

Vážení pěstitelé,

v jednom z předcházejících vydání Šlechtitelských listů jsme psali o významu genetických zdrojů pro šlechtění rostlin.

V příspěvku Ing. Ladislava Dotlačila, CSc., z Výzkumného ústavu rostlinné výroby, Praha – Ruzyně bylo pojednááno o vnitrodruhové genetické diverzitě, která je mimo jiné nenahraditelným zdrojem genů pro šlechtění rostlin. Zdrojem této šlechtitelsky využívané genetické diverzity jsou v případě zemědělských plodin tzv. genetické zdroje tj. plané příbuzné druhy, krajové odrůdy, šlechtěné odrůdy a záměrně vytvářené genetické linie či populace.

Podle autora článku, při neustálém zvyšování produkce zemědělských plodin, jejich kvality a stability, dochází současně ke zvyšování zájmu šlechtitelů o genetické zdroje. Tento trend je umocňován mimořádně rychlým rozvojem biotechnologií, jejich aplikací při studiu genofondů a uplatnění ve šlechtění.

Rostoucímu zájmu o genetické zdroje odpovídá i celosvětové úsilí o jejich uchování, evidenci, hodnocení a zpřístupnění pro efektivní využívání ve šlechtění.

Česká republika patří, podle Ing. Dotlačila, CSc., v péči o genetické zdroje k předním evropským státům. Je to kromě dlouholeté tradice zásluha tzv. Národního programu konzervace a využívání genofondů rostlin, který je součástí komplexního Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství. V rámci tohoto programu pro využívání genofondu rostlin spolupracuje v České republice celkem patnáct pracovišť, která se specializují na různé rostlinné druhy.

V tomto vydání Šlechtitelských listů Vám příspěvkem pracovníků Výzkumného ústavu bramborářského v Havlíčkově Brodě přiblížíme práci s genofondem bramboru.

## UPLATNĚNÍ ČESKÉ GENOVÉ BANKY BRAMBORU VE VÝZKUMU A ŠLECHTĚNÍ

Jaroslava Domkářová, Vendulka Horáčková, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

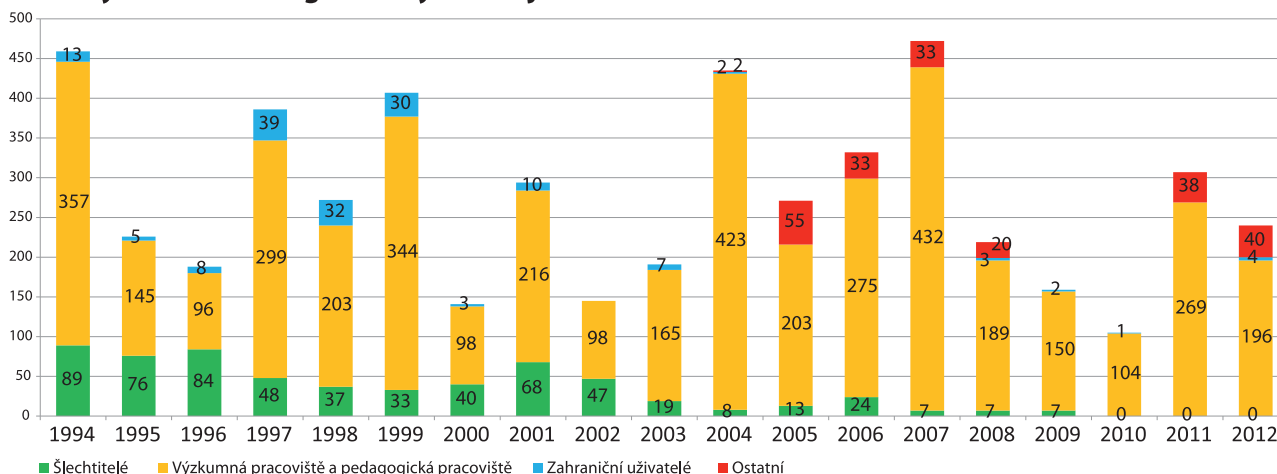
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., odpovídá v rámci Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity za práci s genetickými zdroji bramboru (*Solanum ssp.*). Práce s genofondy bramboru má na tomto pracovišti mnohaletou tradici, neboť probíhá bez přerušování již od roku 1952 a Výzkumný ústav bramborářský (VÚB) je jediným pracovištěm v České republice, které se touto problematikou zabývá.

Posláním banky genetických zdrojů bramboru je shromažďování a rozšiřování kolekce, dlouhodobé a spolehlivé uchování genofondu a jeho regenerace, systematické studium, hodnocení a charakterizace vzorků, dokumentace genetických zdrojů bramboru, mezinárodní spolupráce v oblasti genetických zdrojů bramboru a poskytování informací o udržovaném materiálu. Vzorky z genové banky se na vyžádání poskytují pro výzkumné, šlechtitelské a vzdělávací programy v ČR i v zahraničí. Vzorky jsou žadatelům poskytovány především ve formě rostlinek *in vitro*, nebo minihlízek z produkce ve skleníku.

Kolekce genofondu bramboru je dlouhodobě uchovávána a regenerována výhradně v kultuře *in vitro*. Postup dlouhodobé kultivace je založen na úpravě základních podmínek, které ovlivňují růst a vývoj rostlin (teplota, světelný režim, složení kultivačních médií) tak, aby došlo ke zpomalení růstu a ke stimulaci tuberizace *in vitro*. V bance *in vitro* je dlouhodobě uchováváno 2 439 vzorků, které reprezentuje 1 258 odrůd *Solanum tuberosum*, 478 tetraploidních kříženců *Solanum tuberosum*, 271 dihaploidů, 313 genotypů od 5 kulturních a 23 planých druhů a 119 mezidruhových hybridů rodu *Solanum*.

Za účelem hodnocení genetických zdrojů je vysazována polní studijní kolekce, která zahrnuje přípravnou a pracovní parcelu. Základní hodnocení vzorků probíhá podle schválené metodiky. V polních podmínkách je ročně hodnoceno 100 až 150 vzorků. Uživatelům genofondu bramboru jsou předávány informace o průběžném hodnocení vzorků a to formou dvou informativních přehledů a seznamu uchovávaných vzorků, s uvedením jejich zdravotního stavu.

## Poskytování vzorků genetických zdrojů bramboru v letech 1994–2012



Publikace poskytuje přehled o využívání genofundu v posledních letech a na několika příkladech je popsáno konkrétní, zejména výzkumné uplatnění genetických zdrojů bramboru při řešení výzkumných projektů ve VÚB i mimo něj.

V letech 1994 až 2012 bylo uživatelům poskytnuto celkem 5249 vzorků. Nejvíce genovou banku využívají výzkumná a univerzitní pracoviště, která obdržela 4262 vzorků a dále praktičtí šlechtitelé bramboru se 607 vzorky. Vzorky jsou rovněž předávány na tematicky zaměřené výstavy a do muzejních expozic, jednalo se o 221 vzorků. Zájemci ze zahraničí si vyžádali 154 vzorků.

V posledních letech dochází k intenzivnímu využívání planých druhů bramboru uchovávaných v genové bance *in vitro* a to jak v rámci účelového, tak i institucionálního financování rozvoje VÚB. Požadavky na zvýšení rezistencí, na změny technologických vlastností či zlepšení odolnosti při skladování vedou šlechtitele k hledání nových genetických zdrojů zmíněných vlastností. Vzhledem k poměrně jednostranné prošlechtělosti kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum*



Obr. 1: Výsadba planých druhů bramboru

bylo třeba obrátit pozornost k příbuzným, zpravidla planým druhům bramboru, kde lze předpokládat nalezení zdrojů požadovaných vlastností. Dosud byl využíván ve šlechtění moderních odrůd relativně malý okruh planých druhů, jednalo se především o druhy *S. demissum* (zdroj rezistence vůči plísni bramboru a vůči viru PLRV), *S. acaule* (PVX, PLRV, PSTV, rakovina bramboru, háďátko bramborové, mrazuvzdornost), *S. chacoense* (PVA, PVY, plíseň bramboru, mandelinka bramborová), *S. spengazzinii* (fuzáriová hniloba, rakovina bramboru, háďátko bramborové), *S. stoloniferum* (PVA, PVY) a *S. vernei* (háďátko bramborové). Příležitostně byly využity i druhy *S. microdontum*, *S. sparsipilum*, *S. verrucosum*, *S. phureja*, *S. tuberosum* subsp. *andigena*, *S. commersonii* a *S. maglia*.

Plané druhy byly využity v projektech NAZV QF 4108 „Využití techniky fúze protoplastů ve šlechtění hospodářsky významných plodin rodu *Brassica*, *Cucumis* a *Solanum*“ a QF 4107 „Tvorba výchozích šlechtitelských materiálů s geny horizontální rezistence k plísni bramboru“. Oba projekty byly koordinovány VÚB. Při řešení se uplatnily především plané druhy *S. verrucosum*, *S. pinnatisectum* a *S. bulbocastanum*. Materiály získané jak pomocí fúze protoplastů, tak klasickou mezidruhovou hybridizací byly předány do genové banky k uchování a v současné době jsou využívány k řešení výzkumu financovanému z institucionálních prostředků na rozvoj VÚB. Vybrané materiály jsou hodnoceny a připravovány pro řešení navazujících projektů.

Mezidruhová hybridizace je náročný postup, který je ovlivňován řadou faktorů, jako jsou ročník, intenzita kvetení, fertilita pylu, tvorba neredukovaných gamet, vzájemná nekřížitelnost (inkompatibilita) a další. Zvýšení účinnosti tvorby mezidruhových hybridů klasickými postupy je velmi obtížné a proto každý, touto cestou získaný mezidruhový hybrid s prověřenými

vlastnostmi je možno považovat za velmi cenný genetický zdroj využitelný v dalším šlechtění. Stejně tak jako materiály vytvořené fúzí protoplastů. Certifikované metodické postupy vzniklé v rámci těchto projektů „Metodika mitotické polyploidizace *in vitro* u rodu *Solanum*“ a „Metodika fúze protoplastů elektrickým polem u rodu *Solanum*“ jsou uživatelům dostupné na [www.vubhb.cz](http://www.vubhb.cz).

Genová banka je zdrojem pokusného materiálu pro aktuálně probíhající řešení projektu NAZV QT 91A069 (koordinátor JÚ České Budějovice) „Hodnocení potenciálu proteinů planých genotypů brambor pro využití ve šlechtění bramboru (*Solanum tuberosum* L.) a v biotechnologiích“. Cílem řešení je zmapování genotypové variability hlízových proteinů genových zdrojů planých druhů (*Solanaceae*), které jsou v genové bance k dispozici, jako rozhodujícího faktoru pro následné využití těchto genových zdrojů při šlechtění a tvorbě genotypů se zvýšeným obsahem hlízových proteinů se specifickými vlastnostmi. Charakteristika obsahu, struktury a vlastností vybraných proteinů v hlízách planých genotypů brambor dává předpoklad nalezení nových hlízových proteinů či specifických vlastností, které nebyly u kulturního druhu popsány a které jsou využitelné v řadě biotechnologických aplikací a v šlechtitelských programech. Ve VÚB je zajišťováno namnožení rostlin *in vitro* vybraných položek z genové banky, a to 23 planých druhů, 5 kulturních druhů a jejich klonů a 5 kontrolních odrůd. Proveden je převod do podmínek *in vivo* a dopěstování rostlin ve skleníku, ve vegetačních nádobách tak, aby bylo získáno dostatečné množství hlíz pro následné analýzy. Výzkum vlastností proteinů představuje nový trend ve využití rostlinné produkce a řešení projektu

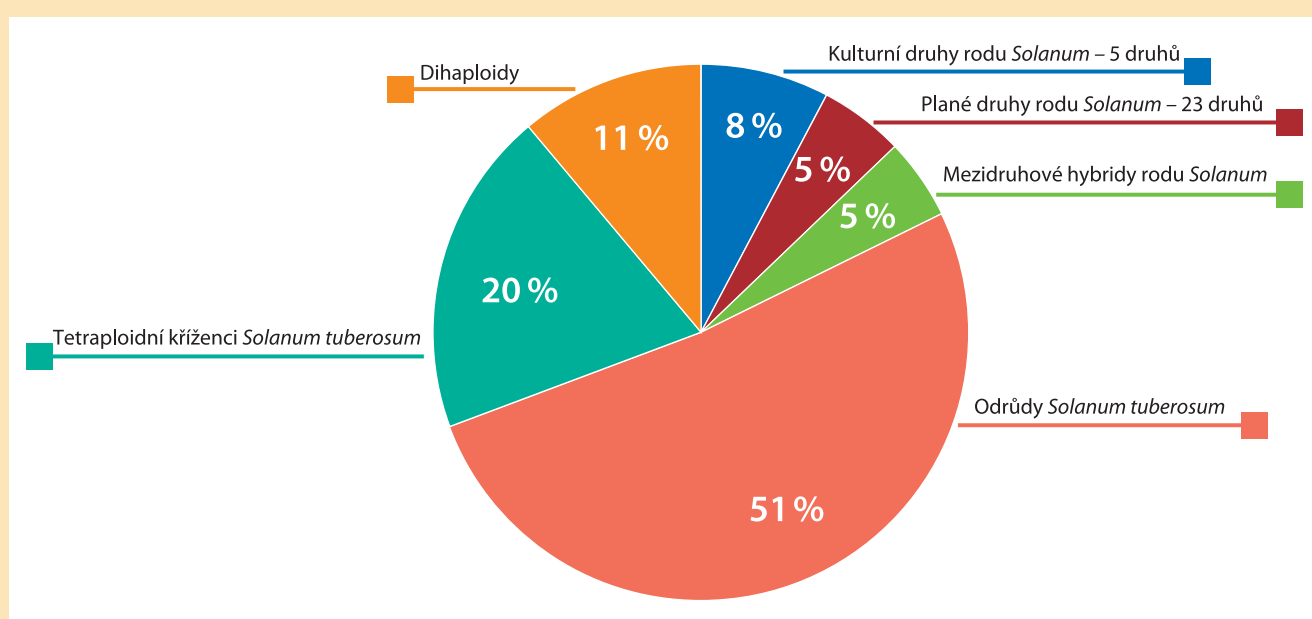
zajišťuje konkurenceschopnost s ostatními státy EU, kde výzkum v této oblasti probíhá a částečně jsou již připraveny šlechtitelské programy na zvýšení obsahu proteinů v hlízách kulturního bramboru.

Vybrané genotypy náležející k 16 diploidním a tetraploidním druhům rodu *Solanum* byly z genové banky bramboru poskytnuty pro řešení probíhající v rámci výzkumného záměru MSM 6046070901 „Setrvalé zemědělství, kvalita zemědělské produkce, krajinné a přírodní zdroje“ (koordinátor ČZU Praha). Pokusné materiály byly použity ke studiu vnitrodruhové a mezidruhové variability nekódujících oblastí mitochondriální DNA.

Kolekce *Solanum tuberosum* byla zdrojem odrůd s rozdílnou hladinou rezistence k obecné strupovitosti, které byly využity při řešení projektu MŠMT 2B 06188 „Zvýšení kvality konzumních brambor a jejich konkurenceschopnosti redukcí výskytu fytopatogenních bakterií rodu *Streptomyces*“ (koordinátor VÚRV Praha – Ruzyně). Rostliny z genové banky namnožené v tkáňové kultuře byly použity k rozpracování metodického postupu stanovení agresivity izolátů fytopatogenních *Streptomyces* umělou infekcí rostlin *in vitro* suspenzí testovaných izolátů. Test agresivity je součástí uplatněné certifikované metodiky: Pánková, I., Hausvater, E., Krejzar, V., Doležal, P.: Metodika stanovení rezistence odrůd bramboru k původcům aktinomycetové obecné strupovitosti a agresivity izolátů fytopatogenních *Streptomyces*. VÚB, Praktické informace č. 36., 2011.

Za účelem ověřování možností dalšího rozšíření odrůd pro speciální užití, které se vyznačují specifickými kulinárními vlastnostmi, nebo zdraví prospěšnými účinky, byl z genové banky bramboru poskytnut

### Podíl jednotlivých dlouhodobě udržovaných kategorií v genové bance bramboru *in vitro*



soubor vybraných genotypů. Vytvořena byla pracovní kolekce odrůd, která byla využívána jako výchozí materiál k pasážování *in vitro*, za účelem každoroční produkce bezvírové egalizované sadby pro založení polních pokusů na více lokalitách. Pracovní kolekce sloužila rovněž k přípravě materiálu pro laboratorní provokační testy odolnosti k plísni bramboru na rostlinách v kultuře *in vitro*. Na polních neošetřených parcelách byla hodnocena odolnost plísní v podmínkách přirozeného infekčního tlaku. Řešení probíhalo v rámci projektu NAZV QH 92110 „Využití brambor s barevnou dužninou jako alternativní plodiny se specifickou potravinářskou kvalitou“ (koordinátor ČZU Praha). Na závěr řešení byla zpracována certifikovaná metodika – Horáčková, V., Domkářová, J.: Metodika produkce bramboru s barevnou dužninou s využitím biotechnologických postupů. VÚB, Praktické informace č. 39, 2012.

Projekt NAZV QI 101A184 „Technologie pěstování brambor – nové postupy šetrné k životnímu prostředí“, který koordinuje VÚB, využívá v jedné části řešení genovou banku *in vitro*, jako zdroj netradičních odrůd s fialovou a červenou dužninou pro pěstování v ekologickém zemědělství. Prověřována je vhodnost odrůd z hlediska odolnosti plísní bramboru, tvorby výnosu, varných vlastností hlíz, obsahových látek, antioxidační kapacity a antinutričních glykoalkaloidů. Výsledky z ekologicky vedených pokusů jsou porovnávány s konvenční technologií pěstování, s cílem zjistit vliv genotypu a způsobu pěstování.

V genové bance je uložena řada genotypů se znárou úrovní odolnosti k plísni bramboru (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary). Tyto zdroje byly použity jako pokusný materiál při rozpracování biologického testu *in vitro* pro účely selekce náchylných materiálů vůči plísni bramboru. Řešení probíhalo v rámci projektu NAZV QF 4107 „Vývoj metod identifikace

a charakterizace donorů rezistence plísně bramborové v genofondu bramboru pomocí DNA markerů a biologického testu v *in vitro* podmínkách“. Metodický postup selekce je založen na umělé infekci rostlin *in vitro* sporovou suspenzí původce plísně bramboru a byl zpracován formou recenzované metodiky v řadě „Praktické informace VÚB.“ Na spoluřešitelském pracovišti z ČZU byla v rámci tohoto projektu zpracována „Metodika postupu charakterizace genetických zdrojů pro účely markery asistované selekce v procesu šlechtění bramboru“.

V rámci výzkumného záměru VÚB MSM6010980701 „Molekulární a technologické základy produkce kvalitních brambor“ byla vytvořena certifikovaná „Metodika detekce genů rezistence vůči *Globodera rostochiensis* a *Synchytrium endobioticum* v procesu šlechtění bramboru *Solanum tuberosum* pomocí DNA markerů“. Pro experimenty byly vybrány z genové banky početné velké soubory, především z kolekce odrůd bramboru, na základě uváděných popisů fenotypových projevů obou chorob.

Součástí genové banky je rovněž kolekce 140 odrůd vyšlechtěných v ČR v letech 1932–2013. Vzhledem k tomu, že se jedná o velmi cenný materiál, je jeho bezpečné zachování jistěno uložením v kryobance bramboru, která byla vytvořena ve VÚRV Praha – Ruzyně v rámci projektu NAZV QD 3039 „Založení kryobanky pro konzervaci vegetativních vrcholů bramboru a chmele“. Nejstarší české odrůdy jsou rovněž duplicitně uloženy v podmínkách *in vitro* ve VŠÚZ Velká Lomnice (Slovensko), v rámci reciproční spolupráce obou genových bank.

Kolekce genetických zdrojů bramboru je unikátním a nenahraditelným zdrojem genů a genových komplexů pro další genetické zlepšování biologického a hospodářského potenciálu nových odrůd, zároveň je i zárukou bezpečného uchování vzorků bramboru pro budoucí generace.

---

Článek byl zpracován s podporou Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství Č.j. 206553/2011-MZE-17253 Podprogram 1: Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity. Kolekce: Brambor a dále z finančních prostředků na rozvoj výzkumné organizace RO1012

---



Obr. 2: Různorodost v morfologii hlíz u bramboru