

NOVÁ ODRŮDA TŘEŠNĚ ‘HL 16732’ A JEJÍ FENOTYPOVÁ A MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ CHARAKTERIZACE

NEW SWEET CHERRY CULTIVAR ‘HL 16732’ AND AND ITS PHENOTYPIC AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION

Ivona Žďárská, Pavol Suran, Jana Čmejlová

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.,
Holovousy 129, 508 01 Holovousy

e-mail: zdarska@vsuo.cz, ORCID 0000-0001-6442-9445

ABSTRAKT

‘HL 16732’ je nově registrovaná odrůda třešně ptačí (*Prunus avium* L.) s pestrou barvou plodů, která se může stát velmi atraktivní pro producenty, zpracovatele i konzumenty. Kromě klasického hodnocení fenotypu byl tento genotyp ověřen i molekulárními metodami, které určily jak její opylovací poměry, ověřily původ ale i alelickou sestavu molekulárních markerů asociovaných s klíčovými šlechtitelskými vlastnostmi této odrůdy: barvou plodu, dobou sklizně, hmotností plodu a pevností plodu. Výsledky ukázaly mnoho výhod odrůdy ‘HL 16732’, včetně pozdějšího kvetení, vysoké násady květů a plodů, středně vysoké produktivity a konzistentního dozrávání. Molekulární analýzy potvrdily její jedinečnost a výborné vlastnosti odrůdy vhodné i jako výchozí materiál pro další šlechtění. Tato odrůda tak má potenciál stát se významnou volbou pro producenty a trh s pestrými třešněmi.

Klíčová slova: třešně, odrůda, molekulární analýza, šlechtění, fenotypové hodnocení

ABSTRACT

‘HL 16732’ is a newly registered cultivar of sweet cherry (*Prunus avium* L.) with a blush fruit colour, which can become very attractive for producers, processors and consumers. In addition to the classical evaluation of the phenotype, this genotype was also verified by molecular methods, which determined its pollination ratios, verified the origin and the allelic composition of molecular markers associated with the key breeding characteristics of this cultivar: fruit colour, harvest time, fruit weight and fruit firmness. The results showed many advantages of the cultivar ‘HL 16732’, including later flowering, high flower and fruit set, moderately high productivity and consistent ripening. Molecular analyses confirmed its uniqueness and the excellent properties of the cultivar, which is also suitable as a starting material for further breeding. This cultivar thus has the potential to become an important choice for producers and the blush cherry market.

Keywords: sweet cherries, cultivar, molecular analysis, breeding, phenotypic evaluation

ÚVOD

Na světě existují nižší tisíce odrůd třešně ptačí, například jen informační systém genetických zdrojů pro USA eviduje 827 různých položek třešně ptačí (GRIN). Jsou však stále šlechtěny a registrovány nové a nové odrůdy. Vzhledem k narůstajícím potřebám trhu se šlechtitelské programy zaměřují na vytvoření nových genotypů s různými vlastnostmi, které by mohly být atraktivní pro producenty i konzumenty. Tyto vlastnosti zahrnují fenologické znaky, jako je doba zrání a plodové charakteristiky, například velikost, barvu a pevnost plodů (Malchev a Zhivondov 2016, Quero García 2019).

Vyšlechtění nové odrůdy je dlouhodobý proces, který může trvat více jak 20 let od opylení květu po komerční dostupnost. Je náročný zejména ve svých počátečních fázích, kdy z původních tisíců semenáčů je po několikaletém hodnocení fenotypu nakonec vybráno několik málo perspektivních genotypů pro přihlášení coby nová odrůda. Zefektivnění šlechtitelského procesu umožňuje použití molekulárních metod, kdy jsou neperspektivní semenáče odstraněny z populace již v prvním roce života.

V první řadě se velmi úspěšně využívají molekulární metody pro určování opylovacích poměrů. Třešň ptačí patří primárně mezi cizosprašné rostliny, což je způsobeno gametofytickou inkompatibilitou kontrolovanou multialelickým S-lokusem. K úspěšnému opylení dojde jen tehdy, když je S-alela v genomu haploidního pylového zrna odlišná od obou S-alel diploidního pestíku, existují však i samosprašné odrůdy obsahující mutované S-alely (Čmejlová *et al.* 2023). Kvalitní samosprašné odrůdy použitelné pro křížení jsou však stále poměrně vzácné, přestože se řada šlechtitelských programů zaměřuje na jejich produkci. V současné době jsou proto ve šlechtění hojně využívány cizosprašné odrůdy s různými vynikajícími šlechtitelsky významnými vlastnostmi, aby došlo k jejich kumulaci v jednom genotypu. Řada odrůd však není schopna vzájemného opylení a následného oplození, jelikož obsahují stejné S-alely. Identifikace vhodných odrůd pro opylení klasickým způsobem v polních podmínkách je velmi náročná a pracná, avšak pomocí molekulárních analýz je určení S-alel rychlé a spolehlivé. Díky nim je možné vybrat perspektivní rodiče pro křížení, případně potvrdit samosprašnost genotypu.

Dále jsou molekulární metody používány pro predikci šlechtitelsky významných fenotypových znaků. Pro tento účel jsou u jednotlivých genotypů třešň analyzovány tzv. molekulární markery, které jsou s těmito znaky asociované. Jejich analýzou je možné predikovat vybrané vlastnosti již krátce po vyklíčení, ve stádiu prvních pravých listů, a není potřeba čekat několik let, než se genotyp dostane do plodnosti. Jako první se začaly používat velmi kvalitní molekulární markery pro predikci velikosti plodů typu SSR CPST038 a BPPCT034 nacházející se na chromozomu 2, které byly identifikovány v pracích Zhang *et al.* (2010) a Rosyara *et al.* (2013). Další vlastností, ke které byly nalezeny molekulární markery, byla barva plodů (např. alely *PavMyb10.1* publikované v Jin *et al.* (2016)), či SSR marker *Pav-Rf-SSR* (Sandefur *et al.* 2016). Univerzálnost těchto molekulárních markerů však byla později zpochybněna (Čmejla *et al.* 2021, Liu *et al.* 2023). Průlom v identifikaci molekulárních markerů přinesla celogenomová asociační studie provedená na 235 genotypech třešň (Holušová *et al.* 2023). V této práci byly identifikovány SNP markery pro čtyři šlechtitelsky významné vlastnosti, a to barva plodu, doba sklizňové zralosti, hmotnost plodu a pevnost plodu. Tyto markery byly použity pro molekulárními markery asistovanou selekci semenáčů třešň a vedly k registraci nové pestré odrůdy třešně.

V procesu uznávání nové odrůdy se kontroluje její odlišitelnost od již existujících odrůd, uniformita v rámci nové odrůdy a stálost jednotlivých znaků tzv. DUS testy (Povolná 2019).

Klasický způsob ověření pravosti odrůdy je založený na několikaletém fenologickém hodnocení s pomocí schválených deskriptorů pro konkrétní ovocný druh (CPVO 2006). Klony dříve uznaných odrůd není možné uznat jako novou odrůdu. Potvrzení identity či deklarovaných rodičů jednotlivých genotypů může být opět provedeno molekulárními metodami, kdy je často pro tento účel využívána sada mikrosatelitních neboli SSR markerů. Jednu takovou sadu doporučil Evropský kooperativní program pro rostlinné genetické zdroje (the European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources, ECPGR) (Clarke a Tobutt 2009).

MATERIÁL A METODY

Pro tvorbu nových genotypů a jejich hodnocení byl použit experimentální sad, který se nachází v Holovousích (východní Čechy, Česká republika, 360 m nad mořem). Dlouhodobá průměrná roční teplota je 8,3 °C s průměrným ročním srážkovým úhrnem 665 mm. Půda patří do skupiny půdních typů hnědozem, je hluboká a bez kamenného podloží.

Křížení proběhlo tzv. volným opylením odrůdy 'Tamara'. Semena byla stratifikována, vylouštěna a embrya byla následně vysazena ve skleníku. V první fázi selekce byly roční sazenice vysazeny v experimentálním sadu, kde byly hodnoceny alespoň po dobu pěti sklizní. V druhé fázi byli nejlepší jednotlivci naočkováni na podnože Gisela 5, P-HL-A a třešňový semenáč a vysazeni ve třech kusech. Tyto genotypy byly několik let hodnoceny. Hlavní zaměření bylo na kvalitativní a kvantitativní vlastnosti, které zahrnují kvalitu ovoce, plodnost a odolnost vůči nemocem (tabulka 1).

Genotypy v této druhé fázi byly ošetřovány stejným způsobem jako komerční sady. Pěstební tvarem bylo vřetené vysoké 3,5 m, vysazené ve sponu 5 × 1,5 m. Stromy byly ošetřované běžnou agrotechnikou, bez použití závlahy. Pro hodnocení pomologických znaků a fenofází dle tabulky 1 byl použit deskriptor třešni (Paprštein *et al.* 1992). Hodnoceny byly vzorky 25 plodů ve sklizňové zralosti rovnoměrně sklizené z různých částí koruny, a to ve třech opakováních. Pro stanovení hmotnosti plodů byla použita laboratorní váha KERN 440-49A. Průměrná hmotnost plodu se vypočítala z hmotnosti 25 plodů včetně stopky. Obsah refraktometrické sušiny byl měřen v °Brix refraktometrem ATAGO PAL-1. K měření pevnosti dužniny plodů byl použit penetrometr AGROSTA®100X se stupnicí od 1–100, kdy vyšší hodnota odpovídá vyšší pevnosti plodů. Podíl prasklých plodů byl vyjádřen procentuálně z počtu hodnocených plodů ve vzorku.

Pro všechny genetické analýzy byla použita DNA, která byla extrahována z lýka pomocí izolačního kitu Exgene Plant SV mini (GeneAll Biotechnology), přičemž bylo postupováno podle návodu výrobce. Kontrola koncentrace [ng/μL] a čistoty (poměr při vlnových délkách 260/280 nm) získané DNA byla provedena pomocí spektrofotometru NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific). Jak pro fragmentační analýzu, tak pro analýzu SBE (Single Base Extension – extenze DNA fragmentu o jednu bázi) byla DNA naředěna na koncentraci 10 ng/μL.

S-alely a profily SSR-markerů byly stanoveny pomocí fragmentační analýzy. Genetické markery jednotlivých šlechtitelsky významných znaků, jako jsou barva plodu, doba sklizňové zralosti, hmotnost plodu a pevnost plodu, byly stanoveny na základě SBE analýzy.

Prvním krokem fragmentační analýzy byla multiplexní PCR reakce pro amplifikaci požadovaných fragmentů. Amplifikační reakce o výsledném objemu 10 μL byly připraveny smícháním 1 μL premixu primerů, 5 μL Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific), 2 μL ultračisté vody a jako templát byly přidány 2 μL ředěné DNA.

Pro stanovení S-alel byly použity primery podle Čmejlové *et al.* (2023) a na cykleru byl nastaven následující teplotní profil: 98 °C/30 s; cyklování: 24x (98 °C/10 s, 60 °C/10 s, 72 °C/15 s); závěrečná extenze 72 °C/15 s. Pro stanovení SSR-profilu byly provedeny dvě multiplexní PCR reakce, přičemž byly použity primery podle Clarke a Tobutt (2009). Multiplex A obsahoval následující markery: UDP98-412, EMPaS06, EMPA017, EMPaS02, EMPaS10, EMPaS14 EMPaS12 a EMPA003. Multiplex B obsahoval následující markery: BPPCT037, CPPCT022, EMPA026, UDP-98-411, CPPCT006, EMPA002, UDP-98-410 a EMPaS01. Na cykleru byly nastaveny následující teplotní profily: 1) multiplex A: 98 °C/30 s; cyklování: 23x (98 °C/10 s, 52 °C/10 s, 72 °C/10 s); závěrečná extenze 72 °C/30 s; 2) multiplex B: 98 °C/30 s; cyklování: 29x (98 °C/s, 47 °C/10 s, 72 °C/10 s); závěrečná extenze 72 °C/30 s. PCR amplifikace probíhala ve všech případech v PCR cykleru C1000 (Biorad). Následná vlastní fragmentační analýza byla provedena u stanovení S-alel i SSR profilu stejně: byl smíchán 1 µL PCR produktu s 15 µL Hi-Di™ formamidem a 0,5 µL velikostního standardu GeneScan™ 600 LIZ™ dye Size Standard v2.0 (obojí od ThermoFisher Scientific). Vzorky byly denaturovány při 95 °C/5 min a fragmentační analýza ampikonů byla provedena s využitím genetického analyzátoru AB3500 (ThermoFisher Scientific).

Pro analýzu molekulárních markerů byla použita metoda SBE, což je multiplexní reakce, použitelná pro genotypování více molekulárních markerů najednou. SBE analýza se skládá z několika dílčích kroků, a to multiplexní PCR amplifikace, purifikace PCR produktů, vlastní SBE reakce, purifikace produktů SBE reakce a výsledné analýzy na genetickém analyzátoru. Všechny primery potřebné pro tuto analýzu a podrobné postupy jsou uvedeny v metodice Žďárská *et al.* (2023). Výsledky fragmentační i SBE analýzy byly vyhodnoceny pomocí softwaru GeneMapper v5.0 (Thermo Fisher Scientific).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Původ

Popisovaná odrůda vznikla volným sprášením odrůdy 'Tamara', tj. původ otcovského pylu je neznámý. Sběr hybridního osiva proběhl ve VŠÚO Holovousy. V roce 2020 byla přihlášena k registraci pod označením 'HL 16732'. Registrace odrůdy byla udělena v roce 2023.

Znaky a vlastnosti plodu

V rámci pomologického hodnocení se tato odrůda třešně vyznačuje mnoha specifickými charakteristikami, které jsou relevantní jak z komerčního, tak z výzkumného hlediska. Hodnoty jednotlivých vlastností, včetně jejich slovního popisu jsou uvedeny v tabulce 1.

Průměrná délka stopky činí 39,2 mm, což je důležité pro sklizeň a posklizňové zpracování. Z hlediska manuální sklizně se jedná o vyhovující hodnotu. Plody mají průměrnou hmotnost 9,2 gramů, což odpovídá průměrné délce 22,9 mm, šířce 26,8 mm a výšce plodu 24,6 mm. Rozměry plodů řadí novou odrůdu mezi velkoplodé třešně (obrázek 1).

Průměrná hmotnost pecky je 0,4 gramu s rozměry: průměrná délka pecky 10,5 mm, šířka 7,9 mm a tloušťka 9,1 mm. Morfologicky má plod středně kulovitý tvar, jak indikuje hodnota 5,6 na devítibodové stupnici. K významným charakteristikám patří dobrá přilnavost plodu ke stopce, hodnocená hodnotou 5,7, a malé riziko poškození slupky při oddělení, s hodnotou 6,0. Tyto vlastnosti jsou žádoucí s ohledem na sklizeň plodů a jejich následné jednocení a třídění. Naopak odlučitelnost od pecky je hodnocena hodnotou 6,6, což svědčí o dobré konzumní kvalitě. Incidence praskání plodů je pouze 7,7 %, což odpovídá vysoké odolnosti proti

praskání, hodnocené hodnotou 8,6. Praskání je lokalizováno především do oblasti stopečné jamky, jak ukazuje hodnota 6,2.

Obrázek 1. Plody odrůdy 'HL 16732'

Figure 1. Fruits of cultivar 'HL 16732'



(autor fotografie: Pavol Suran)

Co se týče optických parametrů, barva plodu a dužniny je na nižší straně stupnice s hodnotami 3,9 a 3,0 klasifikuje tuto odrůdu jako pestrobarevnou. Barvitelnost šťávy je hodnocena nízkou hodnotou 1,8. To znamená, že šťáva nemá silné barvicí vlastnosti, což je u pestrých třešní žádoucí.

Senzoricky se odrůda vyznačuje nadprůměrnou chutí, hodnocenou 6,0 na devítibodové stupnici, a akceptovatelnou aromatickou kvalitou s hodnotou 5,5 s ohledem na chuťové vlastnosti pestrých třešní. Tato hodnota ji řadí mezi chuťově příjemné třešně. Indikátor sladkosti, kterým je refraktometrický obsah sušiny plodů, je 18,1 °Brix, tedy nad průměrem pro třešňové odrůdy. Kyselost plodů je reprezentována hodnotou 7,1, což svědčí o vyváženém chuťovém profilu s převládající navinule sladkou chutí. Šťavnatost a textura plodů jsou rovněž pozitivně hodnoceny hodnotami 5,9 a 6,1, indikující příjemné konzumní vlastnosti společně s absencí trpké chutí, co je reprezentované hodnotou 8,8. Plod je příjemně šťavnatý s jemnou texturou. Pevnost slupky a dužniny je hodnocena hodnotami 6,8 a 7,5, značící vynikající strukturální integritu plodů. Slupka je dostatečně pevná, ale zároveň není nepříjemná při konzumaci. Tyto hodnoty pevnosti slupky a dužniny jsou velice žádoucí. Pevnost plodů byla penetrometricky hodnocena 72,4 body na stupnici od 1 do 100, což odpovídá velmi pevným

plodům. Vysoká pevnost plodů je benefiční s ohledem na manipulaci a transport plodů a odpovídá tomu i vysoká hodnota odolnosti vůči otlacení plodů, a to 7,3.

Nově uznaná odrůda vykazuje i velmi dobré parametry, co se týče odolnosti proti hnilobě a vrtuli třešňové, které byly hodnoceny stupněm 8,4, respektive 8,9.

Hospodářské vlastnosti

Začátek kvetení této odrůdy třešňi nastává průměrně po uplynutí 106,4 dne od prvního ledna, což zhruba odpovídá druhé polovině dubna. Tento časový rámeček ukazuje na pozdější nástup kvetení ve srovnání s ranějšími odrůdami, což by mohlo být výhodné v podmínkách pozdního jarního mrazu. Násada květů je hodnocena jako relativně vysoká, s hodnotou 6,7 na devítibodové stupnici, vzhledem k tomu, že průměrně dosahují třešně u násady plodů hodnoty 5,1.

Z hlediska sklizně je zásadní, že doba zrání plodů je v průměru 185,3 dne od prvního ledna, což přibližně odpovídá střednímu až pozdnímu červnu. Sklizeň tedy spadá do 5. třešňového týdne, což indikuje středně pozdní zrání. V kontextu produktivity je tato odrůda hodnocena jako vykazující středně vysokou produkci plodů s průměrnou vahou 7,4 kilogramu plodů na strom (tabulka 1) v kombinaci s podnoží Gisela 5.

Pravidelnost dozrávání, hodnocená na stupnici od 1 do 9, s hodnotou 6,8, je dalším kritickým parametrem, který napomáhá efektivní sklizni. Tato hodnota svědčí o tom, že dozrávání plodů je konzistentní. V praxi to znamená, že plody této odrůdy by měly být sklizeny ve srovnatelné zralosti, což je ideální pro následné zpracování a komerční distribuci.

Klíčové rozdíly 'HL 16732' oproti odrůdě 'Kordia'

Při porovnání se 'Kordia' a tato nová odrůda třešně ptačí podobají v některých aspektech, ale výrazně se odlišují v jiných znacích. Například doba sklizně je pro obě odrůdy podobná, s hodnotou 185,3 dnů od prvního ledna u odrůdy 'HL 16732' a 185,4 dnů u 'Kordie'. Nicméně délka stopky je u 'Kordie' delší, s hodnotou 48,1 mm, ve srovnání s 39,2 mm u zájmové odrůdy. Tento rozdíl by mohl mít vliv na sklizeň a posklizňové zpracování.

Co se týče hmotnosti plodu, obě odrůdy jsou velmi podobné s průměrnou hmotností 9,2 gramů u 'HL 16732' a 9,1 gramů u 'Kordie'. Ve vztahu k praskání plodů je 'Kordia' odolnější s pouze 2,8% praskání oproti 7,7 % u této odrůdy. Co se týče barvy plodu a dužniny, 'Kordia' má výrazně tmavší barvu s hodnotami 7,5 a 6,8, ve srovnání s 3,9 a 3,0 u této odrůdy.

V oblasti sensorických vlastností má 'Kordia' lepší chuť a aromatickou kvalitu, hodnocenou 6,6 a 6,5, ve srovnání s 6,0 a 5,5 u 'HL 16732'. Je to pochopitelné s ohledem na typický chuťový charakter pestrých třešní. Požadavky na chuť se výrazně liší mezi konzumenty červených a pestrých třešní. Konzumenti pestrých třešní vyžadují vyšší sladkost a slabší aroma. Při pohledu na pevnost plodů je 'Kordia' méně pevná s hodnotou 60,7 oproti 72,4 u této odrůdy, což by mohlo mít dopad na manipulační vlastnosti plodů. Díky této hodnotě se předpokládá jednodušší manipulace s plody odrůdy 'HL 16732' než 'Kordie'. Srovnání charakteristik je detailně popsáno v tabulce 1.

Tabulka 1. Srovnání charakteristik nové odrůdy třešně 'HL 16732' s tržní odrůdou 'Kordia' během 10 let od 3. roku po výsadbě

Table 1. Comparison of characteristics of new sweet cherry cultivar 'HL 16732' with commercial cultivar 'Kordia' over a 10 year period, starting from the 3rd year after planting

Odrůda ¹⁾	HL 16732	Kordia
Charakteristika ²⁾	Průměrné hodnoty a SD ³⁾	Průměrné hodnoty a SD ³⁾
Délka stopky (mm)	39,2 ± 4,8	48,1 ± 1,9
Hmotnost plodu (gram)	9,2 ± 1,1	9,1 ± 1,3
Výška plodu (mm)	24,6 ± 1,0	24,8 ± 1,2
Šířka plodu (mm)	26,8 ± 0,9	25,7 ± 1,3
Tloušťka plodu (mm)	22,9 ± 0,8	22,1 ± 1,0
Hmotnost pecky (gram)	0,4 ± 0,1	–
Tloušťka pecky (mm)	9,1 ± 0,7	–
Délka pecky (mm)	10,5 ± 0,8	–
Šířka pecky (mm)	7,9 ± 0,9	–
Tvar plodu (stupnice 1–9; 1 = ledvinkovitý, 5 = kulovitý, 9 = eliptický)	5,6 ± 1,7	8,0 ± 0,0
Odlučitelnost plodů od stopek (stupnice 1–9; 1 = velmi špatná, 9 = velmi dobrá)	5,7 ± 1,1	7,0 ± 1,0
Hladkost odlučitelnosti plodů (stupnice 1–9; 1 = u všech plodů stopečná jamka vytržená, 5 = až 75 % plodů má stopečnou jamku částečně poškozenou, 9 = všechny plody bez poškození – suché oddělení)	6,0 ± 2,6	7,3 ± 0,5
Odlučitelnost od pecky (stupnice 1–9; 1 = velmi špatná, 9 = velmi dobrá)	6,6 ± 0,8	3,9 ± 2,0
Praskání plodů (%)	7,7 ± 8,1	2,8 ± 4,5
Odolnost proti praskání (stupnice 1–9; 1 = velmi mnoho prasklých plodů, 9 = plody nepraskají)	8,6 ± 0,6	8,9 ± 0,3
Typ prasklin (stupnice 1–9; 1 = hluboké praskliny, 5 = menší praskliny, 9 = bez prasklin)	6,2 ± 2,3	7,4 ± 2,6
Barva plodů (stupnice 1–9; 1 = žlutá, 5 = světle červená, 9 = černá)	3,9 ± 1,2	7,5 ± 0,6
Barva dužniny (stupnice 1–9; 1 = žlutavě bílá, 5 = světle červená, 9 = černo červená)	3,0 ± 1,5	6,8 ± 0,7
Barvitelnost šťávy (stupnice 1–9; 1 = nebarví, 5 = středně silně, 9 = velmi silně)	1,8 ± 2,0	6,3 ± 1,0
Chuť (stupnice 1–9; 1 = nevyhovující, 5 = dobrá, 9 = vynikající)	6,0 ± 0,8	6,6 ± 0,5
Aromaticnost (stupnice 1–9; ;1 = neznatelná, 9 = velmi aromatická)	5,5 ± 0,7	6,5 ± 0,5
Obsah refraktometrické sušiny (°Brix.)	18,1 ± 2,0	18,0 ± 2,2
Kyselost (stupnice 1–9; 1 = velmi kyselý, 5 = navinulý, 9 = sladký)	7,1 ± 0,6	6,3 ± 0,6
Šťavnatost (stupnice 1–9; 3 = sušší, 7 = velmi šťavnatá)	5,9 ± 0,7	6,5 ± 0,5
Textura (stupnice 1–9; 1 = vláknitá, hrubší, 9 = velmi jemná)	6,1 ± 0,9	5,6 ± 0,8
Natrpkllost (stupnice 1–9; 1 = velmi trpký, 9 = bez trpkosti)	8,8 ± 0,3	8,8 ± 0,5

Pevnost slupky (stupnice 1–9; 1 = velmi měkká, 9 = velmi pevná)	6,8 ± 0,8	7,0 ± 0,6
Pevnost dužniny (stupnice 1–9; 1 = velmi měkká, 9 = velmi pevná)	7,5 ± 0,6	7,3 ± 0,6
Penetrace (stupnice 1–100)	72,4 ± 7,4	60,7 ± 7,9
Otlačitelnost plodů (stupnice 1–9; 1 = velmi silná, 9 = neotlačuje se)	7,3 ± 0,7	7,1 ± 0,6
Odolnost proti vrtuli třešňové (stupnice 1–9; 1 = všechny plody napadeny, 9 = všechny plody bez napadení)	8,9 ± 0,3	7,4 ± 1,9
Sklon k hnilobě (stupnice 1–9; 1 = všechny plody shnilé, 9 = nehnije)	8,4 ± 1,7	8,5 ± 0,9
Začátek kvetení (počet dnů od 1. ledna)	106,4 ± 4,9	109,9 ± 6,05
Násada květů (stupnice 1–9; 1 = není, 5 = střední, 9 = velmi vysoká)	6,7 ± 2,4	6,6 ± 1,45
Násada plodů (stupnice 1–9; 1 = není, 5 = střední, 9 = velmi vysoká)	5,1 ± 2,3	4,6 ± 1,85
Doba sklizně (počet dnů od 1. ledna)	185,3 ± 8,7	185,4 ± 10,9
Doba zrání (třešňový týden)	5,4 ± 0,8	5,6 ± 0,7
Sklizně (kg/strom)	7,4 ± 7,3	8,4 ± 8,9
Pravidelnost dozrávání (stupnice 1–9; 1 = velmi nestejně, 9 = najednou)	6,8 ± 0,5	6,7 ± 0,60

1) Cultivar, 2) Characteristic, 3) Average value and SD

Výsledky molekulárních analýz

Analýza S-alel

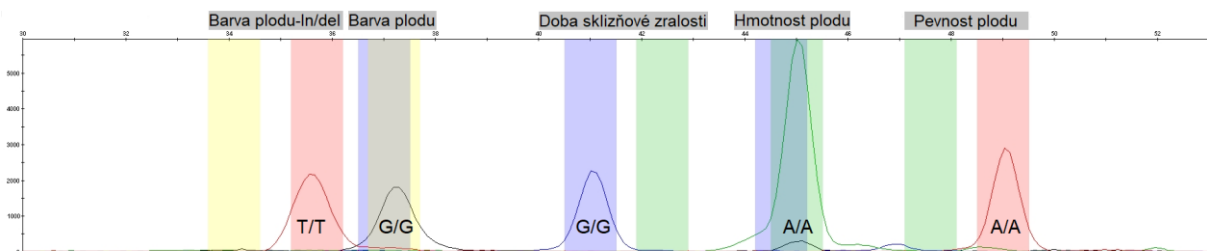
Pomocí molekulární analýzy byly u odrůdy 'HL 16732' stanoveny S-alely S1S3. Alelu S1 zdělila odrůda po své matce, odrůdě 'Tamara', která má skladbu S-alel S1S9. Znalost S-alel je důležitá při vysazování odrůd do sadů nebo zahrad, neboť většina třešní je cizosprašných a k úspěšnému vzájemnému opylení je potřeba vysazovat vždy genotypy s alespoň jednou rozdílnou S-alelou. Doporučený opylovač pro tuto odrůdu je odrůda 'Burlat', 'Tamara', 'Early Korvik' nebo 'Vanda'.

SBE analýza pro určení šlechtitelsky významných znaků

Podle výsledku SBE analýzy má odrůda 'HL 16732' ideální homozygotní sestavu ve všech SNP markerech s genotypem T/T pro marker znaku barva plodu – In/del a G/G pro marker znaku barva plodu, tato kombinace alel obou markerů je určující pro pestrou barvu plodu, genotyp G/G pro marker znaku doba zrání je určující pro pozdně zrající třešně, genotyp A/A pro marker znaku hmotnost plodu je určující pro plody s vysokou hmotností a genotyp A/A pro marker znaku pevnost plodu je určující pro plody s vysokou pevností (obrázek 2). Výsledky této analýzy ve všech znacích korelují s výsledky fenotypového hodnocení a potvrzují výborné vlastnosti odrůdy 'HL 16732'.

Obrázek 2. Elektroforeogram jako výsledek analýzy SBE. Barevné rámečky vymezují oblasti pro jednotlivé alely SNP markerů důležitých šlechtitelských znaků u třešně ptačí. Primery použité pro analýzu markerů u znaků barva plodu a pevnost plodu byly v reverzní orientaci, avšak vyhodnocení příslušných nukleotidů je u všech znaků kvůli jednotné interpretaci ve forwardové orientaci, proto nesedí barevně.

Figure 2. Electropherogram as a result of SBE analysis. Colored frames delineate the regions for individual alleles of SNP markers of important breeding traits in sweet cherry. The primers used for marker analysis for the traits fruit color and fruit firmness were in the reverse orientation, but the evaluation of the relevant nucleotides is in the forward orientation for all characters due to uniform interpretation, therefore they do not match in color.



Genotypizace pomocí SSR markerů

Pro odrůdu 'HL 16732' byl stanoven genetický profil SSR markerů, který je uveden na obrázku 3. Na základě tohoto profilu můžeme říct, že tato odrůda je jedinečná a není shodná s žádným genotypem nacházejícím se v naší databázi genetických SSR profilů. Analýza zároveň potvrdila jako jednoho z rodičů odrůdu 'Tamara', a to na základě porovnání jejich genetických profilů a shody jedné sady alel u všech analyzovaných markerů.

Obrázek 3. Genetický profil SSR markerů a sestavený možný rodokmen odrůdy 'HL 16732', u které byla potvrzena matka 'Tamara' a otec není znám. Oranžově vyznačené alely byly zděděny od matky, zeleně vyznačené alely pocházejí od otce. U modře vyznačených alel je u matky i u potomka stejné složení alel u daného markeru a vzhledem k tomu, že neznáme SSR profil otce, není možné přesně určit, která alela pochází od matky a která od otce.

Figure 3. Genetic profile of SSR markers and compiled possible pedigree of the cultivar 'HL 16732', for which the mother 'Tamara' was confirmed and the father is unknown. Alleles marked in orange were inherited from the mother, alleles marked in green come from the father. For alleles marked in blue, both the mother and the offspring have the same allele composition for the given marker, and since we do not know the SSR profile of the father, it is not possible to determine exactly which allele comes from the mother and which from the father.

	Matka ¹⁾ 'Tamara'		'HL 16732'		Otec ²⁾ ?	
01_EMPaS12	142	144	142	144	142/144	?
02_EMPa003	172	172	172	172	172	?
03_EMPaS02	137	137	137	137	137	?
04_EMPa017	239	239	239	239	239	?
05_EMPaS10	150	180	150	180	150/180	?
06_EMPaS14	194	194	194	194	194	?
07_UDP98-412	118	120	113	120	113	?
08_EMPaS06	204	206	206	218	218	?
09_UDP98-410	120	126	120	120	120	?
10_EMPaS01	226	230	226	226	226	?
11_UDP98-411	157	157	157	157	157	?
12_EMPa026	215	215	215	215	215	?
13_EMPa002	105	105	105	105	105	?
14_CPPCT006	181	181	181	181	181	?
15_BPPCT037	139	141	141	141	141	?
16_CPPCT022	253	253	253	253	253	?

1) Mother, 2) Father

ZÁVĚR

Ve výsledku je možné konstatovat, že tato odrůda třešňi nabízí široké spektrum předností, zahrnující pozdější kvetení, vysokou násadu květů a plodů, středně vysokou produktivitu a konzistentní dozrávání. Všechny tyto charakteristiky podporují její vysokou komerční hodnotu z hlediska sklizně, kdy je zaručen efektivní sběr plodů a jejich zpracování. Zpožděný nástup kvetení představuje potenciální výhodu v regionech náchylných k pozdním jarním mrazům, což by mělo minimalizovat riziko poškození květů. Velikost plodů a jejich pevnost splňují požadavky moderních trendů šlechtění, rovněž praskavost plodů je oproti ostatním odrůdám poměrně nízká. Barva plodů je v souladu s požadavky trhu, na kterém se dosud neprosadilo příliš mnoho třešňi s pestrou barvou. Rovněž její chuťové parametry predikují možnou úspěšnost této odrůdy na trhu. Komerčně výhodné vlastnosti této odrůdy byly potvrzeny rovněž molekulárními metodami. Přestože byly z časových důvodů molekulárními markery hodnoceny nové genotypy až v pozdějším stadiu selekce, analýza nejen této později registrované odrůdy prokázala spolehlivost predikce analyzovaných vlastností a je možné ji používat již ve stádiu semenáčků.

PODĚKOVÁNÍ

Publikace je výsledkem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) QK1910290 s názvem „Rozvoj a aplikace molekulárně genetických metod pro racionalizaci šlechtitelských postupů třešňi (*Prunus avium* L.)“.

LITERATURA

- CLARKE J.B. a K.R. TOBUTT. *A standard set of accessions, microsatellites and genotypes for harmonising the fingerprinting of cherry collections for the ECPGR*. Online. In: XII EUCARPIA Symposium on Fruit Breeding and Genetics 814, 2007, p. 615–618.
Dostupné z: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.814.104>. [citováno 2023-10-10].
- CPVO. *Protocol for distinctness, uniformity and stability tests: Prunus avium L. 2006*. Online. Dostupné z: https://cpvo.europa.eu/sites/default/files/documents/prunus_avium_2.pdf. [citováno 2023-10-10].
- ČMEJLA, R., I. ŽĎÁRSKÁ, P. SURAN, F. PAPRŠTEIN a J. ČMEJLOVÁ. A new allelic discrimination real-time PCR assay for PavMYB10.1 genotyping to predict sweet cherry fruit colour: a comparison with the Pav-Rf-SSR assay. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2021, 96: 260–269. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14620316.2020.1837021>. [citováno 2023-09-15].
- ČMEJLOVÁ, J., F. PAPRŠTEIN, P. SURAN, L. ZELENÝ a R. ČMEJLA. *A New One-Tube Reaction Assay for the Universal Determination of Sweet Cherry (Prunus avium L.) Self-(In)Compatible MGST- and S-Alleles Using Capillary Fragment Analysis*. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023, 24(8): 6931. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/8/6931>. [citováno 2023-09-02].
- HOLUŠOVÁ, K., J. ČMEJLOVÁ, P. SURAN, R. ČMEJLA, J. SEDLÁK, L. ZELENÝ a J. BARTOŠ. High-resolution genome-wide association study of a large Czech collection of sweet cherry (*Prunus avium* L.) on fruit maturity and quality traits. *Horticulture Research*, 2023, 10(1): uhac233. Dostupné z: <https://academic.oup.com/hr/article/10/1/uhac233/6762116>. [citováno 2023-09-14].
- JIN, W., H. WANG, M. LI, J. WANG, Y. YANG, X. ZHANG, G. YAN, H. ZHANG, J. LIU a K. ZHANG. *The R2R3 MYB transcription factor PavMYB10.1 involves in anthocyanin biosynthesis and determines fruit skin colour in sweet cherry (Prunus avium L.)*. Online. *Plant Biotechnology Journal*. 2016, (14): 2120–2133. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12568>. [citováno 2023-09-02].

- LIU, C., X. QI, L. SONG, L. CHEN, Y. DONG, F. PAN, W. ZHENG, Y. LI, B. ZHAO, W. GUO, M. LI a Z. WANG. *Large-fragment deletion encompasses the R2R3 MYB transcription factor, PavMYB10.1, causes yellow fruits in sweet cherry (Prunus avium L.)*. Online. *Scientia Horticulturae*. 2023, (309): 111648. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423822007634?via%3Dihub>. [citováno 2023-09-05].
- MALCHEV, S. a A. ZHIVONDOV. *Breeding programme for developing new sweet cherry cultivars in the Fruit Growing Institute, Plovdiv, Bulgaria*. Online. *Agricultural Science and Technology*. 2016, 8(4): 289–291. Dostupné z: <https://agriscitech.eu/wp-content/uploads/2016/12/005.pdf>. [citováno 2023-09-15].
- PAPRŠTEIN, F., J. BLAŽKOVÁ, J. BLAŽEK a J. SEHNÁLOVÁ. *Klasifikátor, Descriptor List, genus Cerasus Mill.* Praha: VÚRV Ruzyně, 1992.
- POVOLNÁ, A. *Metodika zkoušek odlišnosti, uniformity a stálosti, Obecná část. ÚKZÚZ*, 2019.
- QUERO GARCÍA, J. *Cherry breeding in the world: current analysis and future perspectives*. Online. *Italus Hortus*, 2019, 26(1): 9–20. Dostupné z: https://www.soihs.it/ItalusHortus/review_37_anno_26_2019_numero_1/nuove_tecniche_e_obiettivi_nel_miglioramento.aspx. [citováno 2023-09-10].
- ROSYARA, U.R., M.C.A.M. BINK, E. VAN DE WEG, G. ZHANG, D. WANG, A. SEBOLT, E. DIRLEWANGER, J. QUERO-GARCIA, M. SCHUSTER a A.F. IEZZONI. *Fruit size QTL identification and the prediction of parental QTL genotypes and breeding values in multiple pedigreed populations of sweet cherry*. Online. *Molecular Breeding*, 2013, (32): 875–887. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11032-013-9916-y>. [citováno 2023-08-03].
- SANDEFUR, P., N. ORAGUZIE a C. PEACE. *A DNA test for routine prediction in breeding of sweet cherry fruit color, Pav-R-f-SSR*. Online. *Molecular Breeding* 2016, (36), 33. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11032-016-0458-y>. [citováno 2023-09-08].
- USDA-ARS Germplasm Resources Information Network (GRIN). *Search Accessions GRIN-Global*. Online. Dostupné z: www.ars-grin.gov. [citováno 2023-10-26].
- ZHANG, G., A.M. SEBOLT, S.S. SOORIYAPATHIRANA, D. WANG, M. CAM BINK, J.W. OLMSTEAD a A.F. IEZZONI. *Fruit size QTL analysis of an F1 population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and a wild forest sweet cherry*. Online. *Tree Genetics & Genomes*. Online. 2010, (6): 25–36. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11295-009-0225-x>. [citováno 2023-08-02].
- ŽDÁRSKÁ, I., R. ČMEJLA, K. HOLUŠOVÁ, P. SURAN, J. SEDLÁK, K. PLUHAŘOVÁ, L. ZELENÝ, J. BARTOŠ a J. ČMEJLOVÁ. *Molekulárními markery asistované šlechtění třešně ptačí (Prunus avium L.) – selekce na dobu sklizňové zralosti, velikost, barvu a pevnost plodů. Certifikovaná metodika. Holovousy: VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o., 2023 (v přípravě).*