

PRÁCE S KOLEKCEMI GENETICKÝCH ZDROJŮ BRAMBORU

WORKING WITH POTATO GENETIC RESOURCE COLLECTIONS

Jiří PTÁČEK, Renata ŠVECOVÁ, Vendulka HORÁČKOVÁ, Jitka POSPÍCHALOVÁ,
Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

PTÁČEK, J. – ŠVECOVÁ, R. – HORÁČKOVÁ, V. – POSPÍCHALOVÁ, J. – DOMKÁŘOVÁ, J.

PRÁCE S KOLEKCEMI GENETICKÝCH ZDROJŮ BRAMBORU

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2025, 31: 7–22

V kolekci jsou shromážděny genetické zdroje bramboru (*Solanum* L.), které zahrnují:

- odrůdy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L.
- tetraploidní hybridy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L.
- kulturní druhy rodu *Solanum* L.
- plané druhy rodu *Solanum* L.
- dihaploidy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L. a diploidy
- tetraploidizované plané a kulturní druhy rodu *Solanum* L.
- mezidruhově hybridy rodu *Solanum* L.

Kolekce je uchovávána v *in vitro* podmínkách.

Podrobné informace o současné struktuře kolekce jsou dostupné na:

<https://grinczech.carc.cz/gringlobal/search.aspx>

genová banka

ÚVOD

V současné době je kolekce tvořena následujícími skupinami genetických zdrojů bramboru:

- **Odrůdy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L.**

Kolekce odrůd, vyšlechtěných ve 35 státech světa (počet vzorků v roce 2024 – 1416). Součástí je sbírka originálních odrůd domácího šlechtění, k roku 2024 ji tvoří 181 odrůd, což je 91,8 % dosud u nás vyšlechtěných a registrovaných odrůd. Z 34 zaregistrovaných odrůd v rozmezí let 1927 až 1950 je v genové bance 20 odrůd, navazující šlechtění od roku 1951 až do současné doby je kompletní. Celá kolekce odrůd domácího šlechtění prošla rozsáhlým ozdravováním od virové infekce a je plně viruprostá.

- **Tetraploidní hybridy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L.**

Soubor genotypů jak zahraničního původu (CIP, Peru), tak genotypů získaných zejména při výzkumném řešení problematiky rezistentního šlechtění ve VÚB a rovněž materiály z praktického novošlechtění. V této skupině je v roce 2024 celkem 552 položek.

- **Kulturní druhy rodu *Solanum* L.**

Soubor populací hlízotvorných, primitivních kulturních druhů bramboru s různou úrovní ploidie. Udržované kulturní druhy byly získány ze zahraničních genových bank ve formě *in vitro* rostlin nebo jako semenné populace. V roce 2024 je udržováno 6 kulturních druhů ve 198 položkách.

- **Plané druhy rodu *Solanum* L.**

Soubor populací planých druhů bramboru. Materiály byly získány ze světových kolekcí genetických zdrojů bramboru ve formě semenných vzorků. Plané druhy jako zdroj široké genetické diverzity jsou poskytovány jako experimentální materiály pro řešení výzkumných projektů na řadě pracovišť. V roce 2024 je udržováno 23 planých druhů ve 156 položkách.

- **Dihaploidy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L. a diploidy**

Sbírka indukovaných primárních a sekundárních dihaploidů, diploidů a mezidruhových hybridů a regenerantů z pylových embryí. Tyto materiály byly z velké části vyprodukovány v geneticko-šlechtitelském výzkumu VÚB, nebo byly získány výměnou s výzkumnými pracovišti v Německu a Polsku. Skupina je v roce 2024 tvořena 270 položkami.

- **Tetraploidizované plané a kulturní druhy rodu *Solanum* L.**

Soubor je tvořen 21 materiály z produkce VÚB, tetraploidní stav po mitotické polyploidizaci ($2n = 4x = 48$) potvrzen za použití průtokové cytometrie.

- **Mezidruhové hybridy**

Shromážděný materiál tvoří zejména hybridy s geny horizontální rezistence proti plísni bramboru získaného z CIP Peru ve formě semenných populací. V roce 2024 je uloženo 128 položek.

CÍLE A PRIORITY SPECIFICKÉ PRO KOLEKCI

Práce s kolekcí genetických zdrojů bramboru probíhá v několika na sebe navazujících krocích (cyklech). Jejich cílem je:

- shromažďování a systematické rozšiřování kolekce GZR bramboru se zaměřením na rezistence k patogenům a stresům, na kvalitu a hospodářsky významné znaky a vlastnosti bramboru
- dlouhodobé a spolehlivé uchovávání shromážděného genofondu bramboru a jeho regenerace, se zřetelem na vegetativní množení plodiny
- systematické studium, hodnocení a charakterizace položek zařazených do kolekce bramboru
- dokumentace GZR bramboru
- mezinárodní spolupráce v oblasti GZR bramboru
- poskytování GZR a informací o udržovaném genofondu domácím i zahraničním uživatelům.

ROZŠÍŘOVÁNÍ KOLEKCI O ZDROJE NOVÉ GENETICKÉ DIVERZITY

Kolekce bramboru je rozšiřována o položky GZR domácího i zahraničního původu získané na základě přímého kontaktování šlechtitelů. Jedná se zejména o nové odrůdy bramboru, případně šlechtitelské materiály. Odrůdy českého šlechtění jsou zařazovány do kolekcí v roce jejich registrace, se souhlasem majitele odrůdy přímo do řádné kolekce, protože pracoviště nevede pracovní kolekci. K rozšíření diverzity o specifické materiály, zejména plané a primitivní druhy bramboru, materiály se zvýšeným obsahem anthokyanu, odolností plísní bramboru, hádátku bramborovému apod. jsou využívány nabídkové katalogy zahraničních GB a bramborářských institucí ve světě. Z těchto zdrojů jsou rovněž získávány zpět starší odrůdy domácího původu, které v důsledku degenerace v opakované polní výsadbě (před zavedením uchovávání v podmínkách *in vitro*) v kolekci chybí. Významný podíl mezi udržovanými genetickými zdroji mají materiály získané při vlastním řešení výzkumných projektů s geneticko-šlechtitelskou problematikou. Shromážděné experimentální materiály představují širokou škálu donorů cenných znaků a vlastností, zejména rezistencí a specifických hospodářských znaků.

Evidence a dokumentace kolekcí

Všechna požadovaná data jsou evidována v informačním systému IS GRIN Czech. Při zařazení nové položky do kolekce představují základní údaje pasportní data, která obsahují informace blíže charakterizující konkrétní genotyp. Novému genetickému zdroji je přiděleno evidenční číslo národní. Další informace o GZR obsahují popisná data, která jsou získávána při hodnocení genetického zdroje vysazeného v polní studijní kolekci pro

hodnocení řádné kolekce. Hodnocen je komplex hospodářsky a šlechtitelsky důležitých znaků a vlastností, které jsou popisovány během vegetace a při mechanických a kvalitativních rozborech hlíz. Hodnocení a analýzy jsou prováděny s využitím Klasifikátoru pro genus *Solanum* L. (VIDNER *et al.*, 1987; VIDNER, 1992) a podle schválených metodik. Do IS GRIN Czech jsou vkládány tříleté průměry hodnocení, které jsou uvedeny ve stupnici podle jednotlivých deskriptorů, nejedná se o metrická data. Tyto hodnoty pro jednotlivé deskriptory klasifikátoru pro rod *Solanum* jsou zadávány do IS GRIN Czech.

Charakterizace a hodnocení genetických zdrojů rostlin v kolekcích bramboru

Metodické postupy používané k charakterizaci shromážděných genetických zdrojů bramboru odpovídají potřebám hodnocení vegetativně množené plodiny.

Jednak je využívána charakterizace pomocí 44 morfologických znaků hlíz, trsů, květů a především klíčku. Tyto znaky jsou součástí popisů jednotlivých GZR a vybrané znaky jsou dokumentovány obrazově.

Nově získané GZR jsou v laboratorním centru VÚB charakterizovány složením *hlízových proteinů metodou elektroforézy na polyakrylamidovém gelu* (PAGE), která vychází z metody používané německým Bundessortenamt (PAGE v Tris-borátovém pufru, Methode Bundessortenamt, 1993).

K charakterizaci vzorků je dále využíváno i *DNA markerů*. Metoda bude uplatněna zejména k:

- charakterizaci genetických zdrojů domácího původu
- identifikaci případných duplicit
- identifikaci vzorků po kryokonzervaci
- analýze donorů kvalitativních a kvantitativních znaků u cíleně vybíraných materiálů.

Pro analýzy je namnožen v kultuře *in vitro*, kdykoliv v průběhu roku, potřebný materiál v jednotné kvalitě, což umožňuje provádět charakterizaci vzorků mimo vegetační období. K detekci duplicitních položek, které se mohou v kolekci vyskytovat, je využito *metody náhodné amplifikace polymorfní DNA – RAPD*.

DNA je izolována pomocí kitu GenElute Plant Genomic DNA Miniprep kit (Sigma) z *in vitro* materiálu. V analýzách jsou použity dva dekamerní primery navržené dle POLZEROVÉ (2001) P72 a Hel7, které byly původně navrženy k identifikaci sortimentu domácích odrůd, ale splňují předpoklady k detekci duplicit. Dále je využito čtyř primerů OPX 01, OPX 04, OPX 09 a OPY 07 navržených dle COLLARES *et al.* (2004), které dohromady poskytují 39 polymorfních fragmentů a mohou být vzhledem k vysokému stupni polymorfismu efektivním nástrojem v eliminaci duplicitních položek.

Výsledky DNA analýz jsou elektroforeticky separovány v 1,5% agarózovém gelu při napětí 7 V.cm⁻¹ po dobu 120 minut a následně zdokumentovány pomocí Gel Doc 2000 Gel Documentation System (Bio-Rad).

Hodnoceny jsou morfologické znaky a komplex hospodářsky a šlechtitelsky důležitých znaků a vlastností. Jsou popisovány během vegetace a při mechanických a kvalitativních

rozborech hlíz za pomoci Klasifikátoru pro genus *Solanum* L. (VIDNER *et al.*, 1987; VIDNER, 1992). S využitím devítibodové bonitační stupnice je hodnoceno 44 morfologických a 11 hospodářských znaků a vlastností a popsána je úroveň odolnosti k 10 chorobám a škůdcům.

STUDIJNÍ KOLEKCE V TECHNICKÉM IZOLÁTORU

Za účelem hodnocení planých druhů, kulturních druhů, mezidruhových hybridů rodu *Solanum* je vysazována studijní kolekce v technickém izolátoru. Do výsadby jsou zahrnuty vybrané genotypy planých a kulturních druhů z *in vitro* podmínek GB bramboru. Ve skleníku s regulovanou teplotou se od každého genotypu vysadí rostliny do připravených sadbovačů. Po dostatečném vytvoření kořenového systému jsou rostliny přesazeny do nádob (4l zeminy), které jsou umístěny do technického izolátoru.

POLNÍ HODNOCENÍ KOLEKCE

Odrůdy, tetraploidní hybridy a dihaploidy kulturního druhu bramboru *Solanum tuberosum* L. jsou vysazovány do polní studijní kolekce, která představuje základní stupeň hodnocení. Výsadby zahrnují přípravnou a pracovní parcelu.

• Přípravná parcela

Do přípravné parcely jsou zařazovány nově získané, případně starší dosud nehodnocené genotypy. Je zde vyráběna egalizovaná sadba pro následnou výsadbu genotypů v pracovní parcele. Současně s egalizací nově získané sadby se provádí i egalizace srovnávacích odrůd, jejichž výběr je konzultován s pracovníky Hlavní odrůdové zkušebny ÚKZÚZ v Lípě u Havlíčkovy Brodu.

Rozsah výsadby: do 40 položek (počet hlíz podle možnosti, maximálně však 20 hlíz)

Hlízy jsou vysazovány do předem nashonkovaných řádků do sponu 75–29 cm, velikost jedné parcely je maximálně 2 x 10 hlíz. Příprava půdy a ošetřování během vegetace je prováděno podle zásad správné agrotechniky za využití zkrácené kultivace s použitím herbicidů proti plevelům. Je zabezpečena maximální ochrana proti plísni bramboru. Sklizeň je provedena po dozrání jednořádkovým vyorávačem.

Rozsah hodnocení: Popis morfologických znaků natě a hlíz, hodnocení energie počátečního růstu, vegetační doby, zdravotního stavu, vybraných hospodářských vlastností a rezistencí proti chorobám a škůdcům (celkem 65 hodnocených znaků).

• Pracovní parcela

V pracovní parcele je během 2 let dokončeno základní hodnocení hospodářsky a šlechtitelsky důležitých znaků a vlastností. Pro první rok hodnocení bude použita sadba z přípravné parcely, pro druhý rok pak přesadba z pracovní parcely.

Rozsah výsadby: do 80 položek po 20 hlízách

Hlízy jsou vysazovány do předem nashonkovaných řádků do sponu 75 x 29 cm, velikost jedné parcely je 2 x 10 hlíz. Příprava půdy a ošetřování během vegetace je prováděno podle zásad správné agrotechniky za využití zkrácené kultivace s použitím herbicidů proti plevelům. Je zabezpečena maximální fungicidní ochrana proti plísni bramboru a insekticidní proti přenosu viróz. Sklizeň je provedena po dozrání jednořádkovým vyorávačem.

Rozsah hodnocení: Hodnocení energie počátečního růstu, vegetační doby, zdravotního stavu, výnosu, vybraných hospodářských vlastností a rezistencí proti chorobám a škůdcům (celkem 65 hodnocených znaků).

● **Doplňkový pokus k pracovní parcele**

Hodnocení odolnosti proti plísni bramboru v nati.

Hodnocení polní odolnosti proti plísni bramboru v nati je prováděno ve tříletých zkouškách. Rozsah výsadby: do 120 položek po 5 hlízách.

Není prováděna ochrana proti plísni bramboru.

Rozsah hodnocení: Je hodnocen výskyt plísně bramboru v nati na parcele neošetřované fungicidy.

Při hodnocení položek zařazených do **základního hodnocení** bude použito následujících **metodických postupů**:

- Morfologický popis bude prováděn podle Klasifikátoru pro genus *Solanum* L. (VIDNER *et al.*, 1987)
- Testování výskytu viróz: metoda DAS–ELISA (Clark, Adams, 1977) s modifikacemi podle DĚDIČE a NOHEJLA (1985)
- Obsah škrobu polarimetricky podle Ewerse (DAVÍDEK *et al.*, 1977)
- obsah sušiny: vázkově sušením při 105 °C do konstantní váhy (ŠTAMPACH a BLECHA, 1955)
- Obsah bílkovin: metodou podle Kjeldahla (DAVÍDEK *et al.*, 1977)
- Obsah redukcujících cukrů: metoda podle Zuff-Schoorla (DAVÍDEK *et al.*, 1977)
- Fertilita pylu: metoda barvení pomocí jodu (FRČEK, 1988)
- Stolní hodnota hlíz: podle ČSN 46 22 11
- Vhodnost k výrobě lupínků standardní metoda EAPRu (ANONYM, 1977), barva podle barevné škály IBVL Wageningen

Každoročně jsou na základě dvou až tříletého hodnocení zpracovány průměrné výsledky hodnocení a předávána popisná data v následujícím rozsahu deskriptorů:

● **Morfologický popis**

Podle „Klasifikátoru pro genus *Solanum* L.“ (VIDNER *et al.*, 1987)

Deskriptor: rostlina – typ trsu, rostlina – tvar trsu, rostlina – výška, stonek – vzpřímenost, stonek – větvení, stonek – tloušťka, stonek – barva, stonek – počet na rostlinu, list – tvar, list – počet párů základních lístků, list – tvar bočních lístků, list – zpeření druhého řádu, list – členitost, list – srůstání vrcholových lístků, list – povrch, list – velikost, list – barva, list – lesk, květenství – postavení článku květní stopky, anthokyanová barva článku květní stopky, výskyt dvoukorunky, květenství – průměr květu, květenství – barva korunky, květenství – projev, květenství – shazování poupat, bobule – počet na rostlinu, růst – počáteční rychlost, vegetační doba, hlíza – tvar, hlíza – zploštělost, hlíza – vyrovnanost tvarem, hlíza – velikost, vyrovnanost ve velikosti, hlíza – vzhled, hloubka oček, vzhled slupky, barva slupky, rozdělení barvy, barva dužniny, barva klíčků, odění klíčků.

● **Fertilita pylu**

Metoda barvení pomocí jodu (FRČEK, 1988)

Deskriptor: fertilita pylu

● **Odolnost plísni bramboru**

Vizuální hodnocení

Deskriptor: plíseň bramboru

● **Testování výskytu viróz**

Metoda DAS–ELISA (CLARK a ADAMS, 1977) s modifikacemi podle DĚDIČE a NOHEJLA (1985)

Deskriptor: virus svinutky bramboru, virus A, virus Y, virus X, virus S, virus M

● **Výnos**

Vážením a přepočítáním

Deskriptor: porost. výnos hlíz, neopakované hodnocení k standardu

● **Vizuální stanovení výskytu chorob a vad na hlízách**

Deskriptor: strupovitost, vložkovitost hlíz, plíseň bramboru, hlíza - deformace

● **Stolní hodnota hlíz**

Podle ČSN 46 22 11

Deskriptor: hlíza – stolní hodnota, dužnina – stolní jakost, tmavnutí po uvaření, hlíza – chuť

● **Obsah škrobu**

Polarimetricky podle Ewerse (DAVÍDEK *et al.*, 1977)
Deskriptor: obsah škrobu

● **Obsah sušiny**

Vázkově sušením při 105 °C do konstantní váhy (ŠTAMPACH a BLECHA, 1955)
Deskriptor: obsah sušiny

● **Obsah bílkovin**

Metodou podle Kjeldahla (DAVÍDEK, *et al.*, 1977)
Deskriptor: obsah bílkovin

● **Obsah redukujících cukrů**

Metoda podle Zuff-Schoorla (DAVÍDEK *et al.*, 1977)
Deskriptor: hlavní využití

● **Vhodnost k výrobě lupínků**

Standardní metoda EAPRu (ANONYM, 1977),
Barva podle barevné škály IBVL Wageningen
Deskriptor: hlavní využití

**REGENERACE GENETICKÝCH ZDROJŮ BRAMBORU
PRO POTŘEBY KONZERVACE**

Při původním polním vedení kolekce GZR bramboru (do roku 1985) docházelo v důsledku přirozeného infekčního tlaku virových chorob k výraznému zhoršování zdravotního stavu a vysokému riziku úplné ztráty vzorků. Rozvoj rostlinných explantátových technik umožnil přejít od polního vedení kolekcí k udržování a množení v laboratorních podmínkách pomocí tkáňové kultury *in vitro*.

Po roce 1985 byly veškeré shromážděné vzorky postupně převáděny do sterilního prostředí a polní vedení kolekcí bylo plně nahrazeno udržováním a množením v laboratorních podmínkách pomocí tkáňové kultury (HORÁČKOVÁ a DOMKÁŘOVÁ, 2003, 2004, 2005). Rozpracován byl postup dlouhodobé kultivace *in vitro*, který umožňuje časově prakticky neomezené skladování širokého spektra vzorků s minimálními nároky na skladovací prostory a s možností namnožení identických jedinců kdykoliv během roku. Regenerační pasáž na nová média je prováděna po 14–18 měsících pomocí rašících mikrohlízek po období dormance, nebo přežívajících segmentů stonku, případně zelených zbytků původních rostlin. Prvním krokem regenerace vzorků je jedna až dvě subkultivace na základním médiu, pak opětovná pasáž na média pro dlouhodobou kultivaci *in vitro* a cyklus se opakuje

(HORÁČKOVÁ a DOMKÁŘOVÁ, 2004). Jednotlivé fáze regenerace vzorků bramboru jsou uvedeny v následujícím schématu. V závislosti na udržovaném materiálu se může projevit jistá variabilita růstové reakce, a to jak kladná, tak záporná. Proto je nutná průběžná kontrola a v případě potřeby i dřívější regenerační pasáž.

Schéma regenerace a dlouhodobé kultivace genetických zdrojů bramboru *in vitro*:

Kultivační fáze	Kultivační režim	Stav kultury	Délka kultivační fáze
1.	20 °C fotoperioda: 16 hod. světlo, 8 hod. tma	regenerující řízký	2 týdny
2.	10 °C fotoperioda: 10 hod. světlo, 14 hod. tma	rostliny nasazující mikrohlízky	4–6 měsíců
3.	10 °C fotoperioda: 10 hod. světlo, 14hod. tma	zasychající stoněk dormantní mikrohlízky	4–5 měsíců
4.	10 °C fotoperioda: 10 hod. světlo, 14 hod. tma	rašící mikrohlízky, mikrohlízky s výhonem, zbytky stonků schopných řízkování	6–7 měsíců
Celková délka cyklu:			14–18 měsíců

KONZERVACE GENETICKÝCH ZDROJŮ BRAMBORU

Konzervace GZR bramboru je výhradně prováděna na úrovni tkáňové kultury postupem, který umožňuje dlouhodobé uchovávání vzorků.

Uplatněním kultury *in vitro* se významně rozšířily možnosti využívání genetických zdrojů, vytvořily se podmínky pro aktivní ozdravování vzorků od virové infekce, včetně detekce virů a podstatně se usnadnila mezinárodní výměna uchovávaných materiálů (HORÁČKOVÁ a DOMKÁŘOVÁ, 2018).

Kultivační postup je složen z několika na sebe navazujících kroků, které vychází z explantátových technik a využívají diagnostických laboratorních metod. Jedná se o převody vzorků bramboru do *in vitro* a vytvoření aseptických kultur, testování zdravotního stavu na přítomnost běžných virů bramboru v kultuře *in vitro* a v prostředí *in vivo*, aktivní ozdravování od virových chorob v kultuře *in vitro*, uchovávání bezvirových vzorků v režimu dlouhodobé kultivace, regenerační pasáž vzorků a příprava vzorků pro uživatele (HORÁČKOVÁ a DĚDIČ, 2009).

POSTUP DLOUHODOBÉ KULTIVACE GENETICKÝCH ZDROJŮ BRAMBORU:

• Aseptický převod do prostředí *in vitro*

K převodu do kultury *in vitro* se odebírají především klíčky hlíz a stonkové segmenty skleníkových nebo polních rostlin. Použít lze i přímo výsev semen na agar, což je využíváno především u špatně klíčících semen planých druhů.

Na odstranění vnitřních kontaminací, které mají původ v cévních svazcích převáděného segmentu a přetrvávají i po povrchové sterilizaci, se používá krátkodobá, případně opakovaná kultivace na půdách s antibiotiky (např. gentamycin, rifampicin, ampicilin, PPM). Po dosažení nekontaminované kultury jsou vzorky otestovány ve vstupním testu na přítomnost běžných virů bramboru. Použita je imunoenzymatická metoda ELISA. V případě nálezu virové infekce podstoupí materiál aktivní terapii na odstranění virů v kultuře *in vitro*.

• Ozdravování od virové infekce v kultuře *in vitro*

Eradikace běžných virů bramboru (PVS, PVM, PVY, PVA, PVX, PLRV) se provádí vždy před uložením vzorků do kolekce GB bramboru. Využívá se jednak klasická technika ozdravování, spočívající v kombinaci termoterapie rostlinného materiálu v kultuře *in vitro* (37 °C po dobu 6 týdnů), s následným odběrem primárních meristémů. Metoda využívá efektu klesající koncentrace virů směrem k vegetativnímu vrcholu a inhibice reprodukce a šíření virů v důsledku termoterapie. Postup je vhodný zejména v případě eliminace viru svinutky (PLRV), viru Y (PVY) a viru A (PVA).

V případě, že se jedná o odstranění viru X (PVX), viru M (PVM) a velmi rozšířeného latentního viru S (PVS), je využita metoda chemoterapie *in vitro* za využití virostatického preparátu Ribavirin (syntetický ribosid na bázi purinu), penetrovaného do rostlin přes živná média (HORÁČKOVÁ, 1998; HORÁČKOVÁ *et al.*, 2010).

Úspěšnost eliminace je testována imunoenzymatickou metodou na rostlinách *in vitro* a v opakovaném testu na rostlinách ze skleníku. Časový interval pro dosažení ozdravených klonů se, v závislosti na druhu odstraňovaného viru, pohybuje mezi 8 až 12 měsíci (HORÁČKOVÁ *et al.*, 2007).

KULTIVAČNÍ MÉDIA PRO DLOUHODOBÉ UDRŽOVÁNÍ

Využíváno je živné médium MS (MURASHIGE a SKOOG, 1962) s agarem, bez růstových regulátorů, ve třech modifikacích. V prvním případě je základní MS médium doplněno zvýšenou dávkou sacharózy (6 %), která působí jako osmotikum a energetický zdroj, který pozitivně ovlivňuje tuberizaci *in vitro*. Ve druhém případě je zvýšený obsah sacharózy kombinován s růstovým retardantem Alar 85 (dimetylhidrazid kyseliny jantarové) v dávce 5 mg/l, působícím na prodloužení periody růstu před nasazením mikrolízek a na

stimulaci jejich tvorby. Ve třetím médiu je základní obsah sacharózy (3 %) doplněn zvýšenou dávkou Alaru 85 (30 mg/l).

DLOUHODOBÉ UDRŽOVÁNÍ V GENOVÉ BANCE *IN VITRO*

Postup dlouhodobé kultivace je založen na ovlivnění základních růstových a vývojových podmínek působením faktorů stresové povahy, které vedou ke zpomalení růstu a stimulují tuberizaci *in vitro*. Účinným impulzem tuberizace je úprava složení živného média, použitím zvýšené dávky sacharózy a retardantu růstu Alaru 85. Na zpomalení růstu působí změny ve fyzikálních podmínkách během kultivačního procesu, a to nižší teplota, zkrácená fotoperioda a snížená intenzita osvětlení.

Do režimu GB *in vitro* jsou ukládány vyvíjející se rostliny a jejich další kultivace probíhá v chladových podmínkách při snížené, ale vitální teplotě (10 °C), při krátké délce světelného dne (10 hod.) a při nižší intenzitě osvětlení (40 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$), což ovlivňuje rychlost diferenciace rostlinných orgánů.

Regenerační pasáž na nová média je prováděna po 14–18 měsících pomocí vytvořených mikrolízek - nejlépe rašících mikrolízek po periodě dormance, nebo přežívajících zelených zbytků původních rostlin. Prvním krokem regenerace vzorků je jedna až dvě subkultivace na základním médiu, pak opětovná pasáž na média pro dlouhodobou kultivaci *in vitro* a cyklus se opakuje. V závislosti na udržovaném materiálu se může projevit jistá variabilita růstové reakce. Proto je nutná průběžná kontrola, neboť některé udržované genotypy (např. dihaploidy, plané druhy apod.) vyžadují individuální přístup a pasážování na nová média je třeba provést po kratší době (10–14 měsíců).

V případě požadavku se u vybraného genotypu mohou kdykoliv v průběhu roku použít živé části uchovávané kultury k pasážování na množící médium MS a materiál je připraven k dalšímu využití.

TESTOVÁNÍ NA PŘÍTOMNOST ŠKODLIVÝCH ORGANISMŮ

Směrnice EU vyžadují, aby byl rostlinný materiál druhu *Solanum* L., tvořící stolony nebo hlízy, včetně jeho hybridů, pokud je využíván jako genetický zdroj, podroben testování na přítomnost karanténních škodlivých činitelů (Horáčková *et al.*, 2004; Horáčková *et al.*, 2018).

Nové položky vkládané do Genové banky *in vitro* jsou otestovány na přítomnost běžných virových chorob na závěr procesu ozdravování. Pokud nově získaný materiál není nutné ozdravovat, provede se test ELISA před vložením do řádné kolekce hned po převodu do *in vitro* kultury.

Dalším parametrem, který musí uchovávané položky v kultuře *in vitro* splňovat, je diagnosticky prověřená nepřítomnost karanténních bakterií *Clavibacter sepe-donicus* – původce bakteriální kroužkovitosti bramboru a *Ralstonia solanacearum* – původce hnědé hniloby

bramboru. Cílem je přerušení možného vertikálního šíření patogenů. Detekci obou karanténních bakterií zajišťuje Laboratorní centrum VÚB v akreditované laboratoři, pomocí standardního imunofluorescenčního testu (IF PP3) a podle modifikovaného pracovního postupu testu PP3. IF test dle metodik EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 39, 413–416. Metodika, týkající se metody pod číslem PM 7/97. Odkaz: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2338.2009.02344.x> Probíhá jak testování nově získaných genetických zdrojů bramboru, tak v interním programu VÚB - Revitalizace Genové banky *in vitro* postupné dotestování položek staršího data vložení do řádné kolekce.

Nejdůležitější položky GB bramboru jsou uloženy v bezpečnostní duplikační kryo kolekci (CARC Ruzyně).

POSKYTOVANÉ SLUŽBY UŽIVATELŮM

Uživatelům z ČR i ze zahraničí (GB, šlechtitelská a výzkumná pracoviště a školy) jsou na základě vyžádání na základě SMTA poskytovány vzorky, a to převážně rostlinky z GB *in vitro*, výjimečně hlízové vzorky z řádné polní studijní kolekce (výstavy).

Uživatelům jsou rovněž poskytovány údaje o udržovaných a hodnocených vzorcích formou následujících informačních přehledů a publikací:

- Seznam kolekce GZR *in vitro*
- Genofond bramboru – Jednoleté informativní výsledky z polní studijní kolekce genofonu bramboru
- Polní studijní kolekce genofonu bramboru

Poskytování vzorků uživatelům je evidováno v informačním systému GRIN Czech.

DOMÁCÍ A MEZINÁRODNÍ SPOLUPRÁCE

Domácí spolupráce probíhá mezi pracovištěm VÚB Havlíčkův Brod a šlechtitelskými firmami (Sativa Keřkov, a.s., Selekt Pacov, a.s., Vesa Velhartice, šlechtění a množení brambor, a.s.) a s referátem ÚKZÚZ pro brambory v Lípě u Havlíčkova Brodu. Zaměřená je především na získávání vzorků a recipročním poskytování popisných dat. Referátu pro brambory jsou rovněž poskytovány referenční odrůdy bramboru.

Rovněž již tradičně probíhá spolupráce se Skanzenem Veselý Kopec a Českým bramborářským svazem při poskytování vzorků a zajišťování expozic bramboru.

Zahraniční spolupráce je zaměřena především na aktivní činnost v rámci pracovní skupiny pro brambory v rámci programu ECPGR. Pracovní priority skupiny je možno shrnout do následujících bodů:

- Poskytování pasportních a popisných dat do databází
- Ozdravování, regenerace gZR bramboru
- Konzervace gZR bramboru
- Bezpečnostní duplikační kolekce jiného státu (slovensko, slovinsko)
- Bezpečnostní duplikační kolekce na slovensku (38 položek)
- Charakterizace potenciálních genetických zdrojů z hlediska kvalitativních znaků a rezistence vůči chorobám
- Racionalizace kolekcí brambor
- Ostatní výzkumné aktivity.

Pracoviště VÚB Havlíčkův Brod je aktivně zapojeno do poskytování pasportních a popisných dat do The European Cultivated Potato Database (v předešlých letech předáno 944 pasportních a 70 popisných dat) a The Database for Related Solanum species (v předešlých letech předáno 216 pasportních dat).

VÚB Havlíčkův Brod udržuje bezpečnostní duplikaci v *in vitro* podmínkách vzorků slovenského původu pro VÚRV Piešťany (položky bývalého Výzkumného a šlechtitelského ústavu zemiakarského Veľká Lomnica. (45 položek) a pro Agrculture Institute of Slovenia (8 položek).

VÚB Havlíčkův Brod je přidruženým členem v rámci projektu AEGIS, kde je vyznačeno 172 vzorků domácího původu.

SPECIFICKÉ A TRVALE ZAJIŠŤOVANÉ AKTIVITY

Původní odrůdy českého šlechtění představují velmi cenný materiál, proto je jejich bezpečné zachování jištěno uložením v kryobance, která byla vytvořena v CARC, v rámci projektu NAZV QD 3039 (2003 – 2007) „Založení kryobanky pro konzervaci vegetativních vrcholů bramboru a chmele“.

V kryo GB CARC Praha Ruzyně je uloženo 114 položek bramboru.

LITERATURA

- ANONYM (1977): Methods of assessment for potatoes and potato products. European Association for Potato Research, 68.
- CLARK, M. F. – ADAMS, A. M. (1977): Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Gen. Virol.*, 34: 475–483.
- COLLARES, E. A. S. – CHOER, E. – PEREIRA, A. S. (2004): Characterization of potato genotypes using molecular markers. *Pesq. agropec. bras.*, 39(9): 871–878.
- DAVÍDEK, J. (1977): Laboratorní příručka analýzy potravin. Praha: SNTL. 718 s.
- DĚDIČ, P. – NOHEJL, J. (1985): Racionalizace metod diagnózy virů brambor. Úsek B. Imunoenzymatická diagnóza virů brambor. Závěrečná zpráva. Havlíčkův Brod: VÚB.
- FRČEK, J. (1988): Nepřímá metoda pro stanovení fertility pylu odrůd bramboru *Solanum tuberosum* L. *Genetika a šlechtění*, 24: 85–86.
- HORÁČKOVÁ, V. (1998): Eliminace viru S bramboru chemoterapií *in vitro* za použití ribavirinu. *Rostlinná výroba*, 44(12): 539–544.
- HORÁČKOVÁ, V. – DĚDIČ, P. (2008): Metodika přípravy bezvirových materiálů v novošlechtění a udržovacím šlechtění bramboru s využitím biotechnologických a virologických postupů. Uplatněná metodika. Havlíčkův Brod: VÚB. ISBN 978-80-86940-22-9.
- HORÁČKOVÁ, V. – DĚDIČ, P. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2007): Ozdravování bramboru od virové infekce technikami *in vitro*. *Úroda*, 55(7): 54–57.
- HORÁČKOVÁ, V. – DĚDIČ, P. – PTÁČEK, J. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2004): Program revitalizace a valorizace genové banky bramboru *in vitro*. *Úroda*, 52(12): 31–33.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2003): Biologický potenciál genofondu bramboru udržovaného v genové bance *in vitro*. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 14: 87–101.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2004): Konzervace a využití genetických zdrojů bramboru. *Úroda*, 52(8): 26–28.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2005): The Czech bank of potato genetic resources. *Czech J. Plant Breed.*, 41(3): 117–119.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2013): *In vitro* potato gene bank in the Czech Republic. In: POLGÁR, Z. (ed.): Abstract book of EAPR – EUCARPIA Congress „The challenges of improving both quality and resistance to biotic and abiotic stresses in potato“, June 30–July 4, 2013, Hévíz, Hungary. Keszthely: University of Pannonia: 37. ISBN 978-615-5044-83-0.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2012): Metodika produkce bramboru s barevnou dužninou s využitím biotechnologických postupů. Havlíčkův Brod: VÚB. Praktické informace č. 39. (osvědčení č.194–13/KÚ/UKZU/2012).
- HORÁČKOVÁ, V. – DĚDIČ, P. – FALTUS, M. (2010): Využití tkáňových kultur pro eliminaci virové infekce bramboru. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 18: 85–96.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2018): Kolekce bramboru uchovávaná v genové bance *in vitro* a její genetický potenciál. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 24: 23–36.
- HORÁČKOVÁ, V. – PÁNKOVÁ, I. – KOPAČKA, V. – KREJZAR, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2018): Biotechnologické postupy při produkci zdravé sadby bramboru a vícestupňová kontrola bakteriální kroužkovitosti. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 24: 37–44.
- HORÁČKOVÁ, V. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2018): Využití tkáňových kultur k uchovávání kolekce genetických zdrojů bramboru a k eradikaci virové infekce. In: *Genetické zdroje rostlin – moderní technologie konzervace a hodnocení*. Praha: Ministerstvo zemědělství: 9–15.

- MURASHIGE, T. – SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473–497.
- POLZEROVÁ, H. (2001): The use of molecular genetic techniques to potato variety identification. *Rostlinná výroba*, 47: 482–487.
- ROCA, W. M. – BRYAN, J.E. – ROCA, M.R. (1979): Tissue culture for the international transfer of potato genetic resources. *Amer. Potato J.*, 56: 1–11.
- SEDLÁKOVÁ, V. – SEDLÁK, P. – DOMKÁŘOVÁ, J. – HORÁČKOVÁ, V. (2010): Studium variability nekódujících oblastí mitochondriální DNA u vybraných genových zdrojů rodu *Solanum*. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 18: 53–62.
- ŠTAMPACH, S. – BLECHA, A. (1955): *Jakost brambor*, Praha: SZN. 422 s.
- VIDNER, J. – DOBIÁŠ, K. – KONRÁD, J. *et al.* (1987): *Klasifikátor – genus Solanum L.* Havlíčkův Brod: VŠÚB; Praha: VÚRV.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla díky Národnímu programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity MZE-62216/2022-13113/6.2.3.

PTÁČEK, J. – ŠVECOVÁ, R. – HORÁČKOVÁ, V. – POSPÍCHALOVÁ, J. – DOMKÁŘOVÁ, J.
WORKING WITH POTATO GENETIC RESOURCE COLLECTIONS

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2025, 31: 7–22

The collection contains genetic resources of potato (*Solanum* L.), which include:

- varieties of the cultivated potato species *Solanum tuberosum* L.
- tetraploid hybrids of the cultivated potato species *Solanum tuberosum* L.
- cultivated species of the genus *Solanum* L.
- wild species of the genus *Solanum* L.
- dihaploidy of the cultivated potato species *Solanum tuberosum* L. and diploids
- tetraploidized wild and cultivated species of the genus *Solanum* L.
- interspecific hybrids of the genus *Solanum* L.

The collection is stored *in vitro*.

Detailed information on the current structure of the collection is available at:

<https://grinczech.carc.cz/gringlobal/search.aspx>

gene bank

Kontakt:

RNDr. Jiří PTÁČEK, CSc.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Dobrovského 2366

580 01 Havlíčkův Brod

Česká republika

tel.: +420 569 466 244

e-mail: ptacek@vubhb.cz

