

DOLOČANJE PERSPEKTIVNIH STARŠEVSKIH KOMBINACIJ KRIŽANJ HMELJA (*Humulus lupulus* L.) ZA POVEČANJE ODPORNOSTI POTOMCEV NA HMELJEVO PEPELOVKO IN HMELJEVO PERONOSPORO

Martina KUNST¹, Anton IVANČIČ² in Andreja ČERENAK³

Izvirni znanstveni članek / original scientific article

Prispelo / received: 23. 10. 2019

Sprejeto / accepted: 5. 12. 2019

Izveček

Žlahtnjenje rastlin je ena izmed najpomembnejših gospodarsko-kmetijskih dejavnosti. V prispevku je prikazan del žlahtniteljskega programa Inštituta za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije oz. selekcijo sejančkov hmelja (*Humulus lupulus* L.) v rastlinjaku na hmeljevo pepelovko (*Podosphaera macularis*) in hmeljevo peronosporo (*Pseudoperonospora humuli*) iz let 2004, 2006, 2008, 2009, 2010, 2014, 2016 in 2018. V raziskavi je bilo izpostavljenih tudi nekaj superiornih maternih in očetnih komponent ter 55 najboljših kombinacij križanj, kar bi lahko predstavljalo zelo koristno in praktično informacijo za nadaljnje žlahtnjenje hmelja v smeri odpornih sort na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo.

Ključne besede: sejančki hmelja, odpornost, žlahtnjenje, hmeljeva pepelovka, hmeljeva peronospora

DETERMINATION OF SUPERIOR PARENTAL HOP (*Humulus lupulus* L.) CROSSING COMBINATIONS FOR ACHIEVING HIGHER PROGENY RESISTANCE TO POWDERY MILDEW AND DOWNY MILDEW

Abstract

Genetic breeding is one of the most important agro-economical activities. In the article, a part of the breeding program at the Slovenian Institute of Hop Research and Brewing, associated with the selection of hop (*Humulus lupulus* L.) seedlings for resistance to powdery mildew (*Podosphaera macularis*) and downy mildew (*Pseudoperonospora humuli*) in the years 2004, 2006, 2008, 2009, 2010, 2014, 2016 and 2018 is presented. As a result of the research, some superior female and male parental components were exposed, together with 55 most promising crossing

¹ Študentka, e-naslov: klinmartina@gmail.com

² Prof. dr., Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Katedra za genetiko, Pivola 10, SI-2000 Maribor, e-naslov: anton.ivancic@um.si

³ Izr. prof. dr., Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije, Oddelek za rastline, tla in okolje, Cesta Žalskega tabora 2, SI-3310 Žalec, e-naslov: andreja.cerenak@ihps.si

combinations, which could represent a highly valuable information for further practical work associated with the improvement of resistance to powdery and downy mildews.

Key words: hop seedlings, resistance, breeding, powdery mildew, downy mildew

1 UVOD

Program vzgoje odpornih sort hmelja na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije (IHPS) je, poleg visoke kakovosti in količine pridelka, osredotočen predvsem na odpornost na ekonomsko najpomembnejše škodljivce in bolezni, kamor spadata tudi hmeljeva pepelovka (*Podosphaera macularis* Wallr. U. Braun & Taukam) in hmeljeva peronospora (*Pseudoperonospora humuli* (Miyabe & Takah.) G. W. Wils.) (Radišek in sod., 2007). Za vzgojo in registracijo nove sorte hmelja je potrebno od deset do petnajst let sistematičnega žlahtniteljskega dela (Haunold, 1980). Slovenski žlahtnitelji hmelja so v zadnjih šestdesetih letih razvili kar 21 različnih slovenskih sort (Slovenska sortna..., 2019). Danes je z njimi zasajenih nad 98 % slovenskih hmeljišč, na katerih največji delež predstavlja sorta Aurora (60 %) (Čerenak in sod., 2019b). Številni žlahtniteljski cilji, kot je npr. odpornost na bolezni in škodljivce, so velikokrat težje dosegljivi. Ustrezne gene lahko najdemo v dednini že obstoječih sort in jih s klasičnim križanjem vnesemo v potomce (Bohanec, 2004). Klasičnemu žlahtnjenju so se v zadnjih letih pridružile številne nove metode molekularne genetike, ki skrajšujejo čas vzgoje novih sort (Čerenak in sod., 2019a; Javornik, 2005).

Izbiri ustrezne metode žlahtnjenja narekujejo specifične lastnosti hmeljne rastline. Zaradi dvodomnosti so hmeljne rastline genetsko zelo različne (heterozigotne). Potomstvo rastlin, vzgojenih iz semena, je tudi močno raznoliko (heterogeno). Hmelj na pridelovalnih nasadih razmnožujejo vegetativno, s sadikami in ne s semenom, da se obdrži ista genetska struktura rastlin in z njo povezana homogenost populacije (Šuštar-Vozlič in sod., 2002). Pogosto uporabljena metoda žlahtnjenja v Sloveniji je rekurentna selekcija, ki je v osnovi usmerjena v izboljšavo populacij. Ta predstavlja postopek žlahtnjenja v ciklikih, katerega cilj je povečati frekvenco genov, ki imajo pozitiven vpliv na oblikovanje večjega števila željenih lastnosti. V vsakem ciklu se odberejo najboljši osebki, ki se križajo med seboj, iz nastalega potomstva pa nastane populacija novega cikla (Ivančič, 2002). S tem postopkom so ozko povezana ciljna križanja, s katerimi sistematično izboljšujemo ključne lastnosti kot so to npr. kvaliteta pridelka, odpornost proti boleznim ali neugodnim abiotskim dejavnikom (Neve, 1991; Oset in sod., 2009).

Križanja na IHPS se izvajajo na polju in temeljijo na ročnem opráševanju ženskih socvetij izbranih maternih komponent. Naslednje leto v kontroliranih razmerah v rastlinjakih poteka vzgoja sejancov hmelja iz semen. Sledi selekcija na hmeljevo

pepelovko, pri kateri se odberejo odporne rastline, čemur sledi umetna okužba sejančkov s sporami hmeljeve peronospor. Izločijo se občutljivi genotipi. Vsem pozitivno odbranim križancem po obeh selekcijah na bolezen se z molekulsko metodo določi spol (Čerenak in sod., 2019b; Čerenak in sod., 2015).

1.1 Hmeljeva pepelovka in selekcija

Žlahtnjenje rastlin na odpornost proti hmeljevi pepelovki (*Podosphaera macularis*) se je začelo razvijati v zgodnjem obdobju 20. st. in predstavlja pomemben cilj žlahtniteljskih programov po svetu (Neve, 1991). Hmeljeva pepelovka je ena izmed najstarejših bolezni hmelja, ki je bila opisana že pred 400 leti. Pojav in obseg bolezni je močno odvisen od vremenskih razmer in odpornosti posameznih sort na to bolezen (Darby, 2005). Tipična bolezenska znamenja se na listih opazi v obliki belih prašnih kolonij. Najbolj nevarne so okužbe cvetov in razvijajočih storžkov, saj povzročijo izrazite deformacije in zakrnelost tkiva ter lahko popolnoma uničijo pridelek (Hmelj, 2019; Radišek in Oset Luskar, 2012). Med glivo in hmeljno rastlino je potrjena »gen za gen« interakcija, v kateri so odkriti različni geni odpornosti (RB, R1, R2, R3, R4, R5, R6; RBu) in njim ustrezni patotipi (Čerenak in sod., 2009; Kozjak in Javornik, 2008; Neve, 1991; Wolfenbarger, 2016). Selekcijo na hmeljevo pepelovko izvajajo na mladih sejančkih, saj se R geni izražajo tudi v mladem tkivu. Kot vir okužbe se uporabi več izolatov, dobljenih iz nabranih storžkov v okuženih hmeljiščih na različnih območjih v prejšnjem letu. Izolat se namnoži na hmeljnih rastlinah občutljivih sort, ki so posajene v loncih. V zadnjih letih se sejančke okužuje s suspenzijo spor, kar zagotavlja enakomernejše razporeditve in koncentracije inokuluma. Približno po 2-3 tednih sledi selekcija in ocenjevanje sejančkov (Radišek in sod., 2007). Družine in posamezne sejančke ocenijo glede na delež okuženosti listne površine s hmeljevo pepelovko z lestvico od 0 do 4 (0 = 0 %, 1 = ≤ 10 %, 2 = 11-30 %, 3 = 31-60 %, 4 = > 60 %). Vse rastline ocenjene s 3 ali 4 se uničijo, z ostalimi pa se postopek nadaljuje. Selekcionirane rastline posadijo v lončke s svežim substratom in ker ni povsem odpornih genotipov, se po selekciji vsa populacija križancev poškropi s fungicidi (Čerenak in sod., 2019b). V študiji iz leta 2009 je bilo ugotovljeno, da občutljive sorte na hmeljevo pepelovko večinoma vključujejo severnoameriško dednino, medtem ko odpornejše sorte izvirajo iz evropske dednine (Čerenak in sod., 2009).

1.2 Hmeljeva peronospora in selekcija

Hmeljevo peronosporo so prvič identificirali na Japonskem leta 1905, po letu 1930 je postala svetovni problem (Woods, 2016). Povzroča jo plesnivka (oomiceta) *Pseudoperonospora humuli*. Bolezen lahko okuži vsa rastlinska tkiva in se vsako leto pojavlja pri večini sort. Prezimatev in ohranjanje ji omogoča micelij v okuženi koreniki, ki je spomladi vir primarne okužbe. Povzroča lokalizirane okužbe listja, cvetov in storžkov ter sistemske okužbe, katerih rezultat so prizadeti poganjki

(kuštravci) in propadanje koreninskega sistema. Rastlina s prizadeto koreniko lahko daje tudi do 30 % nižji pridelek, v primeru občutljivih sort pa prihaja do propadanja in odmiranja celotne rastline (Neve, 1991; Radišek in Oset Luskar, 2012; Radišek in sod., 2012). Na IHPS se selekcija na hmeljevo peronosporo izvaja na sejančkih po končani selekciji na hmeljevo pepelovko. Vir okužbe predstavljajo sistemsko okuženi primarni in sekundarni poganjki (kuštravci), ki se spomladi naberejo v hmeljiščih. Sporangije sperejo z listov s sterilno vodo in nato suspenzijo umerijo s Thoma števno komoro (Brand GMBH+CO KG; Nemčija) na koncentracijo 50.000 sporangijev/ml. S tako pripravljenim inokulumom umetno okužijo sejančke hmelja. Selekcija se izvede po razvitju terminalnih kuštravcev, nekje po 14-21 dneh. Vse sejančke z razvitimi kuštravci ali visoko okuženostjo listov izločijo, odpornost družin sejančkov pa se zabeleži kot odstotek selekcioniranih rastlin. Pri rastlinah so znani različni tipi genetske odpornosti na oomicete, ki so določeni na podvrstnem ali sortnem nivoju (specifična odpornost sorte na sev), ali na vrstnem oz. rodovnem nivoju (negostiteljska ali nespecifična odpornost) (Javornik, 2008; Leach, 2014; Rozman, 2003;). Znana je različna izraženost odpornosti hmeljnega tkiva, saj so nekatere sorte precej odporne na sistematčne infekcije korenike in hkrati občutljive na okužbo storžkov ali obratno (Čerenak in sod., 2019a; Radišek in sod., 2007). V primerjavi z odpornostjo sort iz Amerike, Japonske, Avstralije in Nove Zelandije je visoka stopnja izražene odpornosti na hmeljevo peronosporo bolj povezana s sortami z evropsko dednino (Woods, 2016). Japonski hmelj, *Humulus japonicus*, sorodnik *H. lupulus*, je skoraj v celoti odporen na hmeljevo peronosporo (Hoerner, 1940).

2 MATERIAL IN METODE

Iz podatkovne baze IHPS smo dobili številne podatke o križancih, ki so nastali v procesu žlahtnjenja hmelja v zadnjih dveh desetletjih. Cilj žlahtniteljskega dela so bila križanja, usmerjena v pridobivanje visoko produktivnih, visoko kvalitetnih in na boleznih odpornih genotipov in ne oblikovanje potomstva z namenom statistične obdelave. Obravnavali smo podatke iz let 2004, 2006, 2008, 2009, 2010, 2014, 2016, 2018 in jih uredili tako, da so ustrezali za osnovno statistično obdelavo in so primerni za nadaljnje statistične obravnave. Prikazali smo temeljne razlike/povezanost posameznih opazovanih lastnosti hmelja v fazi sejančka med leti in določili perspektivne kombinacije križanj, ki bi jih bilo smiselno uporabiti v procesu žlahtnjenja s ciljem pridobivanja odpornejših sort hmelja.

Podatke smo analizirali v programskem paketu Excel 2013. Med leti je bilo zelo različno število uporabljenih semen in s tem povezano tudi število sejančkov, ki so bili vključeni v selekcijski program. Iz danih podatkov smo najprej izpostavili vsa križanja, ki so bila vezana na iste moške komponente, enako smo storili za kombinacije križanj ženske komponente. Nato smo združili iste kombinacije križanj moškega in ženskega genotipa, ki smo jih skupaj z njihovi potomci označili

za družino. Za celotno populacijo različnih kombinacij križanj, posamezne ženske in moške komponente ter družine smo izračunali osnovne statistične parametre kot so srednja vrednost, minimum, maximum, standardna deviacija in koeficient variabilnosti. Z uporabo Pearsonovega koeficienta smo določili linearno korelacijo med opazovanimi parametri. Izračunali smo tudi odstotke preživelih sejančkov po selekcijah na omenjeni bolezni za določanje superiornih kombinacij križanj. V članku smo predstavili zgolj najpomembnejše rezultate in izsledke analize podatkov iz skupnih in posameznih let povezanih s selekcijo hmeljevih sejančkov na odpornost na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo, koristnih za nadaljnje žlahtnjenje.

3 REZULTATI Z RAZPRAVO

V osmih opazovanih letih je bilo v statistično raziskavo vključenih 140.882 sejančkov, potomcev več kot 1000 različnih kombinacij križanj hmelja. Po tretiranju s hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo je preživel 46.297 sejančkov, kar predstavlja 33 % delež vseh preživelih sejančkov dane populacije. Variabilnost je zelo visoka pri vseh preučevanih parametrih (preglednica 1), kar pomeni, da je genetska pestrost zelo velika in s tem povezana količina genetskega materiala, ki omogoča prilagoditev rastlin na različne okoljske dejavnike (spreminjanje klimatskih razmer, pojav novih bolezni in škodljivcev, ipd.). Želimo čim več preživelih sejančkov, potomcev izbrane družine ($\text{♀ A} \times \text{B} \text{♂}$) ali posamezne matrne/očetne komponente, ki ima izraženo nizko variabilnost kot odziv na omenjeni bolezni. Ne moremo pa trditi, da nižja variabilnost pomeni večjo toleranco na dan patogen, večja pa občutljivost.

Rezultati korelacijske analize iz preglednice 2 so pričakovani in statistično značilni. Večje je število sejančkov, večja je možnost, da preživi večje število sejančkov po selekciji na omenjeni bolezni. Večje je število semen, več je tudi vzgojenih sejančkov.

Preglednica 1: Osnovna deskriptivna statistika, povezana z variabilnostjo celotne analizirane populacije sejančkov hmelja v letih 2004, 2006, 2008, 2009, 2010, 2014, 2016, 2018

	N	Min.	Maks.	Sr. vr.	St. dev.	C.V. (%)
Št. sejančkov	140882	0	1144	118,190	147,695	124,965
Sel. hl. pep.	83303	0	724	69,885	88,504	126,642
Sel. hl. per.	46297	0	351	38,840	46,980	120,960

(N - vsota sejančkov; Min. – minimum; Maks. – maksimum; Sr. vr. – srednja vrednost; C. V. - koeficient variabilnosti; Št. sejančkov – število sejančkov; Sel. hl. pep. – selekcija na hmeljevo pepelovko; Sel. hl. per. – selekcija na hmeljevo peronosporo)

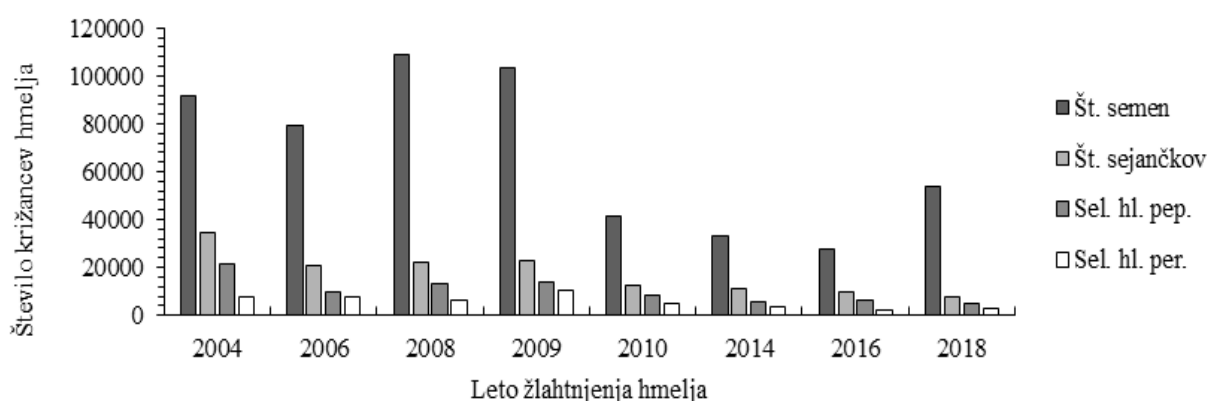
Preglednica 2: Korelacijska povezanost med opazovanimi kvantitativnimi lastnostmi celotne analizirane populacije sejanchkov hmelja v letih 2004, 2006, 2008, 2009, 2010, 2014, 2016, 2018

	Št. semen	Št. sejanchkov	Sel. hl. pep.
Št. semen			
Št. sejanchkov	0,736**		
Sel. hl. pep.	0,703**	0,942**	
Sel. hl. per.	0,669**	0,824**	0,843**

**P < 0.01

Št. sejanchkov – število sejanchkov; Sel. hl. pep. – selekcija na hmeljevo pepelovko; Sel. hl. per. – selekcija na hmeljevo peronosporo)

S slike 1 so razvidne razlike med posameznimi leti. Žlahtniteljsko delo bi lahko razpolovili na dve časovni obdobji. Leta 2004, 2006, 2008 in 2009 sodijo v obdobje, za katero je značilno večje število semen in tudi statistično značilno večje število sejanchkov. V drugo obdobje bi lahko združili leta 2010, 2014, 2016 in 2018, ker so si v statističnem pogledu bolj podobna. Rezultat je bil pričakovan. Pri večjem obsegu križanj do leta 2009 je bilo posledično posajenih v hmeljišča večje število križancev, ki jih je v nadaljnjem žlahtniteljskem postopku bilo potrebno ovrednotiti še glede na ostale lastnosti, kot so vsebnost in sestava grenčic, eteričnih olj ter odpornost na verticilijsko uvelost hmelja, kar pa je zahtevalo visok finančni vložek. Zaradi omejenih finančnih sredstev žlahtniteljskega programa so v letu 2010 pričeli z vzgojo manjšega števila sejanchkov letno, ki jih je bilo v nadaljevanju postopka v okviru finančnih možnosti mogoče kvalitetno ovrednotiti.



Slika 1: Grafičen prikaz uspešnosti žlahtnjenja hmelja po letih

Izraz družina smo uporabili za poimenovanje potomstva križanja neke matrne in neke očetne komponente oz. potomstva križanja nekega ženskega genotipa z nekim moškim genotipom ($\text{♀ A} \times \text{B} \text{♂}$). Mladi potomci takega križanja so sejanchki, ki predstavljajo nov vir genetskih informacij. Število podatkov za posamezne

kombinacije križanj se zelo razlikuje po letih. Potomstva hipotetično perspektivnejših križanj so bila, kar je tudi logično, mnogo večja. V družinah so med leti vidna velika nihanja števila semen. Število semen je odvisno od izbire oprasitve (naravna ali umetna), okoljskih dejavnikov, uskladitve cvetenja moške in ženske rastline, izbire staršev, odločitev žlahtnitelja. Vzgoja sejančkov hmelja iz semen in njihova selekcija se izvede samo v primeru zadostnega števila semen različnih kombinacij križanja, ki so ekonomsko opravičljiva in zanimiva, kar pojasnjuje različno dolgo časovno obdobje med leti žlahtnjenja in s tem povezano število semen. Delež kalivosti semen v družini nismo analizirali, saj je število vzgojenih sejančkov odvisno od hitrosti kalitve, ki je časovno omejena. Potek selekcije na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo pa je omejen na letni čas in razvoj bolezni. Družina z največ preživelih sejančkov po tretiranju s hmeljevo pepelovko je kombinacija križanja 'Taurus' $\times$ 63021 (srednja vrednost = 144 sejančkov), ki je tudi najbolj variabilna glede števila sejančkov vključenih v selekcijo na omenjeni bolezni, ki so variirali med 192 in 445 sejančkov/družino (CV = 42,1 %), seveda je to odvisno od največjega števila vključenih sejančkov v selekcijo. 'Taurus' je občutljiv na hmeljevo pepelovko in srednje odporen na hmeljevo peronosporo (Oset in sod., 2009), zato je največje število preživelih sejančkov po tretiranju s hmeljevo pepelovko odraz odpornega očeta 63021. Razviden pa je izrazit upad števila sejančkov po selekciji na hmeljevo peronosporo (-70 %), ki je značilen za vključeno moško komponento 63021 (-74 %), kar pomeni, da so potomci opazovanega križanja občutljivi na okužbo s hmeljevo peronosporo. Moški genotip 63021 ima značilno veliko nižje vrednosti korelacijskega koeficienta med številom sejančkov po hmeljevi peronospori v povezavi z vsemi ostalimi opazovanimi lastnostmi, kar nakazuje močno občutljivost na hmeljevo peronosporo. To potrjujejo tudi vizualna opazanja žlahtniteljev, opravljena v več letih.

Sorte 'Aurora', 'Savinjski golding', 'Magnum' in 'Taurus' kot ženski genotipi so bili v križanjih z različnimi moškimi genotipi skozi opazovana žlahtniteljska leta največkrat uporabljeni. Rezultati teh križanj pa ponujajo širši vpogled v odziv njihovih potomcev na izzvani bolezni, hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo. Za optimalno oceno značilnih lastnosti določene kombinacije križanja ali posamezne komponente ostaja večje število sejančkov zelo zaželeno v žlahtniteljskih programih. Pri potomcih sort 'Magnum' in 'Aurora' prihaja do spreminjanja značilnih lastnosti maternih komponent glede odpornosti oz. občutljivosti, kar bi lahko povezali z vnosom pozitivnih/negativnih alelov moške komponente v potomce. Preračunano v odstotkih preživelih potomcev je 'Magnum', ki je občutljiv na hmeljevo pepelovko in visoko odporen na hmeljevo peronosporo (Oset in sod., 2009), na podlagi analize sejančkov bolj toleranten na hmeljevo pepelovko (57 %) kot na hmeljevo peronosporo (50 %). 'Aurora', ki velja za visoko odporno na hmeljevo pepelovko in sekundarno okužbo na hmeljevo peronosporo (Oset in sod., 2009) ima višji delež preživelih sejančkov na hmeljevo peronosporo

(65 %) in manj na hmeljevo pepelovko (58 %). S tem so potrjeni tudi rezultati žlahtnjenja na odpornost, saj se pri obeh zanimivih sortah s križanji v potomstvu dvigne odpornost na bolezní glede na materni komponenti. Za potomstvo 'Aurore' je značilen večji delež preživelih sejančkov po tretiranju z omenjenima boleznima, kakor tudi za vse ostale sorte, ki veljajo za visoko odporne.

Moške rastline so pomemben del žlahtniteljskih programov, namenjenih razvijanju novih sort, z nadzorovanim in ciljno usmerjenim križanjem (Neve, 1991). Moški genotipi so ključnega pomena za doseganje večjega števila potomcev in višje srednje vrednosti (oz. bolj izražene odpornosti) preživelih sejančkov, kar je razumljivo, saj se moške rastline izbira na podlagi večjega števila socvetij, samega habitusa (npr. olistanost, oblika razrasti) in odpornosti na različne patogene in škodljivce. Po izračunanih deležih je med opazovanimi moškimi genotipi v križanjih najuspešnejši moški genotip 56/136 (53 % vseh preživelih sejančkov po selekcijah na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo, 64 % po selekciji na hmeljevo pepelovko in 83 % po selekciji na hmeljevo peronosporo). V programu žlahtnjenja je veliko odbranih ženskih rastlin, ki so potomci križanj s to moško komponento, kar potrjuje dobre lastnosti tega moškega križanca (neobjavljeno Čerenak, Arhiv IHPS, 2019).

Moški genotipi Prosto-Plevna, MM in MG, ki so uporabljeni v križanjih v obliki mešanice približno enakih količin peloda različnih moških rastlin, imajo visok koeficient variabilnosti in nizke srednje vrednosti po tretiranju s hmeljevo peronosporo, kar lahko povežemo z občutljivostjo večjega števila vključenih moških rastlin na obstoječi patogen. Za MIX1, MIX1, M2 in M2/137 (moški genotipi iz iste skupine kot je navedena v prejšnjem stavku) velja, da imajo srednje vrednosti vključenih sejančkov na posamezno kombinacijo križanja manjše ali enako 40, obstaja verjetnost, da je to morda povezano z manjšim številom socvetij. S križanjem dobimo nov vir različnih genov tudi za druge pomembne lastnosti, ki so potrebne za nastajanja novih sortnih materialov.

Superiorne kombinacije križanj smo izbrali na podlagi odstopanj od povprečnega števila preživelih sejančkov na kombinacijo križanja po selekciji s hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo. Število preživelih sejančkov po hmeljevi peronospori na kombinacijo križanja smo označili kot število vseh preživelih sejančkov po zaporednem tretiranju z omenjenima boleznima. Povprečna vrednost števila vseh preživelih sejančkov na kombinacijo križanja po selekcijah celotne preučevane populacije iz vseh opazovanih let žlahtnjenja je bila enaka 39. Kombinacije križanj, ki so imele večje število preživelih sejančkov od omenjene vrednosti smo združili v novo populacijo, ki je imela srednjo vrednost 51. Iz dane populacije smo nato izločili 223 različnih kombinacij križanj, ki so imeli enako ali več kot 51 vseh preživelih sejančkov. Z gotovostjo lahko trdimo, da ima kombinacija križanja z več potomci tudi več preživelih sejančkov. Problem pa

nastane, ko moramo kombinacijo križanja ovrednotiti in je sama srednja vrednost preživelih sejančkov premalo za oceno. Zaradi tega je smiselno upoštevati delež preživelih sejančkov po vsaki opravljeni selekciji na omenjeni bolezni. Ta je v našem primeru verjetno najbolj ustrezen pokazatelj odziva potomcev določene kombinacije križanja na patogen. S tem v zvezi smo določili povprečno mejo odstotkov preživelih sejančkov na opazovano lastnost in odstopanja od teh vrednosti v pozitivnem smislu označili kot superiorne kombinacije križanj. Tako smo dobili 55 superiornih kombinacij križanj z najvišjim deležem preživelih potomcev na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo, ki so predstavljene v preglednici 3.

Preglednica 3: *Superiorne kombinacije križanj, določene na podlagi deležev preživelih potomcev po tretiranjih s hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo*

♀ A × B ♂	Preživeli sejančki (%)	Sel. hl. pep	Sel. hl. per.	Preživeli sej.
		65*	72*	47*
'Admiral' × 24/80	93	72	66	
'Admiral' × 25/255	100	73	73	
'Aurora' × 272/93	75	77	58	
'Aurora' × 305/28	73	82	59	
'Aurora' × 284/113	82	86	70	
'Cascade' × 25/234	74	75	56	
'Dana' × 19058	83	98	81	
'Hallertauer Tradition' × 162/75	97	64	63	
'Hercules' × 57/238	76	78	59	
'Herkules' × Prosto	70	74	52	
'Magnum' × 21426	78	81	63	
'Northern Brewer' × 277/120	88	96	85	
'Nugget' × 55/252	66	72	48	
'Nugget' × 284/73	67	92	61	
'Nugget' × 75/122	91	86	78	
'Osvaldov klon' 72 × 56/136	66	86	56	
'Osvaldov klon' 74 × 272/93	77	83	64	
'Outeniqua' × M2/137	88	69	61	
S-AH/17 × Plevna	67	91	61	
S-AH/39 × 3/3	80	83	67	
S-AH/42 × 3/3	66	85	56	
S-AH/7 × Plevna	80	78	63	
S-AH/31 × 3/3	68	96	65	
'Sladek' × 49/116	85	85	72	
'Sladek' × 300/166	81	90	73	
'Wye Challenger' × 305/27	83	76	63	
'Žateški polurani červenjak' × 300/156	74	77	57	
A4/30 × 19058	82	73	59	

Nadaljevanje preglednice na naslednji strani

Nadaljevanje preglednice s prejšnje strani:

♀ A × B ♂	Preživeli sejančki (%)	Sel. hl. pep	Sel. hl. per.	Preživeli sej.
		65*	72*	47*
A4/30 × 21430	68	88	59	
A4/124 × 21340	83	86	71	
A11/175 × 25/234	71	94	66	
16/7 × 56/136	80	84	68	
16/7 × 119/8	71	77	55	
16/28 × 296/44	74	80	59	
16/28 × 19058	75	94	71	
20/27 × 141/109	73	73	54	
20/27 × 284/113	79	81	64	
20/27 × 310/48	77	83	64	
25/266 × Prosto	80	75	60	
25/278 × 271/9	94	82	77	
31/87 × 25/234	74	77	57	
35/158 × 24/80	65	78	51	
40/39 × 21343	78	74	58	
79/80 × 185/5	92	75	69	
124/33 × 305/34	90	78	70	
151/146 × 279/122	78	73	57	
174/58 × 305/27	88	92	81	
181/212 × 197/116	82	75	62	
221/83 × 213/16	88	71	63	
276/163 × 19058	90	78	71	
279/104 × O3U 3/2	76	75	58	
285/79 × 24/80	70	73	51	
285/79 × 310/48	74	74	55	
288/75 × 56/136	82	90	74	
312/78 × 284/113	70	96	67	

(Sel. hl. pep. – selekcija na hmeljevo pepelovko; Sel. hl. per. – selekcija na hmeljevo pepelovko; Preživeli sej. – delež vseh preživelih selekcioniranih sejančkov na omenjeni bolezni; * = povprečna meja odstotka preživelih sejančkov na opazovano lastnost)

4 ZAKLJUČEK

Potomstva zelo velikega števila različnih kombinacij križanj, ki so bila opravljena s ciljem oblikovanja genetsko variabilnih populacij, namenjenih za selekcijski proces, je bilo najpomembnejše merilo odpornosti na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo. Število potomcev posameznih križanj se je zelo razlikovalo in mnogo je bilo premajhnih, da bi jih lahko statistično ovrednotili. Zaradi zaporednega tretiranja z omenjenima boleznima ne moremo z gotovostjo trditi, da je večje število preživelih sejančkov po tretiranju s hmeljevo pepelovko neposredni vzrok za večje število preživelih sejančkov po tretiranju s hmeljevo peronosporo.

Velikost populacije je pomemben dejavnik pri klasični selekciji na omenjeni bolezni, saj z večjim številom sejančkov lahko realneje ocenimo odziv določene kombinacije križanja na dane patogene in pridemo do potencialno vrhunskih osebkov. S sistematično uporabo molekulskih markerjev, ob zanesljivih podatkih o genomski strukturi starševskih komponent, bo velikost populacije potomstev posameznih križanj verjetno manj pomembna, saj bo križanja možno bolje načrtovati in natančneje predvidevati genetsko ter genotipsko strukturo potomstev. Ko govorimo o današnji stopnji žlahtnjenja hmelja, je treba upoštevati, da so podatki o superiornih nosilcih alelov odpornosti na omenjeni bolezni še vedno zelo nepopolni.

Rekurentna selekcija omogoča akumulacijo tako alelov odpornosti kot tudi pozitivnih alelov, povezanih z gensko ekspresijo drugih gospodarsko pomembnih lastnosti. Iz ciklusa v cikel (oz. iz generacije v generacijo) se frekvenca pozitivnih alelov povečuje, tem pa tudi stopnja požlahtnjenosti. Za današnji genski material, ki se uporablja v žlahtnjenju hmelja, še vedno ne bi mogli z zanesljivostjo trditi, da je visoko 'požlahtnjen' in molekulsko natančno obdelan. Zaradi tega je velikost potomstev križanj še vedno ključnega pomena za uspeh selekcije in celotnega procesa žlahtnjenja. Žlahtnjenje hmelja tudi danes v veliki meri temelji na klasičnem fenotipskem vrednotenju posameznih osebkov. Pri enostavnejši dedovanih lastnostih, kamor spada tudi odpornost na omenjeni bolezni in s tem povezan odnos »gen-za-gen« (med hmeljem in patogenom), je fenotipsko vrednotenje sorazmerno enostavno in dokaj zanesljivo. Tudi tehnike vrednotenja so zelo dodelane. Povsem drugače je pri kompleksnih kvantitativnih lastnostih z nizko dednostjo.

Visoka variabilnost v potomstvih križanj ostaja še naprej zelo zaželeno, saj je na eni strani ključna za evolucijo vrste kot celote (in z njo povezanega ohranjanja biotske pestrosti ter dinamičnega prilagajanja stalnemu spreminjanju okolja), na drugi strani pa omogoča maksimalno genetsko cepitev in pojavljanje vrhunskih genotipov (rastlin), katerih frekvenca je običajno zelo nizka. V raziskavi je bilo izpostavljenih tudi nekaj superiornih maternih in očetnih komponent ter 55 najboljših kombinacij križanj, kar bi lahko predstavljalo zelo koristno in praktično informacijo za nadaljnje žlahtnjenje hmelja v smeri odpornih sort na hmeljevo pepelovko in hmeljevo peronosporo.

5 VIRI IN LITERATURA

- Bohanec B. Osnove rastlinske biotehnologije. Gensko spremenjena hrana. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: Ministrstvo za okolje, prostor in energijo, Združenje živilske industrije pri Gospodarski zbornici Slovenije. 2004; s. 1-28.
- Čerenak A., Jakše J., Kolenc Z., Škof S., Koutoulis A., Whittock S., Javornik B. Support of molecular approaches in classical hop breeding. 7th Congress of the Genetic Society of

- Slovenia and 7th Meeting of the Slovenian Society of Human Genetics. Genetic Society of Slovenia. Rogaška Slatina, 20.-23. september 2015. 2015; s. 11.
- Čerenak A., Kolenc Z., Sehur P., Whittcock S. P., Koutoulis A., Beatson R., Buck E., Javornik B., Škof S., Jakše J. New male Specific Markers for Hop and Application in Breeding Program. Scientific reports. 2019a; 9: 14223.
- Čerenak A., Košir I. J., Radišek S., Oset Luskar M., Gajšek H. Žlahtnjenje hmelja. Program dela za leto 2019b, Republika Slovenija, Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. 2019.
- Čerenak A., Kralj D., Javornik B. Compounds of essential oils as markers of hop resistance (*Humulus lupulus*) to powdery mildew (*Podosphaera macularis*). Acta agriculturae Slovenica. 2009; 93(3): 267-273.
- Darby P. The History of Hop Breeding and Development. Brewing and science. 2005; 121:94-112.
- Haunold A. Hop production, Breeding, and Variety Development in Various Countries. ASBC Journal. 1980. Dostopno na: http://www.agraria.com.br/extranet/arquivos/agromalte_arquivo/producao_de_lupulo_em_varios_paises_-_ing.pdf (6. 6. 2019).
- Hoerner G. R. The infection capabilities of hop downy mildew. J. Agric. Res. 1940; 61:334-334.
- Hmelj. Dostopno na: <https://www.ivr.si/rastlina/hmelj/#1526307026258-566d9114-be0b> (11. 4. 2019).
- Katalog sort hmelja IHPS. Dostopno na: <https://view.publitas.com/ihps-sihrb/the-legend-of-noble-aroma/page/8-9> (6. 10. 2019).
- Ivančič, A. Hibridizacija pomembnejših rastlinskih vrst. Maribor: Fakulteta za kmetijstvo. 2002; s. 69-85.
- Ivančič A. Osnove rastlinske hibridizacije. Maribor: Fakulteta za kmetijstvo. 2002; s. 170-171.
- Javornik B. Molekularne genetske raziskave hmelja. Hmeljarski bilten. 2005; 12: 71-77.
- Kozjak P., Javornik, B. Geni za odpornost proti škodljivim organizmom pri rastlinah. Acta agriculturae Slovenica. 2008; 91(1): 139-156.
- Neve R. A. Hops. London: Chapman and Hall, 1991.
- Leach J. E., Leung, H., Tisserat, N. A. Plant disease and resistance. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. 2014; 4: 360-374.
- Oset M., Čerenak A., Radišek S. Opisna sortna lista za hmelj 2009. Ljubljana: Republika Slovenija Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. 2009; 2: 6-7.
- Radišek S., Oset Luskar M. Bolezni in škodljivci hmelja. Hmelj od sadike do storžkov. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2012; s. 21-23.
- Radišek S., Čerenak A., Javornik B. Žlahtnjenje hmelja na odpornost na bolezni: Postopki in tehnike pri selekciji križancev. Hmeljarski bilten. 2007; 14: 5-10.
- Radišek S., Leskošek G., Rak Cizej M., Ferlež Rus A. Hmeljeva peronosora (*Pseudoperonospora humuli*): biologija, strategija varstva in osnove prognoze. Hmeljarski bilten. 2012; 19: 72-79.
- Rozman L., Možnosti in pomen žlahtnjenja rastlin na odpornost proti boleznim. Zbornik predavanj in referatov 6. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin. Zreče, 4.-6. marec 2003. 2003; s. 457-462.

- Slovenska sortna lista Hmelj. Dostopno na: https://www.gov.si/assets/organi-v-sestavi/UVHVVR/Rastlinski-semenski-material/Publikacija-Sortna-lista/SL_2019_splet.pdf (28.10.2019)
- Šuštar-Vozlič J., Čerenak A., Ferant N. Žlahtnjenje hmelja in hmeljni kultivarji. Priročnik za hmeljarje. Žalec: Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2002; s. 31-38.
- Wolfenbarger S. N., Massie S. T., Ocamb C., Eck E. B., Grove G. G., Nelson M. E., Probst C., Twomey M. C., Gent. D. H. Distribution and Characterization of *Podosphaera macularis* Virulent on Hop Cultivars Possessing R6-Based Resistance to Powdery Mildew. *Plant Disease*. 2016; 100(6):1212-1221.
- Woods J. L., Gent, D. H. Susceptibility of Hop Cultivars to Downy Mildew: Associations with Chemical Characteristics and Region of Origin. *Plant Health Progress*. 2016; 17(1): 42-48.