. 13 je zřejmé, že u Jersey bylo dosaženo průměrných hodnot na lokalitě Žabčice 57,44 % a na lokalitě Brno 60,39 %. U Tadmoru bylo dosaženo průměrných hodnot na lokalitě Žabčice 53,25 % a na lokalitě Brno 55,38 %.



Obr. 14 Porovnání obsahu škrobu u linií ječmene generace F5 pěstovaných na lokalitách Brno a Žabčice z hlediska kombinace a barvy

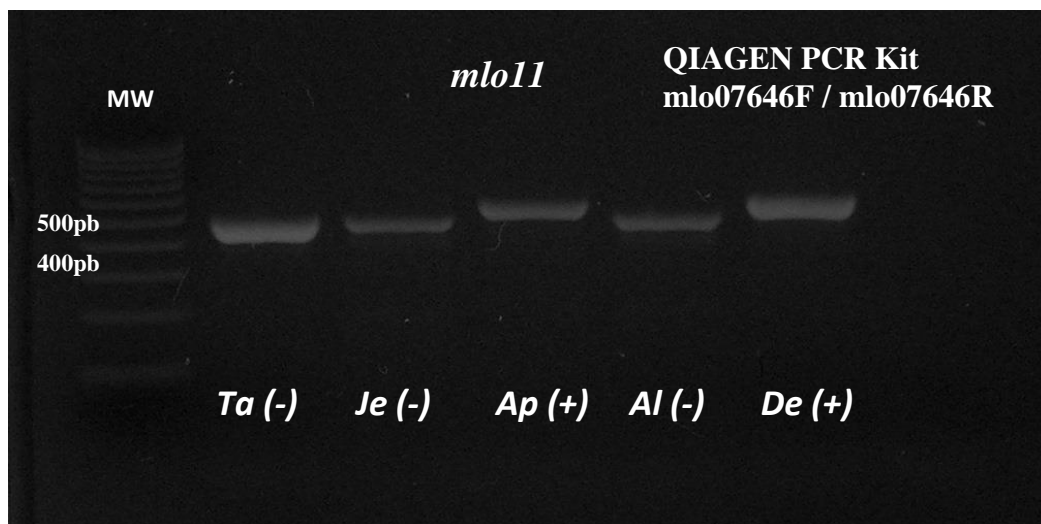
Tab. 13 Obsah škrobu (%) u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey

	Brno	Žabčice
Jersey	60,39	57,44
Tadmor	55,38	53,25

5.2 Hodnocení experimentálních linií ječmene z hlediska přítomnosti genu rezistence vůči padlí (*mlo*)

5.2.1 Detekce alely *mlo11*

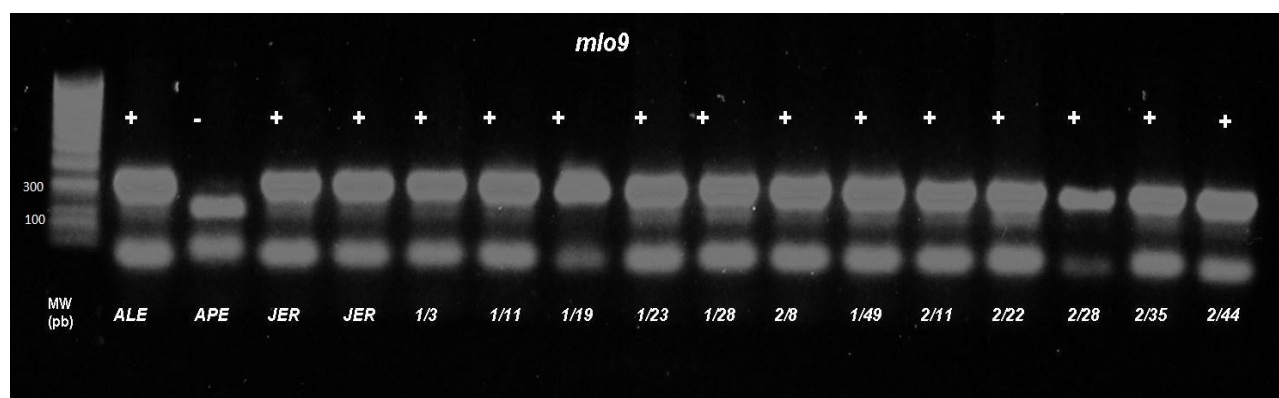
Přítomnost alely *mlo11* v odrůdě Tadmor, Jersey, jeho rodičů Apex a Alexis a odrůdy Derkado nesoucí alelu *mlo11* byla hodnocena za pomoci specifických primerů (Piffanelli et al., 2004). Specifické PCR produkty byly vizualizovány na 1,5% gelu, viz Obr. 15. Specifický produkt typický pro *mlo11* (530 pb) byl nalezen pouze u odrůdy Apex a odrůdy Derkado.



Obr. 15 Detekce přítomnosti alely *mlo11* u odrůd Tadmor (*Ta*), Jersey (*Je*), Apex (*Ap*), Alexis (*Al*) a Derkado (*De*, nezávislá kontrola)
+ přítomnost alely *mlo11*; - nepřítomnost alely *mlo11*

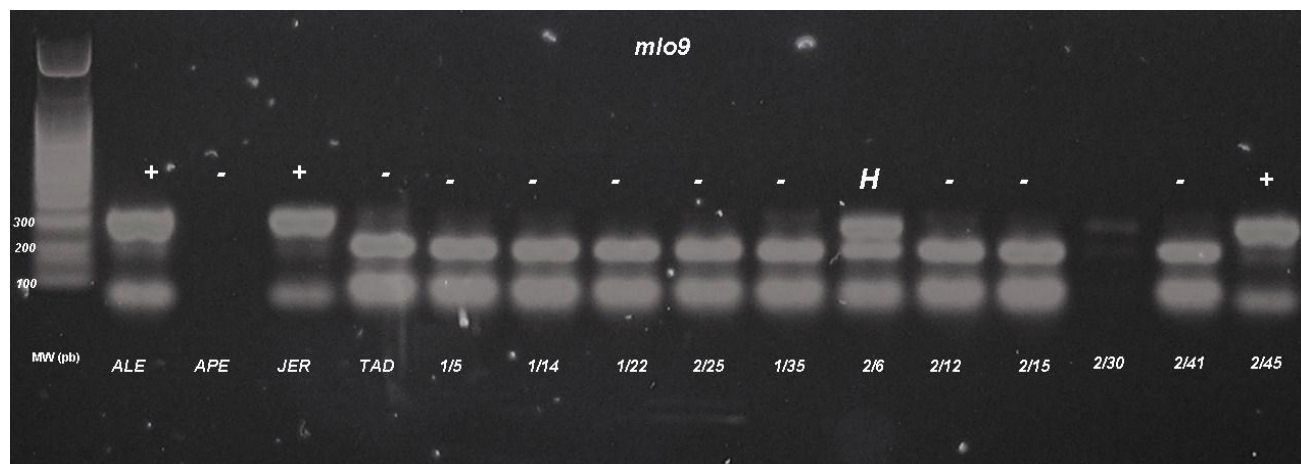
5.2.2 Detekce alely *mlo9*

Přítomnost alely *mlo9* byla hodnocena v odrůdách Tadmor, Jersey, rodičů odrůdy Jersey (Apex, Alexis) a liniích, které byly vybrány na základě hodnocení zdravotního stavu. Linie 1/3, 1/11, 1/19, 1/23, 1/28, 1/49, 2/8, 2/11, 2/22, 2/28, 2/35, 2/44 vykazovaly symptomy napadení, linie 1/5, 1/14, 1/22, 2/25, 1/35, 2/6, 2/12, 2/15, 2/30, 2/41, 2/45 nevykazovaly symptomy napadení. Alela *mlo9* byla identifikována pomocí specifických primerů (Kokina et al., 2008). Specifický PCR produkt po štěpení enzymem Hha1 byl vizualizován na 1,5% gelu, viz Obr. 16, 17.



Obr. 16 Detekce přítomnosti alely *mlo9* u odrůdy Jersey (*JER*) a jeho rodičů Apex (*APE*) a Alexis (*ALE*) a linií zdravých označených jako 1/3, 1/11, 1/19, 1/23, 1/28, 1/49, 2/8, 2/11, 2/22, 2/28, 2/35, 2/44
+ přítomnost alely *mlo9*; - nepřítomnost alely *mlo9*

Specifický produkt typický pro *mlo9* (272 pb + 49 pb) byl nalezen u odrůdy Jersey, Alexis. Alela *mlo9* byla nalezena i u všech linií 1/3, 1/11, 1/19, 1/23, 1/28, 1/49, 2/8, 2/11, 2/22, 2/28, 2/35, 2/44, které byly na základě posouzení úrovně napadení hodnoceny jako odolné.



Obr. 17 Detekce přítomnosti alely *mlo9* u odrůd Tadmor (TAD), Jersey (JER), jeho rodičů Apex (APE) a Alexis (ALE) a linií napadených označených jako 1/5, 1/14, 1/22, 2/25, 1/35, 2/6, 2/12, 2/15, 2/30, 2/41, 2/45
+ přítomnost alely *mlo9*; - nepřítomnost alely *mlo9*; H - heterozygot

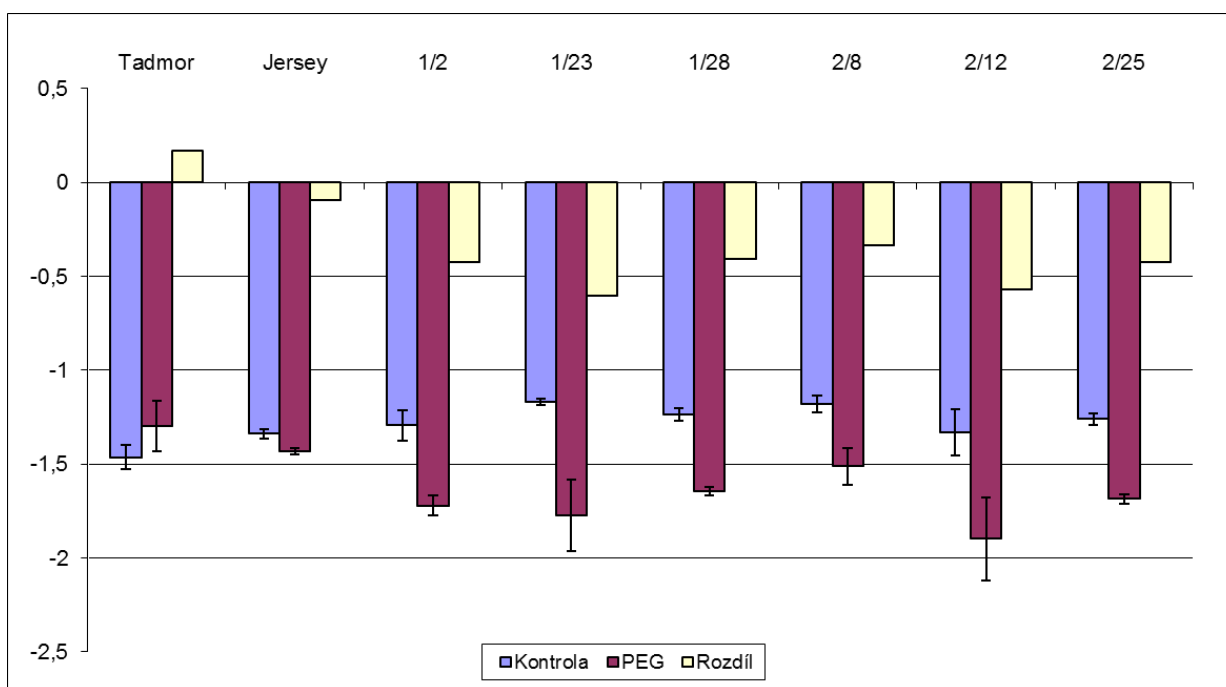
Specifický produkt typický pro *mlo9* (272 pb + 49 pb) byl nalezen pouze u odrůdy Jersey, Alexis a také linie 2/45, která na základě posouzení zdravotního stavu byla námi klasifikována jako náchylná. Tato linie však vykazovala odlišný stupeň napadení na lokalitě Brno a Žabčice, nelze proto vyloučit záměnu genotypu. Tato skutečnost bude dále prověřována. Odrůda Tadmor, Apex a linie označené jako 1/5, 1/14, 1/22, 2/25, 1/35, 2/12, 2/15, 2/30, 2/41 nemají přítomnu alelu *mlo9*. Pro tuto alelu (WT) je typická přítomnost tří produktů po štěpení enzymem Hha1. Na Obr. 17 produkty o velikosti 77 pb a 49 pb splývají do jednoho spodního produktu. Z výsledků je patrné, že linie 2/6 vykazovala známky heterozygota.

5.3 Hodnocení vlivu osmotického stresu na změny osmotického potenciálu listů a stanovení obsahu prolinu

U odrůd Tadmor a Jersey a vybraných linií generace F5 odvozených z křížení těchto odrůd byl hodnocen vliv osmotického stresu na změny osmotického potenciálu

listů a obsahu prolinu. Linie označené jako 1/2, 1/23, 1/28 vyšly z křížení TxJ a linie označené jako 2/8, 2/12, 2/25 vyšly z křížení JxT.

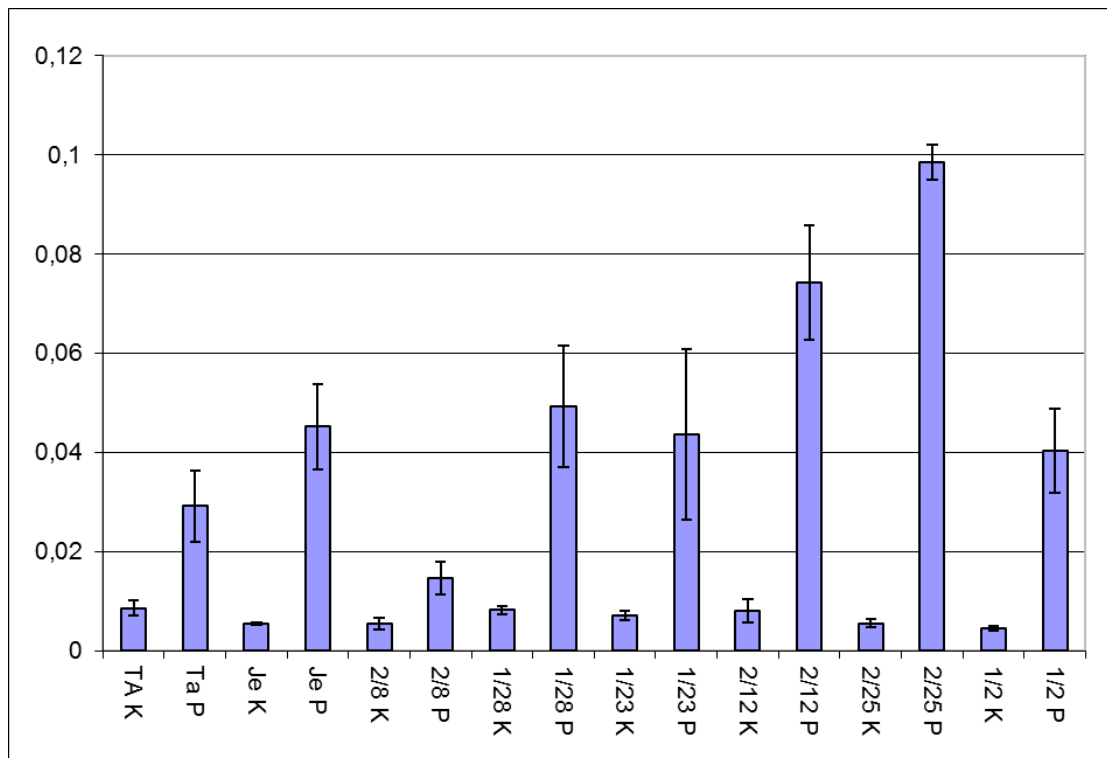
Na základě výsledků (Obr. 18) bylo zjištěno, že v optimálních podmínkách vykazovaly linie 1/2, 2/12 průměrné hodnoty osmotického potenciálu obdobné jako rodičovská odrůda Jersey. Linie 1/23, 1/28, 2/8 a 2/25 vykazovaly vyšší (zápornější) průměrné hodnoty osmotického potenciálu než odrůda Jersey. V podmínkách osmotického stresu vykazovaly všechny linie vyšší (zápornější) hodnoty osmotického potenciálu než odrůda Jersey. Hodnoty osmotického potenciálu u druhé rodičovské odrůdy Tadmor dosahovaly nižších hodnot v kontrolních podmínkách než v podmínkách osmotického stresu.



Obr. 18 Stanovení osmotického potenciálu listů odrůd Tadmor a Jersey a linií vybraných z potomstva těchto odrůd, pěstovaných v podmínkách osmotického stresu (-0,3 MPa); sloupce v grafu vyjadřují průměrné hodnoty sledovaného znaku ± SD

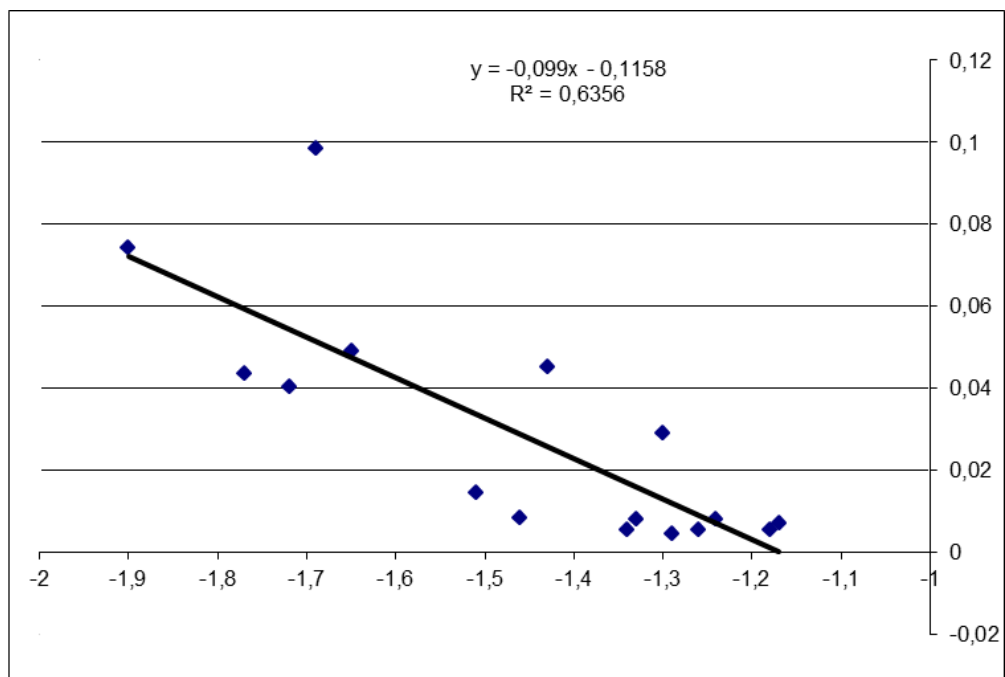
Z výsledků zobrazených v grafu na Obr. 19 je zřejmé, že testované linie, s výjimkou linie 2/8, vykazovaly v podmínkách fyziologického sucha vyšší obsah prolinu v listech oproti rodičovské odrůdě Tadmor. Odrůda Jersey se vyznačovala vyšším obsahem prolinu než odrůda Tadmor. Linie 1/28, 2/12 a 2/25 vykazovaly vyšší obsah prolinu než rodičovská odrůda Jersey. Nevyšší obsah prolinu vykazovaly linie 2/25 a 2/12, které se vyznačují i vyšším osmotickým potenciálem (viz Obr. 18). Linie 2/8 měla velmi nízký

obsah prolinu ve srovnání s rodičovskými odrůdami Tadmor a Jersey a vykazovala i nižší osmotický potenciál.

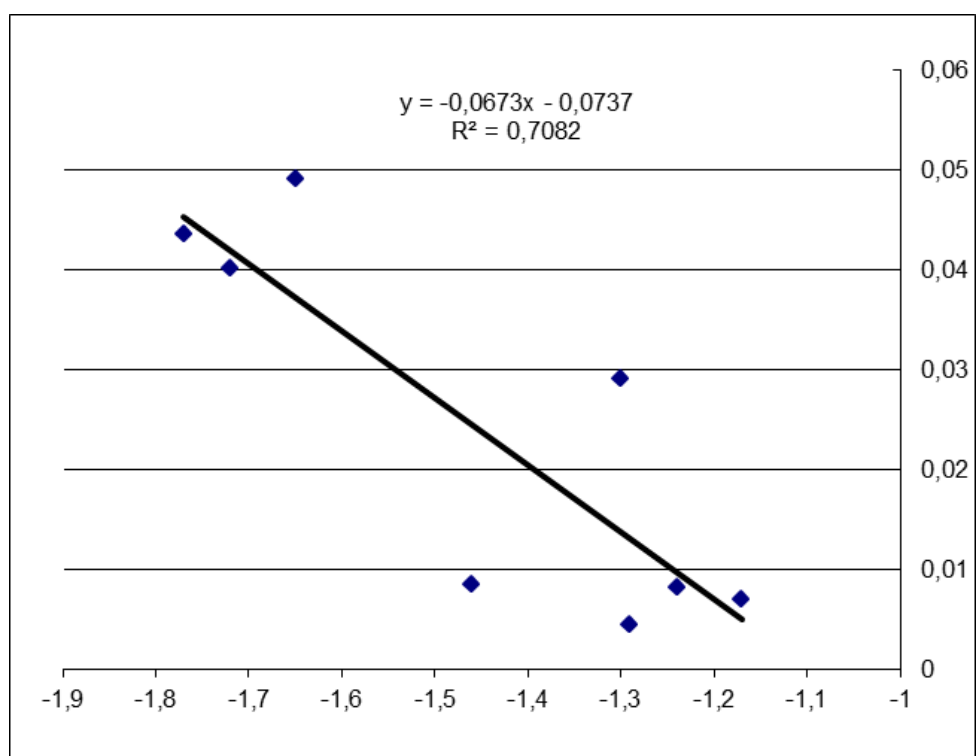


Obr. 19 Stanovení obsahu prolinu u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey a linií vybraných z potomstva těchto odrůd, pěstovaných v kontrolních podmínkách (K) a podmínkách osmotického stresu (P) (-0,3 MPa)

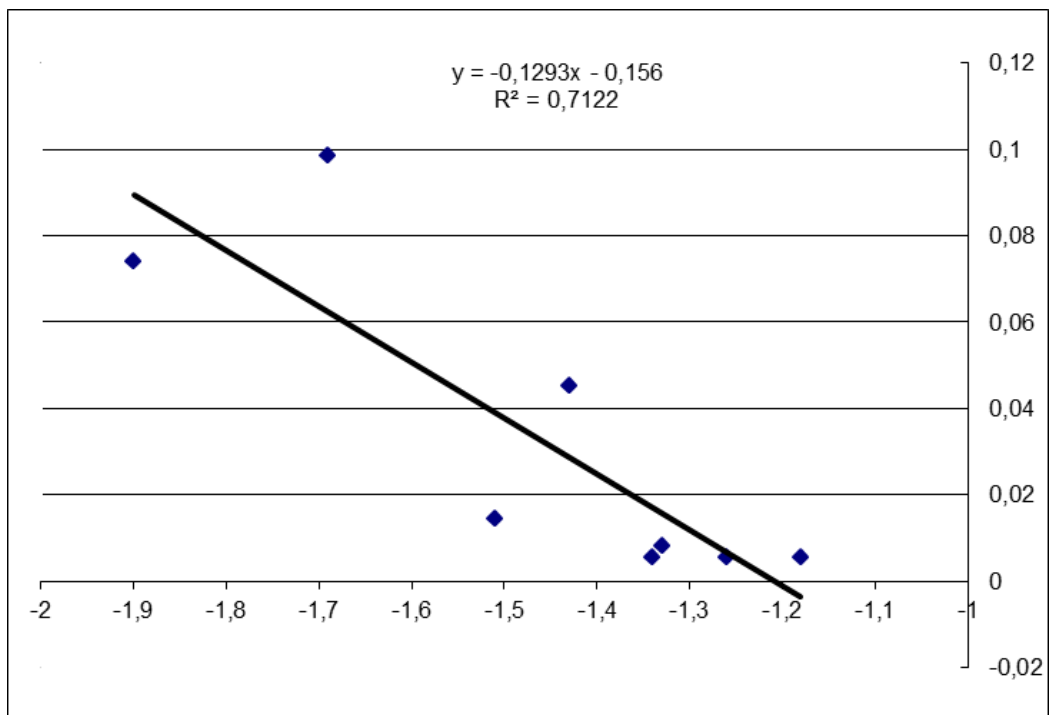
Korelace mezi obsahem prolinu a hodnotami osmotického potenciálu jsou uvedeny v grafech na *Obr. 20, 21, 22*. Korelační koeficient mezi hodnotami osmotického potenciálu a prolinu u linií byl 0,797 ($\alpha = 0,01$). Korelační koeficient mezi hodnotami osmotického potenciálu a prolinu u linií, u kterých byla odrůda Tadmor použita v křížení jako matka, byl 0,841 ($\alpha = 0,01$). Korelační koeficient mezi hodnotami osmotického potenciálu a prolinu u linií, u kterých byla odrůda Jersey použita v křížení jako matka, byl 0,843 ($\alpha = 0,01$).



Obr. 20 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu (n=16)



Obr. 21 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu u odrůdy Tadmor a linií, kde byla odrůda Tadmor v křížení použita jako matka (n=8)



Obr. 22 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu u odrůdy Jersey a linií, kde byla odrůda Jersey v křížení použita jako matka (n=8)

6 DISKUZE

Využití „exotických“ genotypů ječmene jako donorů odolnosti k suchu je v našich podmínkách omezeno tím, že tyto genotypy bývají nositeli znaků, které zhoršují kvalitu a snižují výnosový potenciál. Souvisí to s jejich adaptací na extrémně odlišné životní podmínky. V rámci této práce byly testovány linie odvozené z křížení ječmene se sladovnickou kvalitou s takovouto „exotickou“ odrůdou, jakou je odrůda Tadmor, pocházející ze Sýrie. Získané potomstvo (linie F5 generace) bylo hodnoceno z hlediska výnosového potenciálu, zdravotního stavu a kvality zrna na dvou lokalitách s odlišnými vláhovými podmínkami.

Porovnání výnosotvorných parametrů získaných z lokality Brno a lokality Žabčice ukázalo jednoznačně, že na sušší lokalitě Žabčice došlo ke zhoršení všech sledovaných výnosotvorných parametrů. Nejzřetelnější (statisticky průkazné) rozdíly byly patrné u HTS a podílu zrna nad sítím 2,0 mm. U parametru výnos zrna na rostlinu byly rozdíly mezi oběma lokalitami neprůkazné. Vliv sucha na zhoršení těchto parametrů se obecně předpokládá (Kunzová et al., 2009). Pouze u hodnot HTS nemusí být vliv sucha jednoznačný. Za určitých podmínek mají některé genotypy schopnost kompenzovat ztráty výnosu způsobené suchem zvýšením HTS. Například když dojde k zaschnutí odnoží nebo vlivem sucha během tvorby zrna v klasu (Janick et al., 2013). Hodnoty výnosu zrna na rostlinu pro jednotlivé lokality byly v našem případě částečně zkresleny skutečností, že na lokalitě Žabčice byly více poškozeny padlím v důsledku silnějšího infekčního tlaku. U parametru HTS byl nejvíc patrný vliv genotypu. Na obou lokalitách dosahovaly vyšší hodnoty HTS linie, u kterých byla odrůda Tadmor použita jako mateřská odrůda. V Brně byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi průměrnými hodnotami HTS linií TxJ (T) a JxT (T i S). V Žabčicích byly zjištěny průkazné rozdíly v průměrných hodnotách HTS mezi liniemi TxJ (T) a JxT (T). Pokud rozdíly v tomto parametru souvisí převážně s poškozením vlivem sucha, je možno říct, že linie, u kterých odolnější odrůda Tadmor byla použita jako matka, byly méně poškozeny než linie, kde jako matka byla použita odrůda Jersey – odrůda více citlivá na sucho. To souhlasí s charakteristikou odrůdy Tadmor popsané v práci Teulat et al., 2001, kteří využívali Tadmor v křížení s odrůdou ER/Apm (Teulat et al., 1997). Také odrůda

Tadmor dosahovala na obou lokalitách vyšší hodnoty HTS než odrůda Jersey. Z hlediska parametru HTS nedošlo u testovaných linií ke zhoršení oproti odrůdě Jersey.

U sladovnických ječmenů je významný parametr podíl předního zrna. Co se týká Tadmoru a jeho potomstva, nebylo možno velikost předního zrna hodnotit přepadem nad sítím 2,5 mm, vzhledem k odlišnému tvaru semen odrůdy Tadmor (obilky jsou úzké a protáhlé). Nicméně hodnocení přepadu nad 2,0 mm umožnilo odlišit snížení tohoto parametru na suché lokalitě Žabčice a odlišit vliv genotypu i kombinace genotypu s lokalitou. Na suché lokalitě Žabčice byly výrazné rozdíly (statisticky průkazné) mezi liniemi, kde jako matka byla odrůda Tadmor a liniemi, kde byla jako matka odrůda Jersey. U odrůd s mateřským genotypem Tadmor nedošlo k výraznému poklesu podílu zrna nad sítím 2,0 mm, zatímco u linií s mateřským genotypem Jersey byl výrazný pokles tohoto podílu oproti lokalitě Brno. Z hlediska výnosových parametrů se jako lepší jevíly linie, které měly odolnější odrůdu Tadmor jako matku. Vliv matroklinní dědičnosti, který je těmito výsledky naznačen, není nijak překvapující. Odolnost vůči abiotickému stresu je komplexní znak (např. Blum et al., 2011), na kterém se kromě jaderného genomu mohou podílet také geny nesené mitochondriemi a chloroplasty (Winfield et al., 2010).

Pro sladovnické účely je u ječmene důležitý nižší obsah dusíkatých látek a vysoký obsah škrobu (Goodall et al., 2013). Obsah obou látek je ovlivněn jednak genotypem, ale velký vliv má také prostředí – výživa, abiotický stres i biotický stres (Hrubý et al., 2009; Psota et al., 2008). V našich pokusech nebyl hodnocen vliv výživy, ale pouze vliv lokality, které se lišily intenzitou abiotického stresu (odlišná půdní vlhkost). Zrno sklizené na sušší lokalitě (Žabčice) vykazovalo obecně vyšší obsah dusíkatých látek než zrno sklizené na vlhčí lokalitě v Brně. Je tedy zřejmé, že větší sucho způsobilo zvýšení obsahu proteinů a současně snížení obsahu škrobu v zrně, což je v souladu s výsledky např. Klem et al. (2010) a Robredo et al. (2011). Intenzita stresu na suché lokalitě byla na takové úrovni, která převážila vliv genotypu. I tento jev bývá pozorován v experimentech hodnocení úrovně tolerance k suchu (Akhter et al., 2008). Průkazný vliv genotypu na obsah dusíkatých látek byl pozorován pouze na lokalitě v Brně. Nižší obsah dusíkatých látek byl pozorován u linií, které ve svém genotypu mají Tadmor jako matku. I když je Tadmor odrůda s vyšším obsahem dusíkatých látek než odrůda Jersey, je odolnější vůči suchu. Můžeme proto předpokládat, že rozdíly v obsahu dusíkatých látek na lokalitě Brno byly způsobeny vyšší odolností vůči suchu u linií, u kterých je

Tadmor jako matka. Všechny pěstované linie na obou lokalitách se však vyznačovaly relativně vysokým (vyšším než 11%) obsahem dusíku, a proto by tyto genotypy nebyly vhodné pro sladovnické účely. Mohly by však být využity pro šlechtění odrůd vhodných pro výživu zvířat, případně lidskou výživu (Vaculová et al., 2011).

Hodnoty výnosotvorných parametrů souvisí také se zdravotním stavem rostlin. Proto bylo u linií na obou lokalitách hodnoceno napadení rostlin padlím travním, které se řadí k nezávažnějším patogenům, a současně bylo v našich porostech jediným patogenem, u kterého se projevíly zřetelné symptomy napadení. Donorem rezistence vůči tomuto patogenu byla v našem křížení odrůda Jersey, u které je uváděna přítomnost blíže nespecifikovaného genu *mlo*. V polních podmínkách byly pozorovány viditelné rozdíly mezi jednotlivými liniemi z hlediska intenzity napadení padlím. Vyskytovaly se linie bez symptomů napadení (stupeň 9) i linie silně napadené (stupeň 1). Vzhledem k tomu, že *mlo* je lokalizováno na jaderném genomu (chromozom 4H) (Shtaya et al., 2006), lze předpokládat, že u tohoto znaku nebude hrát roli matroklinní dědičnost. Naše předběžné výsledky tomu odpovídají.

Vzhledem k nejednoznačným výsledkům hodnocení symptomů padlí u rodičů a testovaných linií byla provedena molekulární analýza přítomnosti genu *mlo11* a *mlo9* u rodičů (Tadmor a Jersey) a linií, které byly vybrány na základě hodnocení zdravotního stavu a které byly klasifikovány jako zdravé a napadené. Současně byla přítomnost genu *mlo11* a *mlo9* hodnocena u rodičů odrůdy Jersey (Apex – *mlo11*, Alexis – *mlo9*) a nezávislé kontrolní odrůdy Derkado (nositel *mlo11*). Přičemž u odrůdy Jersey podle dostupných poznatků není blíže specifikována alela genu *mlo*. Z rodokmene lze předpokládat, že by se mělo jednat o *mlo11* nebo o *mlo9* (www.crpmb.org). Naše výsledky ukázaly, že odrůdy Tadmor i Jersey stejně jako rodičovská odrůda Alexis nemají přítomnu alelu *mlo11*. Zatímco u odrůdy Apex a odrůdy Derkado se přítomnost alely *mlo11* potvrdila.

Současně byla u odrůd Tadmor, Jersey, rodičů odrůdy Jersey (Apex, Alexis) a linií, klasifikovaných jako zdravé a napadené, detekována přítomnost alely *mlo9*. Naše výsledky potvrdily přítomnost alely *mlo9* u odrůdy Jersey, Alexis a i u všech linií, které byly klasifikovány jako zdravé. U linií, které byly klasifikovány jako napadené, se přítomnost alely *mlo9* nepotvrdila. Jedinou výjimku tvořila linie 2/45, která i přes napadení padlím má přítomnu alelu *mlo9*. Tato linie však vykazovala odlišný stupeň napadení na lokalitě Brno a Žabčice. Nelze proto vyloučit záměnu genotypu. Tato

skutečnost bude dále prověřována. Linie 2/6 je heterozygotní pro danou alelu. Cizosprášení v tomto případě nelze vyloučit, jelikož linie nebyly pěstovány v izolaci. U některých linií byla pozorována vyšší rezistence vůči padlí ve srovnání s jinými liniemi, tato vyšší rezistence by mohla být spojena s přítomností i jiných genů rezistence původem z Tadmoru nebo i Jersey (*m1a12*) (www.crpmb.org), případně rekombinací genů obou rodičů. Dreiseitl et al. (2011) zjistili, že odrůda Tadmor nese určité geny rezistence vůči padlí travnímu, tyto geny jsou ale účinné jen proti specifickým rasám padlí, které se v České republice nevyskytují a vyskytují se pouze v místě původu této odrůdy.

Odrůda Tadmor, která byla v našem křížení za donor tolerance k suchu, se vyznačuje vysokým osmotickým potenciálem kořenů (Teulat et al., 1997), proto byla u vybraných linií hodnocena reakce na fyziologický stres v nádobovém pokusu vedeném v řízených podmínkách. Bohužel se nepodařilo prokázat vysoké hodnoty osmotického potenciálu u odrůdy Tadmor, protože se za daných experimentálních podmínek choval nestandardně (stres v kontrolních podmínkách) (Holková et al., 2010). Linie, které měly odrůdu Tadmor jako matku, vykazovaly ve stresových podmínkách větší hodnoty osmotického potenciálu (zápornější) než odrůda Jersey. Mezi liniemi, které měly odrůdu Jersey jako matku, jedna vykazovala úroveň osmotického potenciálu podobnou jako Jersey a dvě měly hodnotu osmotického potenciálu výrazně vyšší (zápornější) než odrůda Jersey. Protože byl osmotický potenciál hodnocen na rostlinách, které nevykazovaly známky vadnutí, je možno předpokládat, že hodnoty osmotického potenciálu nebyly ovlivněny ztrátou vody z buněk a vyjadřují tedy aktivní mechanismus vodního režimu. Tento výsledek odpovídá hodnocení obsahu prolinu v listech stresovaných rostlin. Vysoké korelace mezi hodnotami osmotického potenciálu a obsahu prolinu naznačují aktivní mechanismus zapojený v ochraně rostlinné buňky před ztrátou vody. Je známo, že k vyšší akumulaci prolinu dochází zejména za stresových podmínek způsobených suchem, zasolením, UV zářením a biotickými činiteli (Szabados et al., 2009). Bandurska et al., (2000) zjistili, že rostliny vystavené stresu suchem mají vyšší schopnost akumulovat prolin, který pozitivně koreluje s nižším poškozením rostlinných membrán v důsledku sucha. Prolin je považován za jeden z nejdůležitějších osmoprotektantů (Grzesiak et al., 2013). Zjištěné výsledky osmotického potenciálu a obsahu prolinu však úplně neodpovídají fenotypu pozorovanému v polních podmínkách. Zejména rostliny linie 2/12 vykazovaly v polních podmínkách nízké

výnosové parametry na obou lokalitách, které však byly způsobeny pravděpodobně náchylností k padlí. V roce 2014 vykazovaly rostliny této linie značné poškození (stupeň 1). Hodnocení fenotypu v polních podmínkách ovlivňuje více faktorů ať už abiotického nebo biotického původu. Výsledky laboratorních hodnocení mohou být zdrojem užitečných informací pro šlechtitele, které doplní poznatky z polních podmínek.

7 ZÁVĚR

U vybraných linií ječmene jarního, které byly odvozené z křížení sladovnické odrůdy Jersey se syrskou odrůdou Tadmor, byla hodnocena řada parametrů, které mohou vypovídat o reakcích na stresové podmínky, ať už abiotického nebo biotického původu.

U linií generace F5 pěstovaných na lokalitách Brno a Žabčice byly hodnoceny kvalitativní a kvantitativní parametry. Na zhoršení výnosotvorných parametrů měla vliv sušší lokalita Žabčice oproti lokalitě Brno. Nejzřetelnější snížení výnosotvorných parametrů bylo pozorováno u HTS a podílu zrna nad sítím 2,0 mm. Výrazný vliv genotypu byl zjištěn u hodnot HTS, kde linie, u kterých byla odrůda Tadmor použita jako mateřská rostlina, vykazovaly vyšší hodnoty HTS, než linie, u kterých byla jako mateřská rostlina použita odrůda Jersey. Obdobné výsledky byly zjištěny i u podílu zrna nad sítím 2,0 mm. U odrůd s mateřským genotypem Tadmor nedošlo k výraznému poklesu podílu zrna nad sítím 2,0 mm, zatímco u linií s mateřským genotypem Jersey byl pokles tohoto podílu výrazný. Z hlediska výnosových parametrů se jako lepší jeví linie, které měly odolnější odrůdu Tadmor jako matku.

Z kvalitativních parametrů byl u sklizeného zrna hodnocen obsah dusíkatých látek a obsah škrobu. Bylo zjištěno, že zrno sklizené na sušší lokalitě Žabčice vykazovalo vyšší obsah dusíkatých látek než zrno sklizené na lokalitě v Brně. Vliv genotypu byl potvrzen jen u obsahu dusíkatých látek. Bylo zjištěno, že linie, u kterých byl Tadmor použit v křížení jako matka, vykazovaly nižší obsah dusíkatých látek. Vzhledem k vysokému obsahu dusíkatých látek (nad 11 %) nejsou tyto linie vhodné pro šlechtění sladovnických odrůd, ale mohly by být využity pro šlechtění odrůd vhodných pro výživu zvířat, případně lidskou výživu.

U linií na obou lokalitách bylo hodnoceno napadení rostlin padlím travním. Mezi jednotlivými liniemi byly pozorovány viditelné rozdíly ve stupni napadení padlím travním. Vyskytovaly se linie bez symptomů napadení (stupeň 9) i linie silně napadené (stupeň 1).

Nositelům genu rezistence byla v našem křížení odrůda Jersey, u které je uváděna přítomnost blíže nespecifikovaného genu *mlo*. Molekulárními analýzami byla potvrzena přítomnost alely *mlo9*. U Tadmoru nebyla prokázána přítomnost ani *mlo11* ani *mlo9*.

Přítomnost alely *mlo9* byla identifikována u všech testovaných linií, které byly klasifikovány jako zdravé.

U linií pěstovaných v nádobovém pokusu byla hodnocena reakce na fyziologický stres (-0,3 MPa). Bylo zjištěno, že linie, které měly odrůdu Tadmor jako matku, vykazovaly ve stresových podmínkách větší hodnoty osmotického potenciálu (zápornější) než odrůda Jersey. Linie, u kterých byla odrůda Jersey použita v křížení jako matka, vykazovaly úroveň osmotického potenciálu podobnou jako Jersey, vyjma dvou linií, které měly hodnotu osmotického potenciálu výrazně vyšší (zápornější) než odrůda Jersey. Byl zjištěn silný korelační vztah mezi hodnotami osmotického potenciálu a obsahem prolinu. Tyto výsledky poukazují na aktivní mechanismus zapojený v ochraně rostlinné buňky před ztrátami vody.

Na základě vysokých hodnot kvalitativních a kvantitativních parametrů, dále dobré reakce rostlin na fyziologické sucho a detekce přítomnosti genu rezistence bych pro další šlechtitelské využití doporučila linie 1/23 a 1/28, které ve sledovaných parametrech vykazovaly vyšší odolnost k suchu na úrovni výnosu i kvality zrna a současně přítomnost *mlo9*, která indikuje rezistenci vůči padlí travnímu.

8 SEZNAM LITERATURY

- Acevedo-Garcia J., Collins N.C., Ahmadinejad N., Houben A., Bednarek P., Benjdia M., Freialdenhoven A., Altmüller J., Nürnberg P., Reinhardt R., Schulze-Lefert P., Panstruga R., (2013): Fine mapping and chromosome walking towards the Ror1 locus in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet.* 126(12): 2969-82.
- Adams Ch., Early M., Brook J., Bamford K., (2014): *Principles of Horticulture: Basic.* Routledge, ISBN 9781317937777, 296.
- Akinci S., Lösel D.M., (2012): Plant Water-Stress Response Mechanisms. In: Rahman I.M.M., Hasegawa H. (ed.): *Water Stress.* InTech . ISBN 978-953-307-963-9, 312.
- Akhter J., Sabir S.A., Lateef Z., Ashraf M.Y., Haq M.A., (2008): Relationships between carbon isotope discrimination and grain yield, water-use efficiency and growth parameters in wheat (*Triticum aestivum* L.) under different water regimes. *Pak. J. Bot.* 40(4): 1441-1454.
- Alzohairy A.M., Yousef M.A., Edris S., Kerti B., Gyulai G., Bahieldin A., (2012): Detection of LTR Retrotransposons Reactivation induced by in vitro Environmental Stresses in Barley (*Hordeum vulgare*) via RT-qPCR. *Life Science Journal* 9(4): 5019-5026.
- An Q., Ehlers K., Kogel K., van Bel A.J.E., Hüchelhoven R., (2006): Multivesicular compartments proliferate in susceptible and resistant MLA12-barley leaves in response to infection by the biotrophic powdery mildew fungus. *New Phytologist* 172: 563–576.
- Anjum S.A., Xie X., Wang L., Saleem M.F., Man Ch., Lei W., (2011): Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* 6(9): 2026-2032.
- Araya Y.N., (2007): Ecology of water relations in plants. In: Not Set (ed.): *Encyclopaedia of life science.* Wiley, 17.
- Ayele M., A. Blum A., Nguyen H.T., (2001): Diversity for osmotic adjustment and root depth in TEF [*Eragrostis tef* (Zucc) Trotter]. *Euphytica* 121(3): 237-249.
- Backes G., Madsen L.H., Jaiser H., Stougaard J., Herz M., Mohler V., Jahoor A., (2003): Localisation of genes for resistance against *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* and *Puccinia graminis* in a cross between a barley cultivar and a wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) line. *Theoretical and Applied Genetics* 106(2): 353–362
- Bandurska H., (2000): Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation and membrane injury index in drought and osmotically stressed plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 22(4): 409-415.
- Barányiováv I., (2011): Účínok vodného a teplotného stresu na produkčné vlastnosti obilnín. *Bakalárska práca, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra*, 63.

- Bartels D., Dalamáni F., (2001): Desiccation Tolerance in the Resurrection Plant *Craterostigma plantagineum*. A Contribution to the Study of Drought Tolerance at the Molecular Level. *Plant Physiology* 127(4): 1346-1353.
- Basařová G., Psota V., Šavel J., Basař P., Paulů R., Kosař K., Dostálek P., Basařová P., Kellner V., Mikulíková R., Čejka P., (2015): Sladařství, teorie a praxe výroby sladu. Havlíček Brain Team, 1. vyd., ISBN 978-80-87109-47-2, 626.
- Bélanger R.R., Bushnell W.R., Dik A.J., Carver T.L.W., (2002): The Powdery Mildew. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 292.
- Bindschedler L.V., Burgis T.A., Mills D.J.S., Ho J.T.C., Cramer R., Spanu P.D., (2009): In Planta Proteomics and Proteogenomics of the Biotrophic Barley Fungal Pathogen *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Molecular & Cellular Proteomics* 8: 2368-2381.
- Bittner V., (2008): Škodlivé organizmy ječmene, Abiotická poškození, choroby, škůdci. Kurent s.r.o., České Budějovice, ISBN 978-80-87111-08-6, 54.
- Blum A., (2011): Drought resistance – is it really a complex trait?. *Functional Plant Biology* 38: 753–757.
- Bradáčová M., Bezděková K., Smutná P., (2014): Použití FT-NIR spektroskopie pro stanovení mykotoxinů v zrna ječmene. *Kvasný průmysl* 60(10): 254-257.
- Bray E.A., (2007): Plant Response to Water-deficit Stress. John Wiley & Sons, ISBN 9780470015902.
- Brodribb T.J., McAdam S.A.M., (2013): Abscisic Acid Mediates a Divergence in the Drought Response of Two Conifers. *Plant Physiology* 162: 1370-1377.
- Büsches R., Hollricher K., Panstruga R., Simons G., Wolter M., Frijters A., van Daelen R., van der Lee T., Diergaarde P., Groenendijk J., Töpsch S., Vos P., Salamini F., Schulze-Lefert P., (1997): The Barley Mlo Gene: A Novel Control Element of Plant Pathogen Resistance. *Cell* 88(5): 695–705.
- Cao S.H., Wan P., Zhang X.Q., (2004): Isolation and Characterization of Mla-like Genes of Wheat. *Acta Botanica Sinica* 46(6): 744-750.
- Ciarmiello L.F., Woodrow P., Fuggi A., Pontecorvo G., Carillo P., (2011): Plant Genes for Abiotic Stress, s 283-308. In: Shanker A.K., Venkateswarlu B. (ed.): *Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations*. InTech, ISBN 978-953-307-394-1, 428.
- Czembor J.H., Czembor H.J., (2002): Selections from barley landrace collected in Libya as new sources of effective resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*). *Plant Soil Environ.* 48: 217-223.
- Čavojská V., (2007): Akvaporiny a jejich význam pro fungování rostlin. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno, 53.
- Český normalizační institut, (2006): Obiloviny potravinářské – Část 5: Ječmen sladovnický. ČSN 46 1100-5, Praha
- Černý L., Vašák J., Křováček J., Hájek M., (2007): Jarní sladovnický ječmen, Pěstitelský rádce. Kurent, s.r.o., Praha, ISBN 978-80-87111-04-8, 44.
- Čižmár D., (2010): Vývoj kalibrační rovnice na N-látky a škrob ve sladovnickém ječmeni metodou FT-NIRS. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 47.

- Dangl J.L., Jones J.D.G., (2001): Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* 411: 826-833.
- Deising H.B., (2009): *Plant Relationships - The Mycota*. Springer Science & Business Media, 2.vyd., ISBN 3540874070, 398.
- Dong W., Nowara D., Schweizer P., (2006): Protein Polyubiquitination Plays a Role in Basal Host Resistance of Barley. *The Plant Cell* 18(11): 3321-3331.
- Dreiseitl A., (2000): Direct selection in the *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* population in the Czech Republic. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 35: 317 – 322.
- Dreiseitl A., Jurečka D., (2003): Severity of Powdery Mildew on Spring Barley in the Czech Republic in 1971 - 2000. *Plant Protect. Sci.* 39: 39-51.
- Dreiseitl A., Wang J., (2007): Virulence and diversity of *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* in East China. *European Journal of Plant Pathology* 117(4): 357-368.
- Dreiseitl A., (2010): *Odolnost odrůd a její využití k snížení škodlivosti padlí ječmene*. Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž, ISBN 978-80-904594-5-8, 23.
- Ellis J., (2006): Insights into Nonhost Disease Resistance: Can They Assist Disease Control in Agriculture. *The Plant Cell* 18(3): 523-528.
- Farooq M., Wahid A., Kobayashi N., Fujita D., Basra S.M.A., (2009): Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management. *Sustainable Agriculture*: 153-188.
- Finkelstein R., (2013): *Abscisic Acid Synthesis and Response*. *The Arabidopsis Book*, American Society of Plant Biologists. 11.
- Fojtů M., (2013): *Důsledky změn složení xylémové šťávy na rychlost transpirace rostlin*. Diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno, 85.
- Forster B.P., (2000): Coordinator's report: Chromosome 4H. *Barley geneticss newsletter* 30: 74.
- Fraire-Velázquez S., Rodríguez-Guerra R., Sánchez-Calderón L., (2011): Abiotic and Biotic Stress Response Crosstalk in Plants, s. 3-26. In: Shanker A.K., Venkateswarlu B. (ed.): *Abiotic stress response in plants – physiological, biochemical and genetic perspectives*. InTech.
- Franckowiak J., (1997): Revised linkage maps for morphological markers in barley, *Hordeum vulgare*. *Barley genetic newsletter* 26: 9.
- Freialdenhoven A., Peterhansel Ch., Kurth J., Kreuzaler F., Paul Schulze-Lefert P., (1996): Identification of Genes Required for the Function of Non-Race-Specific mlo Resistance to Powdery Mildew in Barley. *The Plant Cell* 8: 5-14.
- Ghosh D., Xu J., (2014): Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective. *Plant Science*. 5: 6.
- Gloser J., (1995): *Fyziologie rostlin*. Masarykova univerzita, Brno, 1.vyd., ISBN 80-210-1062-2, 137.
- Goodall A.J., Kumar P., Tobin A.K., (2013): Identification and Expression Analyses of Cytosolic Glutamine Synthetase Genes in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Physiol.* 54(4): 492–505.

- Graham J., Kelly C., Bryson R., Clark B., Tonguc L., (2008): The encyclopaedia of cereal diseases. BASF and HGC, 96.
- Grzesiak M., Filek M., Barbasz A., Kreczmer B., Hartikainen H., (2013): Relationships between polyamines, ethylene, osmoprotectants and antioxidant enzymes activities in wheat seedlings after short-term PEG- and NaCl-induced stresses. *Plant Growth Regulation* 69(2): 177-189.
- Gupta P.K., Varshney R., (2013): *Cereal Genomics II*. Springer Science & Business Media, ISBN 9400764014, 446.
- Hajzler M., Středa T., Klimešová J., (2010): Evaluation of root system characteristics by measurement of electrical capacity and image analysis. *MendelNet*, 8.
- Halterman D.A., Zhou F., Wei F., Wise R.P., Schulze-Lefert P., (2001): The MLA6 coiled-coil, NBS-LRR protein confers AvrMla6-dependent resistance specificity to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in barley and wheat. *The Plant Journal* 25: 335-348.
- Halterman D.A., Wei F., Wise R.P., (2003): Powdery Mildew-Induced Mla mRNAs Are Alternatively Spliced and Contain Multiple Upstream Open Reading Frames. *Plant Physiol.* 131(2): 558–567.
- Häni F.J., Popow G., Reinhard H., Schwarz A., Tanner K., Vorlet M., (1993): *Obrazový atlas chorob a škůdců polních plodin: příručka ochrany rostlin v integrované produkci*. Scientia, Praha, 3. Vyd, ISBN 80-85827-12-3, 335 s.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S. S., Fujita, M., (2013): Drought Stress Responses in Plants, Oxidative Stress, and Antioxidant Defence. In: Tuteja N., Gill S.S. (ed.): *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*.
- Heffer, V., Powelson M.L., Johnson K.B., Shishkoff N., (2006): Identification of Powdery Mildew Fungi anno 2006. *The Plant Health Instructor* 10.
- Hnilička F., Hejtník V., Zámečnicková B., Zámečnick J., (2008): *Základy fyto techniky: část botanika a fyziologie rostlin*. Česká zemědělská univerzita, Praha, 1.vyd., ISBN 80-213-1402-8, 242.
- Holková L., Melišová L., Bradáčová M., Mikulková P., Ehrenbergerová J., (2010): Možnosti hodnocení tolerance odrůd ječmene k suchu. *Kvasný průmysl* 56(3): 118-122.
- Hrubý J., Vejražka K., Badalíková B., Procházková B., Janeček M., (2009): Obsah N-látek a výnos zrna sladovnického ječmene v monokulturních systémech pěstování. *Kvasný průmysl* 55(6): 143-149.
- Hrudová E., Pokorný R., Vichová J., (2012): *Integrovaná ochrana rostlin*. Mendelova univerzita, Brno, 1.vyd., ISBN 978-80-7157-980-9, 151.
- Hubík K., Mareček J., (2002): Kvalita ječmene. *Farmář* 8(5): 24-25.
- Hummel I., Pantin F., Sulpice R., Piques M., Rolland G., Dauzat M., Christophe A., Pervent M., Bouteillé M., Stitt M., Gibon Y., Miller B., (2010): Arabidopsis plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: An integrate perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. *Plant Physiology* 154(1): 357-372.

- Hunter D.A., Pinkney T.T., Watson L.M., Trivellini A., Janssen B.J., Brummell D.A., (2011): Effect of postharvest water deficit stress on gene expression in heads of broccoli (*Brassica oleracea* Var. *italica*). *Postharvest Biol. Technol.* 59: 113 - 123.
- Hussain S.S., Iqbal M.T., Arif M.A., Amjad M., (2011): Beyond osmolytes and transcription factors: drought tolerance in plants via protective proteins and aquaporins. *Biologia Plantarum* 55 (3): 401-413.
- Chaumont F, Moshelion M., Daniels M.J., (2005): Regulation of plant aquaporin activity. *Biology of the Cell* 97(10): 749–764.
- Chen Y., Wang Y., Zhang H., (2014): Genome-wide analysis of the mildew resistance locus o (MLO) gene family in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Plant Omics Journal* 7(2): 87-93.
- Chloupek O., Procházková B., Hrudová E., (2009): Pěstování a kvalita rostlin. Mendelova univerzita, Brno, 1. vyd., ISBN 978-80-7157-897-0, 172.
- Chytilová P., (2010): Přehled faktorů omezujících rychlost transportu vody v rostlinách. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno, 44.
- Imahori Y., (2014): Role of Ascorbate Peroxidase in Postharvest Treatments of Horticultural Crops, s. 425-461. In: Ahmad P. (ed.): *Oxidative Damage to Plants*. Elsevier Inc., 666.
- Jakob S.S., Rödder D., Engler J.O., Shaaf S., Özkan H., Blattner F.R., Kilian B., (2014): Evolutionary History of Wild Barley (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*) Analyzed Using Multilocus Sequence Data and Paleodistribution Modeling. *Genome Biol Evol.* 6(3): 685–702.
- Janick J., (2013): *Plant Breeding Reviews*. John Wiley & Sons, ISBN 1118497953, 392.
- Jørgensen J.H., (1992): Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63: 141-152.
- Jørgensen J.H., (1993): Coordinator's report: Disease and pest resistant genes, *Barley Genetics Newsletters* 22.
- Jørgensen J.H., (1994): Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13: 97-119.
- Kazda J., Jindra Z., Kabiček J., Prokinová E., Ryšánek P., Stejskal V., (2001): Choroby a škůdci polních plodin, ovoce a zeleniny. *Farmář – Zemědělec*, Praha, 2.vyd., ISBN 80-902413-3-6, 148.
- Keller B., Bieri S., Bossolini S., Yahiaoui N., (2007): Cloning genes and QTLs for disease resistance in cereals. In: Varshney R.K., Tuberosa R. (ed.): *Genomics-Assisted Crop Improvement: Vol 2: Genomics Applications in Crops*. Springer Science & Business Media, ISBN 1402062974, 529.
- Kenyon D. M., Dixon G. R., Helfer S., (2002): Effects of relative humidity, light intensity and photoperiod on the colony development of *Erysiphe* sp. on *Rhododendron*. *Plant Pathology* 51: 103 –108.
- Kettnerová K., (2012): Sucho, stres a odolnost rostlin. Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze, Praha, 40.
- Kincl M., Krpeš V., (2000): *Základy fyziologie rostlin*. Montanex, Ostrava, 2.vyd., ISBN

80-7225-041-8, 221.

- Kjellbom P., Larsson C., Johansson I., Karlsson M., Johanson U., (1999): Aquaporins and water homeostasis in plants. *Trends in plant science* 4(8): 308-314.
- Klem K., Klemová Z., Miša P., (2010): Faktory ovlivňující obsah dusíkatých látek v zrnu ječmene a možnosti ovlivnění. In: „Sladovnický ječmen - přiměřená ekonomika, vysoký výnos a kvalita zrna“, 24-28.
- Klumpler T., (2006): Studium polymorfismu využitelných k identifikaci nových genů rezistence ječmene k padlí travnímu. Diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno, 46.
- Kokina A., Legzdina L., Bērziņa I., Bleidere M., Rashal I., Rostoks N., (2008): Molecular marker-based characterization of barley powdery mildew Mlo resistance locus in European varieties and breeding lines. *Agronomijas Vēstis* 11: 77-83.
- Kokina A., Berzina I., Legzdina L., Bleidere M., Rostoks N., (2008): Genome – wide and Mla locus – specific characterization of Latvian barely varieties. In: Ceccarelli S., Grandi S. (ed.): *Proceedings of the 10th International Barley Genetics Symposium*. Alexandria, Egypt 5-10 Apr 2008. ICARDA, ISBN 9291272469, 717.
- Kranner I., Minibayeva F.V., Beckett R.P., Seal Ch.E., (2010): What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist* 188: 655–673.
- Krasensky J., Jonak C., (2012): Drought, salt, and temperature stress-induced metabolite rearrangements and regulatory network. *Journal of Experimental Botany* 63 (4): 1593–1608.
- Kunzová E., (2009): Vliv půdně klimatických podmínek na výnos ječmene jarního v dlouhodobých výživářských pokusech v letech 2005-2008. In: Bláha L. (ed.): *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2009*. Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i. Praha-Ruzyně, ISBN 978-80-87011-91-1, 388.
- Kusch S., Ahmadinejad N., Panstruga R., Kuhn H., (2014): In silico analysis of the core signaling proteome from the barley powdery mildew pathogen (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*). *BMC Genomics* 15: 843.
- Kůdela V., Ackermann P., Prášil I.T., Rod J., Veverka K., (2013): Abiotikózy rostlin: poruchy, poškození a poranění. *Academia*, Praha, 1.vyd., ISBN 978-80-200-2262-2, 566.
- Lambers H., Chapin F.S., Chapin (III.) F.S., Pons T.L., (2008): *Plant Physiological Ecology*. Springer, ISBN 0387783415, 604.
- Leistumaitė A., Paplauskienė V., (2007): Genetic resources of spring barley: analysis of Hordein polymorphism. *BIOLOGIJA* 53 (3): 30–33.
- Leung J., Valon C., Moreau B., Boeglin M., Lefoulon C., Joshi-Saha A., Chérel I., (2012): The ABC of abscisic acid action in plant drought stress response. *Biologie Aujourd'hui* 206(4):301-312.
- Li B., Cao X., Chen L., Zhou Y., Duan X., Luo Y., Fitt B.D. L., Xu X., Song Y., Wang B., Cao S., (2013): Application of geographic information systems to identify the overwintering regions of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* in China. *Plant Dis.* 97: 1168-1174.

- Lisar S.Y.S.1, Motafakkerazad R., Hossain M.M., Rahman I.M.M., (2012): Water Stress in Plants: Causes, Effects and Response. In: Rahman I.M.M., Hasegawa H. (ed.): Water Stress. InTech.
- Líšková M., Frančáková H., Mareček J., (2011): Changes of crude protein content in malting barely influenced by postharvest ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 12(1): 92-102.
- Luštinec J., Žárský V., (2003): Úvod do fyziologie vyšších rostlin. Karolinum, Praha, 1.vyd., ISBN 80-246-0563-5, 261
- Luu D.T., Maurel C., (2005): Aquaporins in a challenging environment: molecular gears for adjusting plant water status. *Plant Cell Environ.* 28: 85-96.
- Lyngkjær M.F., Newton A.C., Atzema J.L., Baker S.J., (2000): The Barley mlo-gene: an important powdery mildew resistance source. *Agronomie* 20: 745-756.
- MacGregor A.W., Bhaty R.S., (1993): Barley: Chemistry and Technology. AACC, St. Paul, Minnesota, USA, ISBN 0-913250-80-5, 486.
- Marek M.V., Otmar O., Marková I., (2008): Fyziologie rostlin pro lesní inženýry. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 1. vyd., ISBN 978-80-7375-228-6, 147.
- Marschner H., (1995): Mineral nutrition of higher plants. Gulf Professional Publishing, ISBN 0124735436, 889.
- Masarovičová E., Repeal M., (2002): Fyziológia rastlín. Univerzita Komenského, Bratislava, ISBN 80-223-1615-6, 303.
- Maurel C., Chrispeels M.J., Lurin C., Tacnet F., Geelen D., Ripoche P., Guern J., (1997): Function and regulation of seed aquaporins. *J. Exp. Bot.* 48: 421-430.
- Maurel Ch., (2007): Plant aquaporins: Novel functions and regulation properties. *FEBS Letters* 581(12): 2227–2236.
- Maurel Ch., Verdoucq L., Luu D., Santoni V., (2008): Plant Aquaporins: Membrane Channels with Multiple Integrated Functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 595–624.
- Mayer K.F.X., Waugh R., Stein N., (2012): A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. *Nature* 491: 711–716.
- McElrone A.J., Choat B., Gambetta G.A., Brodersen C.R., (2013): Water Uptake and Transport in Vascular Plants. *Nature Education Knowledge* 4(5): 6.
- Mehta Y.R., (2014): Wheat Diseases and Their Management. Springer, ISBN 3319064657, 256.
- Mohammadi P.P., Moieni A., Komatsu S., (2012): Comparative proteome analysis of drought-sensitive and drought-tolerant rapeseed roots and their hybrid F1 line under drought stress. *Amino Acids* 43(5): 2137-52.
- Mohammadkhani K., Heidari R., (2008): Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal* 3 (3): 448-453.
- Morgan J.M., (1992): Osmotic components and properties associated with genetic differences in osmoregulation in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 19: 67-76.

- Moriura N., Matsuda Y., Oichi W., Nakashima S., Hirai T., Nonomura T., Kakutani K., Kusakari S., Higashi K., Toyoda H., (2006): An apparatus for collecting total conidia of *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* from leaf colonies using electrostatic attraction. *Plant Pathology* 55(3): 367–374.
- Nalbandi K., Kohnehrouz B.B., Saeed K.A., Gholizadeh A., (2012): Isolating Barley (*Hordeum vulgare* L.) B1 Hordein Gene Promoter and Using Sequencing Analysis For The Identification of Conserved Regulatory Elements By Bioinformatic Tools. *African Journal of Biotechnology* 11(29): 7378-7387.
- Nilsen E.T., Orcutt D.M., (1996): *The physiology of plants under stress*. Wiley, New York, 2.vyd., ISBN 0-471-03512.
- Nobel P.S., (2012): *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. Academic Press, ISBN 9780323137614, 635.
- Norwood M., Toldi O., Richter A., Scott P., (2003): Investigation into the ability of roots of the poikilohydric plant *Craterostigma plantagineum* to survive dehydration stress. *Journal of Experimental Botany* 54 (391): 2313-2321.
- Ogburn R.M., Edwards E.J., (2010): *The Ecological Water-Use Strategies of Succulent Plants*. *Advances in Botanical Research* 55: 179-225.
- Outlaw W.H., Manchester J., (1979): Guard-cell Starch Concentration Quantitatively Related to Stomatal Aperture. *Plant Physiology* 64 (1): 79–82.
- Parker J., (2009): *Annual Plant Reviews, Molecular Aspects of Plant Disease Resistance*. John Wiley & Sons, ISBN 1444301454, 400.
- Pavlová L., (2005): *Fyziologie rostlin*. Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, 1.vyd., ISBN 80-246-0985-1, 253.
- Penny M.G., D. Bowling J.F., (1974): A study of potassium gradients in the epidermis of intact leaves of *Commelina communis* L. in relation to stomatal opening. *Planta* 119 (1): 17–25.
- Pérez-Clemente R.M., Vives V., Zandalinas S.I., López-Climent M.F., Muñoz V., Gómez-Cadenas A., (2013): *Biotechnological Approaches to Study Plant Responses to Stress*. *BioMed Research International*: 10.
- Piffanelli P., Zhou F., Casais C., Orme J., Jarosch B., Schaffrath U., Collins N.C., Panstruga R., Schulze-Lefert P., (2002): The Barley MLO Modulator of Defense and Cell Death Is Responsive to Biotic and Abiotic Stress Stimuli. *Plant Physiol.* 129: 1076 - 1085.
- Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouna A., D'Hont A., Hollricher K., Jørgensen J.H., Schulze-Lefert P., Panstruga R., (2004): A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew. *Nature*. 430: 887-91.
- Pistón F., Martín A., Dorado G., Barro F., (2005): Cloning and molecular characterization of B-hordeins from *Hordeum chilense* (Roem. et Schult.). *Theoretical and Applied Genetics* 111(3): 551-560.
- Polok K., Zielinski R., (2011): Mutagenic treatment induces high transposon variation in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Acta agriculturae Slovenica* 97(3): 179 – 188.

- Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. a kol., (1998): Fyziologie rostlin. Academia Praha, 1.vyd., ISBN 80-200-0586-2, 484.
- Procházka S., (2005): Botanika: morfologie a fyziologie rostlin. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2.vyd., ISBN 80-7157-870-3, 242.
- Prugar J. a kol., (2008): Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s., Praha, ISBN 978-80-86576-28-2, 327.
- Psota V., Kosař K., (2002): Ukazatel sladovnické jakosti. Kvasný průmysl 48(6): 142-148.
- Psota V., Ehrenbergerová J., (2008): Ječmen. In Prugar J. (ed.): Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí, VÚPS, Praha, ISBN 978-80-86576-28-2, 112–128.
- Psota V., (2008): Historické a současné odrůdy jarního ječmene, odrůdy vhodné pro „České pivo“. Kvasný průmysl 54(11–12): 326-321.
- Psota V., Sachambula L., (2010): Kvalita zrna ječmene ze zkušebních stanovišť České republiky, sklizeň 2009. Kvasný průmysl 56(11-12):433-438.
- Psota V., (2012): Ječmenářská ročenka 2012. Vydává Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., ISBN 978-80-86576-55-8, 346.
- Psotková R., (2007): Lokalizace nových genů rezistence k *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* u *Hordeum vulgare* pomocí DNA markerů. Diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno, 66.
- Quigley F., Rosenberg J.M., Shachar-Hill Y., Bohnert H.J., (2001): From genome to function: the *Arabidopsis* aquaporins. *Genome Biol.* 3(1): 0001-0001.
- Reinstädler A., Müller J., Czembor J.H., Piffanelli P., Panstruga R., (2010): Novel induced mlo mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley Mlo protein. *BMC Plant Biology* 10: 31.
- Reis E.M., Basso D.F., Zanatta M., (2013): Loss of sensitivity of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* to triadimenol applied as seed treatment. *Tropical Plant Pathology* 38(1): 055-057.
- Ridout Ch.J., (2009): Profiles in Pathogenesis and Mutualism: Powdery Mildews. In: Deising H. (ed.): *Plant Relationships - The Mycota V.* Springer-Verlag.
- Robredo A., Pérez-López U., Miranda-Apodaca J., Lacuesta M., Mena-Petite A., Muñoz-Rueda A., (2011): Elevated CO₂ reduces the drought effect on nitrogen metabolism in barley plants during drought and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany* 71: 399–408.
- Seeholzer S., Tsuchimatsu T., Jordan T., Bieri S., Pajonk S., Yang W., Jahoor A., Shimizu K.K., Keller B., Schulze-Lefert P., (2010): Diversity at the Mla Powdery Mildew Resistance Locus from Cultivated Barley Reveals Sites of Positive Selection. *MPMI* 23(4): 497–509.
- Shabala S., (2012): *Plant stress physiology.* CABI, ISBN 1845939964, 328.
- Shen Q.H., Zhou F., Bieri S., Haizel T., Shirasu K., Schulze-Lefert P., (2003): Recognition specificity and RAR1/SGT1 dependence in barley Mla disease resistance genes to the powdery mildew fungus. *Plant Cell.* 15(3): 732-44.

- Shen Q.H., (2004): Functional Analysis of Barley MLA-triggered Disease Resistance to the Powdery Mildew Pathogen. Inaugural-Dissertation, der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln, 161.
- Showler A.T., (2013): Water Deficit Stress - Host Plant Nutrient Accumulations and Associations with Phytophagous Arthropods. In: Vahdati K., Leslie Ch. (ed.): Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture. InTech.
- Shirasu K., Schulman A.H., Lahaye T., Schulze-Lefert P., (2000): A Contiguous 66-kb Barley DNA Sequence Provides Evidence for Reversible Genome Expansion. *Genome Res.* 10: 908-915.
- Shtaya M.J.Y., Marcel T.C., Sillero J.C., Niks R.E., Rubiales D., (2006): Identification of QTLs for powdery mildew and scald resistance in barley. *Euphytica* 151: 421–429.
- Schönfeld M., Ragni A., Fischbeck G., Jahoor A., (1996): RFLP mapping of three new loci for resistance genes to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in barley. *Theor Appl Genet.* 93(1-2): 48-56.
- Skamnioti P., Pedersen C., Al-Chaarani G.R., Holfors A., Thordal-Christensen H., Brown J.K.M., Ridout Ch.J., (2008): Genetics of avirulence genes in *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* and physical mapping of AVRa22 and AVRa12. *ScienceDirect, Fungal Genetics and Biology* 45: 243–252.
- Slabá V., (2013): Role *Cor/Lea* genů při reakci rostlin na abiotický stres. Bakalářská práce, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 63.
- Srichumpa P., Brunner S., Keller B., Yahiaoui N., (2005): Allelic Series of Four Powdery Mildew Resistance Genes at the Pm3 Locus in Hexaploid Bread Wheat. *Plant Physiology* 139: 885–895.
- Starck Z., Niemyska B., Chołuj D., (1995): Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. SGGGW, Warszawa, ISBN 8300029273, 167.
- Středa T., Dostál V., Heřmanská A., Nováček T., Koprna R., Chloupek O., (2009): Je šlechtění na toleranci k suchu náhodný, nebo záměrný proces?. In Chloupek O., Šlechtění rostlin za globálních změn klimatu. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 28-35.
- Szabados L, Savoure A., (2009): Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15: 89–97.
- Szabo L.J., Bushnell W.R., (2001): Hidden robbers: The role of fungal haustoria in parasitism of plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(14): 7654–7655.
- Švec M., (2010): Vyhřadávání a identifikácia genetických zdrojov pšenice (*Triticum* spp. L.). Brno, vyd.1, Tribun EU, ISBN 978-80-7399-966-7, 139.
- Taiz L., Zeiger E., (1998): *Plant Physiology*. Sinauer Associates, 2 edition, ISBN-13: 978-0878938315, 757.
- Talbot N.J., (2004): *Plant-pathogen Interactions*. CRC Press, School of Biological Sciences, University of Exeter, UK, ISBN 0849323436, 248.
- Tardy F., Créach A., Havaux M., (1998): Photosynthetic pigment concentration, organization and interconversions in a pale green Syrian landrace of barley (*Hordeum vulgare* L., Tadmor) adapted to harsh climatic conditions. *Plant, Cell an Environment* 21: 479-489.

- Teulat B., Rekika D., Nachit M.M., Monneveux P., (1997): Comparative osmotic adjustments in barley and tetraploid wheats. *Plant Breeding* 116(6): 519-523.
- Teulat B., Monneveux P., Wery J., Borries C., Souyris I., Charrier A., This D., (1997): Relationships between relative water content and growth parameters under water stress in barley: a QTL study. *New Phytologist* 137(1): 99-107.
- Teulat B., Merah O., This D., (2001): Carbon Isotope Discrimination and Productivity in Field-Grown Barley Genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science* 187(1): 33–39.
- Teulat B., Merah O., Sirault X., Borries C., Waugh R. and This D. (2002): QTLs for grain carbon isotope discrimination in field-grown barley. *Theor Appl Genet* 106: 118–126.
- Tratwal A., Bocianowski J., (2014): *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* virulence frequency and the powdery mildew incidence on spring barley in the Wielkopolska province. *Journal of Plant Protection* 54(1).
- Trigiano R.N., (2013): *Plant Pathology Concepts and Laboratory Exercises, Second Edition*. CRC Press, 2.vyd., ISBN 1482226936, 576.
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (2013): *Metodika zkoušek užitné hodnoty, ječmen*. Národní odrůdový úřad, Brno, 38.
- Vaculová K., Jirsa O., Balounová M., Sedláčková I., (2011): Evaluation of chemical and technological properties of grain and milling fractions of hulless barley for bakery use. *Proceedings of the 6th International Congress Flour - Bread '11, 8th Croatian Congress of Cereal Technologists: Opatija*, 467-473.
- Verslues E.P., Bray E.A., (2004): LWR1 and LWR2 are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 136(1): 2831-2842.
- Vidhyasekaran P., (2007): *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops: Molecular Biology and Host Defense Mechanisms, Second Edition*. 2.vyd., CRC Press, ISBN 1420021036, 536.
- Vitte C., Panaud O., (2003): LTR retrotransposons and flowering plant genome size: emergence of the increase/decrease model. *Cytogenet Genome Res* 110: 91–107.
- Vlasáková E., (2011): *Vliv teploty a sucha na obsah kyseliny abscisové v rostlinách obilnin*. Disertační práce, ČZU v Praze, Praha, 107.
- Volaire F., (2003): Seedling survival under drought differs between an annual (*Hordeum vulgare*) and a perennial grass (*Dactylis glomerata*). *New Phytologist* 160: 501-510.
- von Bothmer R., van Hintum T., Knüpfner H., Sato K., (2003): *Diversity in Barley (Hordeum vulgare)*. Elsevier, ISBN 0080530478, 300.
- von Korff M., Wang H., Léon J., Pillen K., (2005): AB-QTL analysis in spring barley. I. Detection of resistance genes against powdery mildew, leaf rust and scald introgressed from wild barley. *Theoretical and Applied Genetics* 111(3): 583–590.
- Wallace I.S., Choi W., Roberts D.M., (2006): The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes* 1758(8): 1165–1175.
- Wei F., Gobelman-Werner K., Morroll S.M., Kurth J., Mao L., Wing R., Leister D., Schulze-Lefert P., Wise R.P., (1999): The Mla (Powdery Mildew) Resistance Cluster

Is Associated With Three NBS-LRR Gene Families and Suppressed Recombination Within a 240-kb DNA Interval on Chromosome 5S (1HS) of Barley. *Genetics* 153: 1929–1948.

Wei F., Wing R.A., Wise R.P., (2002): Genome Dynamics and Evolution of the *Mla* (Powdery Mildew) Resistance Locus in Barley. *Plant Cell*. 14(8): 1903–1917.

Wicker T., Zimmermann W., Perovic D., Paterson A.H., Ganai M., Graner A., Stein N., (2005): A detailed look at 7 million years of genome evolution in a 439 kb contiguous sequence at the barely *Hv-eIF4E* locus: recombination, rearrangements and repeats. *The Plant Journal* 41: 184–194.

Winfield O.M., Lu C., Wilson I.D., Coghill J.A., Edwards K.J., (2010): Plant responses to cold: transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal* 8(7): 749–771.

Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A., Abbassi, F. (2011): The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. *African Journal of Agricultural Research* 6: 798–807.

Yoshimura K., Masuda A., Kuwano M., Yokota A., Akashi K., (2008): Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C(3) xerophyte (wild watermelon) under water deficits. *Plant&Cell Physiology* 49(2): 226-41.

Yue B., Xue W., Xiong L., Yu X., Lijun Luo L., Cui K., Jin D., Xing Y., Zhang Q., (2006): Genetic Basis of Drought Resistance at Reproductive Stage in Rice: Separation of Drought Tolerance From Drought Avoidance. *Genetics* 172: 1213-1228.

Yun S.J., Gyeni, L., Hayes P.M., Matus I., Smith K.P., Steffenson B.J., Muehlbauer G.J., (2005): Quantitative trait loci for multiple disease resistance in wild barley. *Crop Science* 45: 2563–2572.

Zhang J., Nguyen H.T., Blum A., (1999): Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 332(3): 291-302.

Zhoua F., Kurtha J., Weib F., Elliotta C., Valèa G., Yahiaouic N., Kellerc B., Somervilled S., Wiseb R., Schulze-Leferta P., (2001): Cell-Autonomous Expression of Barley *Mla1* Confers Race-Specific Resistance to the Powdery Mildew Fungus via a *Rar1*-Independent Signaling Pathway. *The Plant Cell* 13: 2337-2350.

Internetové zdroje

Adamec L., (2004): Zaujalo nás. Výzkum schopnosti kořenů některých rostlin přežívat vysušení. *Živa* 1. [cit. 9. 2. 2015].

Dostupný na: <http://ziva.avcr.cz/2004-1/zaujalo-nas-vyzkum-schopnosti-korenu-nekterych-rostlin-prezivati-vysuseni.html>

Bayer CropScience, (2012): *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* [cit. 5. 2. 2015].

Dostupný na: <http://www.cropscience.bayer.com/Products-and-Innovation/Crop-Compendium/Pests-Diseases-Weeds/Diseases/Blumeria-graminis-f-sp-tritici.aspx>

Český statistický úřad (2014): Plocha osevů [cit. 8. 2. 2014].

Dostupný na: http://www.czso.cz/csu/redakce.nsf/i/zemedelstvi_zem

- EPPO Global Database, (2015): *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* [cit. 6. 2. 2015].
Dostupný na : <https://gd.eppo.int/taxon/ERYSGH>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, (2014): Crops [cit. 8. 2. 2015].
Dostupný na: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- Invasive Species Compendium, (2015): *Blumeria graminis* (powdery mildew of grasses and cereals) [cit. 4. 2. 2015].
Dostupný na: <http://www.cabi.org/isc/datasheet/22075>
- Katedra experimentální biologie rostlin: Vodní režim rostliny, Praktikum fyziologie rostlin [cit. 1.4. 2015].
Dostupný na:
http://kfrserver.natur.cuni.cz/lide/edmunz/praktika_fr/mb130c74/navody/4_vodnirezi_m_ucitele.pdf
- Panstruga R., (2008): THE MLO GENE OF BARLEY. Current literature, mlo alleles, varieties and related topics [cit. 22. 2. 2015].
Dostupný na: <http://crpmb.org/>
- Šetlík I., Seidlová F., Šantrůček J., (2004): Regulace růstu. Fyziologie rostlin online [cit. 6. 11. 2014].
Dostupný na: <http://www.natur.cuni.cz/biochem/kucera/rostliny/is/kap02.pdf>
- Saupe S.G., (2009): Water, Diffusion and Osmosis [cit. 20. 1. 2015].
Dostupný na: <http://employees.csbsju.edu/ssaupe/biol327/Lecture/water.htm>
- Schulze-Lefert P., (2004): Broad-spectrum defense (supervised by Ralph Panstruga) [cit. 22. 2. 2015].
Dostupný na: http://www2.mpiz-koeln.mpg.de/schlef/PSL_webpage.html
- Smutná P., (2013): Šlechtění rostlin na rezistenci vůči biotickým a abiotickým faktorům [cit. 9. 1. 2015].
Dostupný na: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=48
- Víchová J., (2014): Choroby obilnin a luskovin [cit. 4. 2. 2015].
Dostupný na: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=2548

9 PŘÍLOHY

Tab. 14 Průběh klimatických podmínek na sušší lokalitě Žabčice (data poskytnuta Ing. Brotan, Ústav agrosystémů a bioklimatologie)

Měsíc	Datum	Prům. teplota (°C)	Max. teplota (°C)	Min. teplota (°C)	Srážky (mm)
únor	1-10	0,9	4,5	-2,6	9,20
	11-20	3,3	8,9	-2,6	2,80
	21-29	4,4	10,4	-1,9	0,60
	1-29	2,8	7,9	-2,4	12,6
březen	1-10	6,1	13,0	-0,6	0,20
	11-20	9,2	16,8	1,6	4,00
	21-31	10,0	17,1	2,4	1,40
	1-31	8,5	15,6	1,1	5,6
duben	1-10	11,6	19,5	3,8	2,01
	11-20	8,7	16,5	1,3	2,41
	21-30	15,1	21,6	8,6	6,80
	1-30	11,8	19,2	4,6	11,2
květen	1-10	13,3	20,9	5,6	10,00
	11-20	12,2	17,0	7,5	31,80
	21-31	17,8	24,4	11,3	21,00
	1-31	14,4	20,8	8,1	62,8
červen	1-10	18,9	27,2	9,2	0,40
	11-20	19,5	26,5	11,3	1,20
	21-30	18,2	25,6	10,0	41,80
	1-30	18,8	26,4	10,2	43,4
červenec	1-10	20,4	27,7	12,4	7,80
	11-20	22,3	30,9	13,5	8,40
	21-31	21,7	29,0	16,1	68,80
	1-31	21,5	29,2	14,0	85,0

9.1 Seznam použitých zkratek

ABA	kyselina abscisová
amo1	amylosa 1
AND	etylén
Avr	avirulence
<i>Bgh</i>	<i>Blumeria graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>
CC	coiled-coil
DNA	deoxyribonukleová kyselina
FT-NIR	Nicolet Antaris s Fourierovou transformací
<i>Hor1</i>	hordeion 1
<i>Hor2</i>	hordein 2
<i>Hor3</i>	hordein 3
HTS	hmotnost tisíce semen
HSPs	heat-shock proteins
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
JA	kyselina jasmonová
kDa	kilodalton
LEA	Late Embryogenesis Abundant
LRR	leucin rich repeat
LTR	long terminal repeat
<i>lys3a</i>	lyzin 3a
Mla	Mildew Locus a
Mlo	Mildew Locus o
MPa	Megapascal
mRNA	mediátorová RNA
NBS	nucleotide binding site
NIP	Nodulin-26-like intrinsic proteins
NPA boxy	aminokyselinové sekvence asparagin-prolin-alanin
OA	osmotic adjustment
OP	osmotický potenciál
PEG	polyethylenglykol
<i>PEN1</i>	penetration 1

<i>PEN2</i>	penetration 2
<i>PEN3</i>	penetration 3
PIP	plasma membrane intrinsic proteins (vnitřní proteiny plazmatické membrány)
<i>Rar</i>	required for Mla12 resistance
RGH	Resistance Gene Homolog
<i>Ror</i>	Required for mlo-resistance
ROS	Reactive Oxygen Species
SA	kyselina salicylová
SIP	small basic intrinsic proteins
TIP	tonoplast intrinsic proteins
USJ	ukazatel sladovnické jakosti

9.2 Seznam obrázků

Obr. 1 Reakce rostlin na stres způsobený zasolením, suchem a chladem

Obr. 2 Antioxidační obranný systém rostlin vystavených suchu indukovaný oxidačním stresem

Obr. 3 Struktura akvaporinu

Obr. 4 Symptomy na listech – bělavé mycelium

Obr. 5 Umístění genu *mlo* na chromozomu 4H

Obr. 6 Molekulární struktura genu *mlo* (Lipidová dvojvrstva plazmatické membrány je znázorněna šedou barvou. Kruhy s písmeny představují aminokyseliny)

Obr. 7 Příklad zbarvení zrna u odrůd Tadmor a Jersey a vybraných linií po křížení TxJ

Obr. 8 Porovnání hmotnosti tisíce semen (g) na stanovištích Brno a Žabčice

Obr. 9 Porovnání podílu zrn (% nad 2,0 mm) na stanovištích Brno a Žabčice

Obr. 10 Porovnání rozdílů hmotnosti tisíce semen v závislosti na rodičovské kombinaci a barvě pluchy na stanovištích Brno a Žabčice

Obr. 11 Porovnání rozdílů podílu zrn (% nad 2,0 mm) v závislosti na rodičovské kombinaci a barvě pluchy na stanovištích Brno a Žabčice

Obr. 12 Hodnocení intenzity napadení padlím travním u linií generace F5 pěstovaných v polních podmínkách

Obr. 13 Porovnání obsahu dusíkatých látek u linií ječmene generace F5 pěstovaných na stanovištích Brno a Žabčice z hlediska kombinace a barvy

Obr. 14 Porovnání obsahu škrobu u linií ječmene generace F5 pěstovaných na stanovištích Brno a Žabčice z hlediska kombinace a barvy

Obr. 15 Detekce přítomnosti alely *mlo11* u odrůd Tadmor (Ta), Jersey (Je), Apex (Ap), Alexis (Al) a Derkado (De, nezávislá kontrola)

Obr. 16 Detekce přítomnosti alely *mlo9* u odrůdy Jersey (JER) a jeho rodičů Apex (APE) a Alexis (ALE) a linií zdravých označených jako 1/3, 1/11, 1/19, 1/23, 1/28, 1/49, 2/8, 2

Obr. 17 Detekce přítomnosti alely *mlo9* u odrůd Tadmor (TAD), Jersey (JER), jeho rodičů Apex (APE) a Alexis (ALE) a linií napadených označených jako 1/5, 1/14, 1/22, 2/25, 1/35, 2/6, 2/12, 2/15, 2/30, 2/41, 2/45/11, 2/22, 2/28, 2/35, 2/44

Obr. 18 Stanovení osmotického potenciálu listů odrůd Tadmor a Jersey a linií vybraných z potomstva křížení těchto odrůd, pěstovaných v podmínkách osmotického stresu (-0,3MPa); sloupce v grafu vyjadřují průměrné hodnoty sledovaného znaku \pm SD

Obr. 19 Stanovení obsahu prolinu u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey a linií vybraných z potomstva křížení těchto odrůd, pěstovaných v kontrolních podmínkách (K) a podmínkách osmotického stresu (P) (-0,3MPa)

Obr. 20 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu (n=16)

Obr. 21 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu u odrůdy Tadmor a linií, kde byla odrůda Tadmor v křížení použita jako matka (n=8)

Obr. 22 Porovnání hodnot osmotického potenciálu a obsahu prolinu u odrůdy Jersey a linií, kde byla odrůda Jersey v křížení použita jako matka (n=8)

9.3 Seznam tabulek

Tab. 1 Charakteristika alel *mlo*

Tab. 2 Chemické složení obilky ječmene (%)

Tab. 3 Hodnoty jakostních ukazatelů pro sladovnický ječmen (ČSN 46 1100-5, 2006)

Tab. 4 Ukazatele sladovnické jakosti

Tab. 5 Základní znaky sladiny vhodné pro chránění zeměpisné označení České pivo

Tab. 6 Reakční směs

Tab. 7 Průběh PCR reakce za stanovených podmínek

Tab. 8 Reakční směs

Tab. 9 Průběh PCR reakce za stanovených podmínek

Tab. 10 Analýza variance pro hmotnost tisíce semen, výnos zrn na rostlinu a podíl zrn nad sítím 2,0 mm

Tab. 11 Analýza variance pro obsah dusíkatých látek a škrobu

Tab. 12 Obsah dusíkatých látek (%) u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey

Tab. 13 Obsah škrobu (%) u rodičovských odrůd Tadmor a Jersey

Tab. 14 Průběh klimatických podmínek na sušší lokalitě Žabčice