

# VĚDECKÉ PRÁCE

VÝZKUMNÝ ÚSTAV BRAMBORÁŘSKÝ  
HAVLÍČKŮV BROD

30  
2024

Vydal: Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r. o.,  
Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod.

Grafická úprava a sazba Jiří Trachtulec.

Rok vydání: 2024.

Počet stran: 64.

Náklad: 40 kusů.

**ISBN 978-80-88614-08-1**

**ISSN 3029-7702**

# VĚDECKÉ PRÁCE

VÝZKUMNÝ ÚSTAV BRAMBORÁŘSKÝ  
HAVLÍČKŮV BROD

**30**

**SCIENTIFIC STUDIES – 30**

Potato Research Institute Havlíčkův Brod,  
Czech Republic

**WISSENSCHAFTLICHE ARBEITEN – 30**

Institut für Kartoffelforschung Havlíčkův Brod,  
Tschechische Republik

**НАУЧНЫЕ ТРУДЫ – 30**

Научно-исследовательский институт картофеля Гавличкув Брод,  
Чешская республика

Výzkumný ústav bramborářský  
Havlíčkův Brod  
2024

Vědecké práce

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod – 30

**Editor:**

RNDr. Jiří Ptáček, CSc.

**Redakční rada:**

Prof. RNDr. Jiří Fajkus, CSc.

Ing. Václav Čermák

Ing. Josef Králíček

RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

*Příspěvky byly recenzovány redakční radou.*

© Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024

## OBSAH

PTÁČEK, J. – ŠVEC OVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

<b>THE UTILIZATION OF MOLECULAR MARKERS IN RECENT YEARS AT SELECTED INTERSPECIFIC HYBRIDS OF <i>SOLANUM</i> SPECIES.....</b>	<b>9</b>
<b>VYUŽITÍ MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ V POSLEDNÍCH LETECH U VYBRANÝCH MEZIDRUHOVÝCH HYBRIDŮ DRUHŮ <i>SOLANUM</i></b>	

---

LITSCHMANN, T. – DOLEŽAL, P. – HAUSVATER, E. – SEDLÁK, P. – SEDLÁKOVÁ, V.

<b>VLIV PRŮBĚHU TEPLOT VE VEGETACI NA VÝSKYT ALTERNARIOVÝCH SKVRNITOSTÍ U BRAMBOR.....</b>	<b>19</b>
<b>THE EFFECT OF TEMPERATURE PROGRESS IN VEGETATION ON EARLY BLIGHT OCCURRENCE IN POTATOES</b>	

---

PTÁČEK, J. – TRNĚNÝ, O. – KLIČKA, V. – ŠAFÁŘ, J. – ŠVEC OVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J. – ČE PLOVÁ, M.

<b>SHRnutí PŘÍNOSŮ ANALÝZ GENOTYPŮ POMOCÍ DARTSEQ PRO BRAMBORÁŘSKOU PRAXI.....</b>	<b>33</b>
<b>SUMMARY OF THE BENEFITS OF GENOTYPE ANALYZES USING DARTSEQ FOR POTATO PRACTICE</b>	

---

GREPLOVÁ, M. – ŠVEC OVÁ, R. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

<b>TVORBA NOVÝCH GENOTYPŮ BRAMBORU S ČERVENOU DUŽNINOU S VYUŽITÍM MUTANTA Z UVC OZAŘOVÁNÍ PROTOPLASTŮ ODRŮDY HERBY.....</b>	<b>43</b>
<b>CREATION OF NEW GENOTYPES OF RED-FLESHED POTATO USING A MUTANT FROM UVC IRRADIATION OF PROTOPLASTS OF THE HERBY VARIETY</b>	

---

GREPLOVÁ, M. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

<b>JINÝ POHLED NA GENETIKU A DĚDIČNOST – SEZNÁMENÍ S OBJEVY LAUREÁTKY NOBELOVY CENY BARBARY MCCLINTOCK.....</b>	<b>53</b>
<b>A DIFFERENT VIEW OF GENETICS AND HEREDITY - MEET THE DISCOVERIES OF NOBEL LAUREATE BARBARA MCCLINTOCK</b>	

---

Romana HAMPEJSOVÁ, Marie GREPLOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

<b>ANTOKYANY A JEJICH POTENCIÁL.....</b>	<b>61</b>
--	-----------

## **Parametry recenzního řízení u Vědeckých prací**

Vědecké práce Výzkumného ústavu bramborářského v Havlíčkově Brodě jsou odborným periodikem, ve kterém je možné uveřejňovat vědecké články pracovníků zabývajících se příslušnou problematikou bez ohledu na pracoviště a stát vydavatele. Zveřejněny budou celé texty prací s členěním odpovídajícím struktuře vědecké práce (souhrn, úvod, literární přehled, materiál a metody, výsledky, diskuse, závěr), případně krátká odborná sdělení. Článek musí vyhovět následujícím parametrům recenzního řízení:

- Je vhodný k uveřejnění ve Vědeckých pracích VÚB
- Je novým přínosem
- Interpretace a závěry jsou potvrzeny údaji a statisticky zhodnoceny
- Rozsah článku je úměrný dané problematice
- Článek je srozumitelný
- Souhrn je výstižný a jsou uvedena klíčová slova
- V souhrnu jsou uvedeny výsledky práce včetně statistických hodnot
- Všechny obrázky a tabulky jsou potřebné a přijatelné
- Použité měrové jednotky odpovídají SI
- Název článku vyjadřuje výstižně jeho obsah
- Citovaná literatura je dostatečná, resp. všechny citované prameny jsou nezbytné

## THE UTILIZATION OF MOLECULAR MARKERS IN RECENT YEARS AT SELECTED INTERSPECIFIC HYBRIDS OF *SOLANUM* SPECIES

### VYUŽITÍ MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ V POSLEDNÍCH LETECH U VYBRANÝCH MEZIDRUHOVÝCH HYBRIDŮ DRUHŮ *SOLANUM*

Jiří PTÁČEK, Renata ŠVECOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

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

PTÁČEK, J. – ŠVECOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

#### THE UTILIZATION OF MOLECULAR MARKERS IN RECENT YEARS AT SELECTED INTERSPECIFIC HYBRIDS OF *SOLANUM* SPECIES

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 9–18

The selected wild *Solanum* species were chosen for crossing by means of traditional breeding methods. These wild species, maintained in the genebank of Potato Research Institute in Havlíčkův Brod, are a good source of resistance to various biotic and abiotic factors. Hundreds of hybrids from many combinations, which were arisen by reciprocal crossing procedures (wild species × variety or dihaploid), and parental genotypes were tested using of PCR-based methods. We obtained the crossing materials with wild species (*S. acaule*, *S. berthaultii* and *S. demissum*) with potato varieties. The hybridity of progeny from interspecific hybridization was assessed visually through morphological traits and RAPD method. Hybridity was detected only in some of the crossing combinations. Genotypes from seven wild species (*S. acaule*, *S. berthaultii*, *S. bulbocastanum*, *S. brevidens*, *S. demissum*, *S. pinnatisectum* and *S. verrucosum*) were evaluated through PCR analysis. The plant material was initially cultured *in vitro*, transferred to greenhouse conditions, and subsequently subjected to DNA isolation using the GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma). Selected DNA markers were tested and applied for further analysis of both diploid and tetraploid potato collections. Wild species carrying resistance genes are actively used in breeding experiments. The availability of precise genomic sequences facilitates faster and more targeted breeding, enabling the identification of promising crosses and indicating where genetic material exchange between the parental lines ("father" and "mother") should ideally occur. This approach allows breeders to determine at an early stage whether a hybrid possesses desirable traits, such as disease resistance.

crossing; resistance; RAPD method; genebank

## INTRODUCTION

There is an ongoing effort to expand the gene pool of the new potato gene resources for resistance to pests and diseases through distant hybridization. Cultivated potato *S. tuberosum* ( $2n = 4x = 48$ ) is a vegetatively propagated species with tetrasomic inheritance and a high level of heterozygosity. Several important traits strongly depend on intralocus interactions and genotypes, multiallelic loci are more advantageous than monoallelic or diallelic ones. Unfortunately, because of the close relationship between varieties, the genetic base of modern varieties is relatively limited. Conversely, wild *Solanum* species, most of which are diploid ( $2n = 2x = 24$ ), are a significantly better source of allelic variability comparing standard varieties. They have many valuable characteristics, including resistance to biotic and abiotic stresses (CARPUTO *et al.*, 1997).

*Solanum* species have different ploidy level and vary in their EBN – (Endosperm Balance Number). EBN represents their „effective ploidy“ and does not always correlate with the current chromosomal number. Another factor influencing their evolution, besides EBN, is the production of so-called  $2n$  gametes. These gametes have the same number of chromosomes as somatic cells and result from modified meiosis, which affects specific stages and micro- and megasporogenesis (CARPUTO *et al.*, 2003). Mutually merging of  $2n$  gametes leads to the formation of a tetraploid genotype (LAPTEVA, 1988).

An option to overcome barriers in interspecific crosses is the use of doubled haploids which arise from the reduction in chromosome number in crop varieties and tetraploid genotypes of  $2n = 4x = 48$  to  $2n = 2x = 24$ . The formation of primary dihaploids by interspecific crossing of tetraploid *S. tuberosum* clones and diploid *S. phureja* species is the most commonly used method. This induces parthenogenesis (HORÁČKOVÁ, 1989). Distant hybridization presents many challenges that geneticists and breeders must consider. Hybrids typically exhibit low fertility or complete sterility, and the inheritance of traits in the progeny is often more complex (KOVÁČIK *et al.*, 1983).

DNA markers can be used to determine differences in genome structure based on differences (polymorphisms) in DNA sequences between individuals. DNA polymorphism can be detected using various methods. The most common techniques include RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats) or RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA). The latter three are based on PCR (Polymerase Chain Reaction). Since its development PCR has become a very popular method, with numerous modifications.

RFLP analysis requires relatively large samples and is technically demanding and time consuming (GEBHARDT *et al.*, 1989). Similarly, AFLP analysis is a relatively challenging technique. Another effective and advanced method is SSR analysis, which involves short repeated sequences with codominant inheritance and high abundance and polymorphism. However, this approach requires knowledge of the DNA sequence to design appropriate



primers. These limitations are overcome with the RAPD method, which amplifies genomic DNA using short, random oligonucleotides (typically decamers). This results in the formation of various amplification products, forming a characteristic pattern on electrophoresis gels, which can be analyzed. RAPD is capable of detecting polymorphism in regions where the sequence, function or chromosomal location is unknown, with dominant inheritance of the analyzed traits (PENNER, 1996). The advantages of RAPD include its simplicity, speed, and minimal technical requirements, and the variability it detects is relatively high. Consequently, RAPD is widely used in the identification and study of genomes in various cultivated species, including rice (MARTIN *et al.*, 1997), tomatoes, wheat, beans (BAI *et al.*, 1997), carrot (NAKAJIMA *et al.*, 1997) and others.

Regarding the *S. tuberosum*, the RAPD method has been developed and applied for many years. Among the first successful uses of RAPD to identify varieties were the works of DEMEKE *et al.* (1993) and HOSAKA *et al.* (1994) can be classified. Soon after, „fingerprinting“ became part of the overall characterization of newly introduced varieties (LYNCH *et al.*, 1994).

The gene bank at the Potato Research Institute Havlíčkův Brod includes a subcollection of „dihaploids“, largely produced by the PRI, and a subcollection of „wild species of the genus *Solanum*,“ which were obtained from international collections of genetic varieties of potatoes. These include *S. acaule*, *S. demissum*, and *S. berthaultii*. These wild species have long been kept for experimental purposes, and also serve as starting material for breeding (HORÁČKOVÁ, 2003).

The main aim of this study was to evaluate interspecific hybrids obtained from conventional crossbreeding of wild species or variety × dihaploids using molecular methods. There are 22 wild tuber-bearing species and one non-tuber-bearing species in our collection. The goal of this part of the study was to use molecular markers to assess the resistance of selected genotypes of wild species in PRI potato gene bank.

Potatoes are one of the most important food crops globally. Therefore, improving their traits can have a significant impact. However, sequencing the potato genome is challenging because common potatoes are tetraploid, i.e., they have four sets of chromosomes, which complicates the assembly of a reference genome. Recent research has focused on a diploid potato with only one genome, the so-called homozygote, which simplifies DNA sequencing and comparison. This plant, *Solyntus*, was produced as part of Solynta's hybrid breeding program.

A reference sequence, chromosome assembly version 4.04, is now available (HARDIGAN *et al.*, 2016). The precise genomic sequence enables faster and more targeted breeding, making it easier to identify promising crosses and determine the ideal points of genetic material exchange between the „father“ and „mother.“ This approach allows breeders to assess early on whether a potato possesses the desired traits, such as resistance to specific diseases.

## MATERIALS AND METHODS

### *Solanum* hybrids

90 hybrids from 23 reciprocal crossings (wild species × variety or *S. tuberosum* dihaploids) and 19 parental genotypes were tested. Hybrid seeds were sown in the greenhouse, resulting plantlets with good root system were put in pots. Four seedlings (8 week old) were taken for DNA isolation. Varieties and dihaploids were planted in pots (4l of soil) and grown in the greenhouse in a standard manner. Wild plants were transplanted from *in vitro* conditions to a greenhouse. For both types of parental materials leaves were also taken for DNA isolation.

### „*Solanum* wild species“

*In vitro* materials used in the experiment are long kept in the gene bank PRI Havlíčkův Brod. Forty-eight genotypes were selected from seven wild species (*S. acaule*, *S. berthaultii*, *S. bulbocastanum*, *S. brevidens*, *S. demissum*, *S. pinnatisectum* and *S. verrucosum*). *In vitro* plantlets were transferred to greenhouse conditions (Figs 1–6).

### DNA isolation

DNA was extracted from aerial parts of plants cultivated in a greenhouse using a commercial kit GenElute Plant Genomic DNA Isolation Kit (Sigma).

### RAPD method

Amplification reactions were carried out in volumes of 20 µl and contained 200 ng template DNA, 10 µl FastStart PCR Master (Roche), 3.2 µM primers (IDT) and water.

Table 1: Primers used

116	TACGATGACG	SC 10-4	TACCGACACC
131	GAAACAGCGT	P71	GCATCTACGC
184	CAAACGGCAC	P72	CGGCCACTGT
308	AGCGGCTAGG	HEL3	GACGCTATCG

RAPD reactions performed in a thermocycler XP Cycler (Bioer), which has been programmed following profile: 3 min initial denaturation at 94 °C; followed by 40 cycles of 1 min at 94 °C, 1 min 40 s at 37.5 °C and 2 min when 72°C; final step was 10 min at 72°C and subsequent cooling 4°C. Electrophoresis was performed in 1.5% agarose gel (TBE buffer) with ethidium bromide (0.2 µg.ml<sup>-1</sup>).

PCR reactions for the detection of selected resistance genes were performed according to KASAI *et al.* (2000), GEBHARDT *et al.* (2006) and KAZUYUKI *et al.* (2011).

## RESULTS AND DISCUSSION

### I.

In the year 2012 seeds from 23 combinations (wild species × variety, dihaploids) crossed in the year 2011 were sown in the greenhouse. In addition, parents have been planted. The cultivation was conducted in greenhouse conditions in a standard way. The isolation and analysis of DNA was carried out in 19 genotypes of the parental material, and 90 samples from 23 combinations of hybrid material. Hybridity of individual clones (hybrids) was initially assessed by comparing the plant habit, colour of flowers etc. with similar characteristics of parental plants. For example in hybrids that arose from breeding combinations of dihaploids 314 *S. tuberosum* × *S. berthaultii* 00259 violet colour of flowers was recorded, although 314 (dihaploid *S. tuberosum*) is white coloured and *S. berthaultii* (OCHOA, 1990) has purple flower crown or bright purple colour. From each cross combination were selected 4-8 for DNA hybrids, for subsequent comparison of the RAPD profiles of resulting hybrids and their parents. At the combination of *S. demissum* 00236 × Sophie and *S. demissum* 00245 × Romanze only one hybrid was used for testing, because one plant only grew in these combinations. Ninety hybrids and 19 parental genotypes were tested with eight primers (see Materials and Methods). Hybridity was found only in 4 breeding combinations (dihaploid 314 *S. tuberosum* × *S. berthaultii* 00259, *S. demissum* 00236 × Sophie, *S. demissum* 00245 × Romanze, *S. acaule* 00029 × Sophie). Interspecific hybrids were verified using selected DNA, primers are listed (Table 1). Best results (relative to the entire file tested in the production of interspecific hybrids have been shown in crossing combination of wild species *S. tuberosum* × dihaploids at diploid level – from one test crossing combination one interspecific hybrid was confirmed. In contrast, the material obtained from the crossing combination of wild species × species on the tetraploid level on the test material by 23 combinations, we only confirmed three interspecific hybrids. DOMKÁŘOVÁ *et al.* (2007) also dealt with interspecific hybridization in their work. From the crossing, which took place between *S. tuberosum* × wild species at the Potato Research Institute in the years 2004–2006, combination of dihaploid *S. tuberosum* × *S. berthaultii* was the most successful one. The results prove that the barriers existing in classical interspecific hybridization can be appropriately overcome by crossing. The obtained hybrid materials are used next year for re-crossing in accordance with CARPUTO *et al.* (1997). The main reason is that although the wild species of *Solanum* genus carry a desired resistance, the table value is very low. Advanced materials from this work are transferred to the PRI gene bank.

## II.

The whole set was tested using DNA markers and supplemented with positive controls adequate to the origin of the monitored resistance gene. The marker detecting the *Ryadg* gene was selected first. The RYSC3 marker was used for the *Ryadg* gene (KASAI *et al.*, 2000). In addition, three DNA markers were used to detect the presence of resistance genes (*H1*, *Gro1* and *Sen1*) in the genome of the samples tested (GEBHARDT *et al.*, 2006), (BARONE *et al.*, 1995). Since 2014, additional primer sets have been used (KAZUYUKI *et al.*, 2011), a primer set for the *H1* specific resistance gene, a primer set for the *R×1* gene (potato virus X), a primer set for the *R2* resistance gene (late blight) and a primer set for the marker resistance to potato Y virus (*Rychc*).

In 2013, DNA isolation was performed on 184 hybrids from 42 combinations resulting from reciprocal crossing and 40 parental genotypes. In addition, DNA isolation was performed on 45 hybrids obtained and partially tested in the previous year. The *Ryadg* gene was not detected in the tested hybrids, the *H1* gene (marker TG689) was detected in 8 hybrids, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 93 hybrids and the *Sen1* gene (marker N127) in 51 hybrids.

In 2014, DNA isolation was performed on 40 hybrids from 9 combinations resulting from reciprocal crossing and 13 parental genotypes. Detection of the presence of resistance genes was performed only in 11 hybrids from 5 combinations. The *H1* gene using the TG689 marker was detected in 3 hybrids, using the N146 marker also in three, using the N195 marker in four. The *Gro1* gene (marker Gro1-4) in all 11 hybrids, the *Sen1* gene (marker N127) in 10 hybrids, the *R×1* gene (PVX marker) in three, the *R2* gene (marker R2-800) in four and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not found in any hybrid.

In 2015, DNA isolation was performed on 152 hybrids from 41 combinations resulting from reciprocal crossing (wild species × variety, dihaploid *S. tuberosum*) and 38 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 14 combinations, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 20 combinations and the *Sen1* gene (marker N127) in 17 combinations and the *Rysto* gene (marker GP122) in 29 combinations. The *R2* gene (marker R2-800), the *R×1* gene (PVX marker) and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not detected in any combination.

In 2016, DNA isolation was performed on 36 hybrids from 11 combinations that resulted in reciprocal and 17 parental genotypes. The *H1* gene using the TG689 marker was detected in 3 hybrids, the *Gro1* gene (Gro1-4 marker) in 29 hybrids and the *Sen1* gene (marker N127) in 24 hybrids, the *R×1* gene (PVX marker) in none, the *R2* gene (marker R2-800) in three, the *Rysto* gene (marker GP122) in 27 and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not detected in any hybrid.

In 2017, DNA isolation was performed on 111 hybrids from 30 combinations that resulted in reciprocal and 26 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 13 combinations, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 21 combinations and the *Sen1* gene

(marker N127) in 16 combinations and the *Rysto* gene (marker GP122) in 27 combinations. The *R2* gene (marker R2-800), the *R×1* gene (PVX marker) and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not detected in any combination.

In 2018, DNA hybrids were performed on 164 hybrids from 45 combinations resulting from reciprocal crossing and 33 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 13 combinations, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 21 combinations and the *Sen1* gene (marker N127) in 16 combinations and the *Rysto* gene (marker GP122) in 27 combinations. The *R2* gene (marker R2-800), the *R×1* gene (PVX marker) and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not detected in any combination.

In 2019, DNA hybrids were performed on 150 hybrids from 39 combinations resulting from reciprocal crossing and 27 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 13 combinations, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 21 combinations and the *Sen1* gene (marker N127) in 16 combinations and the *Rysto* gene (marker GP122) in 27 combinations. The *R2* gene (marker R2-800), the *R×1* gene (PVX marker) and the *Rychc* gene (marker Ry186) were not detected in any combination.

In 2020, DNA isolation was performed on 93 hybrids from 24 combinations resulting from reciprocal crossing and 18 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 69 hybrids, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 78 hybrids and the *Sen1* gene (marker N127) in 59 hybrids and the *Rysto* gene (marker GP122) in 70 hybrids. The *R2* gene (marker R2-800), the *R×1* gene (PVX marker) and the *Rychc* gene (Ry186 marker) were not detected in any of them.

In 2021, DNA isolation was performed on 41 hybrids from 12 cross-breeding combinations and 14 parental genotypes. The *H1* gene using marker TG689 was detected in 32 hybrids, the *Gro1* gene (marker Gro1-4) in 29 hybrids and the *Sen1* gene (marker N127) in 25 hybrids and the *Rysto* gene (marker GP122) in 29 hybrids. The *R2* gene (marker R2-800) was detected in 4 hybrids and the *R×1* gene (PVX marker) in 28 hybrids,

Hybrid materials were successfully obtained using wild species of the *Solanum* genus, which possess a high level of genetic diversity for economically important traits, such as resistance to potato late blight, and table quality. These materials will be tested again next year for specific traits, undergo morphological evaluation, and be used for further backcrossing. Selected promising materials have been incorporated into breeding programs with the goal of creating new potato genotypes.

As part of the characterization of the selected materials for their use for marker assisted selection (MAS), we applied appropriate DNA markers that can reliably identify the target gene. This approach provides an effective tool to replace provocation tests. Once the desirable traits have stabilized, the promising materials will be transferred to the gene bank at the Potato Research Institute in Havlíčkův Brod.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The work was solved with the support of funds for institutional support conceptual development research organization PRI Havlíčkův Brod RO1623 and the National Program for the conservation and utilization of genetic resources of plants, animals and micro-organisms important for nutrition and agriculture Ref. MZE-62216/2022-13113/6.2.3., subprogram 1: National program for conservation and utilization of plant genetic resources and agrobiodiversity. Collection: Potatoes.



Fig. 1: *Solanum brevifolium*



Fig. 2: *Solanum pinnatisectum*



Fig. 3: *Solanum verrucosum*



Fig. 4: *Solanum acaule*



Fig. 5: *Solanum berthaultii*



Fig. 6: *Solanum demissum*

## REFERENCES

- BAI, Y. H. – MICHELS, T. E. and PAULS, K. P. (1997): Identification of RAPD markers linked to common bacterial blight resistance in *Phaseolus vulgaris* L. *Genome*, 40: 544–551.
- CARPUTO, D. – BARONE, A. – CARDI, T. – SEBASTIANO, A. – FRUSCIANTE, L. and PELOQUIN, S. J. (1997): Endosperm balance number manipulation for direct *in vivo* germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*S. commersonii* Dun.). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Genetics*, 94: 12013–12017.
- CARPUTO, D. – FRUSCIANTE, L. and PELOQUIN, S. J. (2003): The role of 2n gametes and endosperm balance number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing Solanums. *Genetics*, 163: 287–294.
- DEMEKE, T. – KAWCHUK, L. M. AND LYNCH, D. R. (1993): Identification of potato cultivars and clonal variants by random amplified polymorphic DNA analysis. *Am. Pot. J.*, 70: 561–570.
- DOMKÁŘOVÁ, J. – KREUZ, L. – ŠVECOVÁ, R. – GREPLOVÁ, M. – HORÁČKOVÁ, V. AND POLZEROVÁ, H. (2007): Využití mezidruhové hybridizace k rozšíření genetické diversity genofondu bramboru. *Vědecké práce - Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 15: 19–28.
- FLIS, B. – HENNIG, J. – STRZELCZYK-ŻYTA, D. – GEBHARDT, C. AND MARCZEWSKI, W. (2005): The *Ry-f<sub>sto</sub>* gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistant to *Potato virus Y* maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122<sub>718</sub> in PVY resistant potato cultivars. *Mol Breeding*, 15: 95–101.
- GEBHARDT, C. – BLOMENDAHL, C. – SCHACHTSCHABEL, U. – DEBENER, T. – SALAMINI, F. AND RITTER, E. (1989): Identification of 2a breeding lines and 4a varieties of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) with RFLP-fingerprints. *Theor. Appl. Genet.*, 78: 16–22.
- HARDIGAN, M. A. – CRISOVAN, E. – HAMILTON, J. P. – KIM, J. – LAIMBEER, P. – LEISNER, C. P. – MANRIQUE-CARPINTERO, N. C. – NEWTON, L. – PHAM, G. M. – VAILLANCOURT, B. – YANG, X. – ZENG, Z. – DOUCHES, D. S. – JIANG, J. – VEILLEUX, R. E. – BUELL, C. R. (2016): Genome reduction uncovers a large dispensable genome and adaptive role for copy number variation in asexually propagated *Solanum tuberosum*. *The Plant Cell*, 28: 388–405.
- HORÁČKOVÁ, V. AND 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. (1989): Tvorba materiálu s různou úrovní ploidie. *Havlíčkův Brod: DZZ Oseva VŠÚB*. 42 s.
- HOSAKA, K. – MORI, M. and OGAWA, K. (1994): Genetic relationships of Japanese potato cultivars assessed by RAPD analysis. *Am. Pot. J.*, 71: 535–546.
- KASAI, K. – MORIKAWA, Y. – SORRI, V. A. – VALKONEN, J. P. T. – GEBHARDT, C. AND WATANABE, K. N. (2000): Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *RY(adg)* based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*, 43(1): 1–8.
- KAZUYUKI, M. – SAKAMOTO, Y. – MUKOJIMA, N. – TAMIYA, S. – NAKAO, T. – ISHII, T. – HOSAKA, T. (2011): Development of a multiplex PCR method for simultaneous detection of diagnostic DNA markers of five disease and pest resistance genes in potato. *Euphytica*, 180: 347–355.
- KOVÁČIK, A. – HRAŠKA, Š. – MARŠÁLEK, L. and JANDURA, B. (1983): *Genetika rostlin*. Praha. 488 s.
- LAPTEVA, J. P. (1988): *Heteroploidia v šl'achtení rastlín*. Bratislava: *Príroda*. 278 s. ISBN 064-026-88
- LYNCH, D. R. – SCHAUPMEYER, C. – KAUWCHUK, L. M. – TARN, T. R. – REX, B. – HOLLEY, J. – WATERER, D. – PANFORD, J. AND PRITCHARD, M. K. (1994): AC Ptarmigan: An early maturing potato cultivar with good chipping and fresh market quality. *Am. Pot. J.*, 71: 387–393.
- MARTIN, C. – JULIANO, S. – NEWBURY, H. J. – LU, B. R. – JACKSON, M. T. and FORDLOYD, B. V. (1997): The use of RAPD markers to facilitate the identification of *Oryza* species within a germplasm collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44(2): 175–183.
- NAKAJIMA, Y. – YAMAMOTO, T. and OEDA, K. (1997): Genetic variation of mitochondrial and nuclear genomes in carrots revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Euphytica*, 95: 259–267.
- OCHOA, C. M. (1990): *The potatoes of South America: Bolivia*. Cambridge University Press. 512 s. ISBN 0 521 38024.
- PENNER, G. A. (1996): RAPD analysis of plant genomes. In: JAUHAR, P. P. (ed.): *Methods of genome analysis in plants*. Boca Raton: CRC: 251–268.

PTÁČEK, J. – ŠVEC OVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

## VYUŽITÍ MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ V POSLEDNÍCH LETECH U VYBRANÝCH MEZIDRUHOVÝCH HYBRIDŮ DRUHŮ *SOLANUM*

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 9–18

Vybrané plané druhy *Solanum* byly vybrány pro křížení pomocí tradičních šlechtitelských metod. Tyto planě rostoucí druhy, uchovávané v genové bance Výzkumného ústavu bramborářského v Havlíčkově Brodě, jsou dobrým zdrojem rezistence vůči různým biotickým i abiotickým faktorům. Metodami PCR byly testovány stovky hybridů z mnoha kombinací, které vznikly recipročním křížením (plané druhy × odrůda nebo dihaploid) a rodičovské genotypy. Získali jsme křížence planých druhů (*S. acaule*, *S. berthaultii* a *S. demissum*) s odrůdami brambor. Hybridnost potomstva po mezidruhové hybridizaci byla vizuálně kontrolována morfologickými znaky a metodou RAPD. Hybridnost byla zjištěna pouze u některých hybridů z kombinací křížení. Pomocí PCR byly testovány genotypy ze sedmi planých druhů (*S. acaule*, *S. berthaultii*, *S. bulbocastanum*, *S. brevidens*, *S. demissum*, *S. pinnatisectum* a *S. verrucosum*). Rostlinný materiál byl převeden z podmínek *in vitro* do skleníku a tam pěstován. DNA byla izolována z těchto rostlin pomocí GenElute Plant Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma). Byly vybrány a otestovány DNA markery. Vybrané markery byly použity pro následné testování diploidních a tetraploidních sbírek brambor. Pro experimenty s křížením se používají plané druhy nesoucí geny rezistence. Velmi přesná genomová sekvence umožňuje rychlejší a cílenější šlechtění, protože je snazší najít v DNA, která křížení s jinými odrůdami by mohla být zajímavá a kde by v ideálním případě měla probíhat výměna genetického materiálu mezi „otcem“ a „matkou“. To znamená, že šlechtitelé v rané fázi vědí, zda má genotyp požadované vlastnosti, jako je odolnost vůči konkrétním chorobám.

křížení; rezistence; metoda RAPD; genová banka

### 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



## VLIV PRŮBĚHU TEPLOT VE VEGETACI NA VÝSKYT ALTERNARIOVÝCH SKVRNITOSTÍ U BRAMBOR

### THE EFFECT OF TEMPERATURE PROGRESS IN VEGETATION ON EARLY BLIGHT OCCURRENCE IN POTATOES

Tomáš LITSCHMANN<sup>1</sup>, Petr DOLEŽAL<sup>2</sup>, Ervín HAUSVATER<sup>2</sup>,  
Petr SEDLÁK<sup>3</sup>, Vladimíra SEDLÁKOVÁ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>AMET, Moravský Žižkov, <sup>2</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

<sup>3</sup>Česká zemědělská univerzita v Praze

LITSCHMANN, T. – DOLEŽAL, P. – HAUSVATER, E. – SEDLÁK, P. – SEDLÁKOVÁ, V.  
**VLIV PRŮBĚHU TEPLOT VE VEGETACI NA VÝSKYT ALTERNARIOVÝCH SKVRNITOSTÍ U BRAMBOR**

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 19–32

V příspěvku jsou vyhodnocena pětiletá pozorování výskytu alternariových skvrnitostí na odrůdách zařazených do Sortimentu doporučených odrůd (SDO) a dána do souvislosti s teplotní charakteristikou suma hodinových efektivních teplot nad 25 °C (SETh25). Je ukázáno, že zejména teploty nad touto hranicí výrazně přispívají k rozvoji těchto chorob v porostech brambor. Byl rovněž vytvořen ukazatel vhodnosti teplotních podmínek pro rozvoj alternariových skvrnitostí v průběhu vegetačního období založený na pětidenní sumaci hodinových efektivních teplot nad 25 °C (5dSETh25).

Pro vyjádření změn podmínek pro rozvoj alternariových skvrnitostí v minulých desetiletích byly vypočítány SETh25 pro jednotlivé roky za období 1961–2023 pro H. Brod, přičemž se ukázalo, že v posledním desetiletí dosahují dvou až třináásobných hodnot oproti období 1961–1990. Rovněž v ročním chodu ukazatele 5dSETh25 v období 2014–2024 je možno pozorovat značné zvýšení hodnot oproti období 1961–1990, přičemž maxima jsou dosahována až v průběhu srpna.

alternariové skvrnitosti; suma efektivních teplot; změna klimatu

## ÚVOD

Změna klimatu modifikuje hodnoty a průběh většiny meteorologických veličin, jež jsou většinou navzájem svázány nejrůznějšími fyzikálními zákony, do nichž obvykle vstupuje jako nezávisle proměnná veličina teplota vzduchu. Ta se celoplanetárně zvyšuje v důsledku nevyvážené radiační bilance, kdy atmosféra Země přijímá o něco více energie, než vyzařuje zpět do kosmického prostoru v důsledku působení radiačně aktivních plynů, jejichž koncentrace v ovzduší neustále vzrůstá.

Klimatická změna se projevuje postupným zvyšováním nejen průměrných teplot, ale stále větší četností dnů, v nichž teploty překračují hranice stanovené pro letní a tropické dny. Dny s těmito extrémními teplotami ovlivňují negativně růst brambor a ve zvýšené míře působí zejména na houbové patogeny s polycyklickým vývojem a jimi vyvolaná poškození na listech brambor oslabených teplotním stresem.

Výskyt a průběh dané choroby obecně závisí na třech faktorech – přítomnosti patogenu, stavu rostliny a na okolním prostředí (tzv. trojúhelník choroby), přičemž klimatická změna ovlivňuje všechny tři faktory. Změna parametrů okolního prostředí, především pak meteorologických veličin ovlivněných klimatickou změnou, může být příznivá anebo nepříznivá pro rozvoj patogenu, stejně tak jako příznivá pro růst rostlin anebo naopak vyvolávající u nich abiotický stres. Nejméně příhodná je pak kombinace faktorů příznivě ovlivňujících vývoj patogenu a současně vyvolávající stres u rostlin a umožňující tak jeho snazší pronikání do rostlinných pletiv. Zvyšující se pozorované četnosti výskytu alternariových skvrnitostí v porostech brambor mohou naznačovat, že u tohoto patogenu dochází právě k této kombinaci. Projevuje se to zejména v oblastech, kde se v minulosti toto poškození vyskytovalo jen zřídka a v omezené míře, a nebyly proti němu prováděny cílené zásahy, avšak se změnou klimatu došlo k zintenzivnění četnosti i projevů a je zapotřebí mu věnovat v současnosti i budoucnosti zvýšenou pozornost.

Jelikož z našeho území nejsou k dispozici údaje o výskytu poškození alternariemi, anebo ještě lépe jeho průběh během vegetace, jednotnou metodiku a z jednoho místa za delší časové období, snažili jsme se proto nejprve dát do souvislosti několikaletá podrobná pozorování přímo v porostech s vhodnou klimatologickou charakteristikou a u té pak zjišťovat její změnu za delší časové období. Díky soustavné a systematické práci klimatologů v minulosti i současnosti máme z našeho území dostatečně dlouhé časové řady homogenních meteorologických údajů vhodných pro toto použití.

V předloženém příspěvku jsme se pokusili dát do souvislosti vyšší teploty vzduchu, vyjádřené pomocí hodinových sum efektivních teplot nad 25 °C, a průběh poškození listů bramboru na několika skupinách odrůd za pětileté období pozorování. Rovněž byl stanoven vývoj ročních sum těchto efektivních teplot stanovený na základě naměřených maximálních denních teplot pro lokalitu Havlíčkův Brod od roku 1961 do 2023 a na něm byl dokumentován jejich výrazný nárůst v posledních desetiletích.

## MATERIÁL A METODY

Ke zpracování byly využity hodnoty o poškození listové plochy alternariovými skvrnitostmi na pokusné stanici Výzkumného ústavu bramborářského (VÚB) ve Valečově za období 2020–2024 prováděné v rámci ověřování Seznamu doporučených odrůd (SDO). SDO obsahoval v letech 2020–2024 vždy v jedné skupině několik odrůd velmi raných (VR – 6 až 11 odrůd), raných (R – 10 až 13 odrůd), poloraných (PLR – 6 až 8 odrůd) a polopozdních až pozdních (PLP-PP – 1 až 3 odrůdy). Hodnocení napadení listů v % alternariovými skvrnitostmi bylo prováděno přibližně v týdenních intervalech ve dvou opakováních. Pro každou skupinu odrůd byly vypočítány průměrné hodnoty napadení v jednotlivých termínech. Meteorologické údaje o teplotě vzduchu byly použity z automatické stanice Meteo-UNI (AMET, Velké Bílovice) v Havlíčkově Brodě v areálu VÚB, umístěné nedaleko stanice ČHMÚ, z níž byly do dalšího zpracování použity maximální denní teploty vzduchu od roku 1961.

Z naměřených čtvrt hodinových hodnot teploty vzduchu za období 2014–2024 byly vypočítány hodinové průměry a ty byly použity ke stanovení sum hodinových efektivních teplot (LITSCHMANN a JUROCH (1997)) nad 25 °C (ETh25). Tato nezvyklá prahová hodnota byla zvolena z důvodu maximálního růstu mycelia *Alternaria alternata* a *Alternaria solani* při teplotách 25–30 °C, jak uvádí LINGWAL, *et al.* (2018). Obdobně KUMAR a SINGH (2022) u *A. solani* uvádějí pro maximální růst mycelia teplotu 25 °C následovanou teplotou 30 °C. Při těchto a vyšších teplotách rovněž dochází ke stresu u hostitelských rostlin bramboru, čímž se stávají citlivější k rozvoji choroby na listech. Většina studií uváděných v přehledovém článku SÁNCHEZ-CORREA *et al.* (2024) považuje za optimální pro růst brambor teploty okolo 20 °C. Při překročení hranice 25 °C dochází k omezení růstu hlíz, a negativně jsou též ovlivněny metabolické procesy v různých fázích vývoje rostlin (GAUTAM *et al.*, 2024).

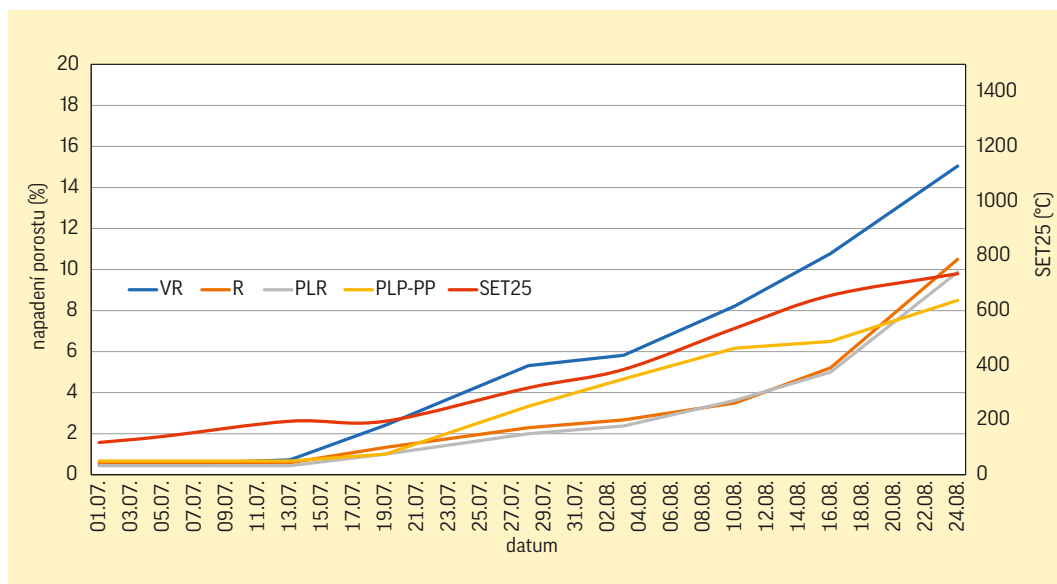
Sumy hodinových efektivních teplot za pětileté období 2020–2024 byly použity k porovnání jejich průběhu s vývojem napadení alternariovými skvrnitostmi v jednotlivých letech u jednotlivých skupin odrůd, a pak k určení závislosti mezi sumou ETh25 v jednotlivých dnech a maximální denní teplotou. Této závislosti bylo následně využito ke stanovení vývoje těchto sum od roku 1961. Dále jsme vycházeli z úvahy, že ojedinělé překročení hranice 25 °C se neprojeví tak negativně jako kumulativní působení vysokých teplot po několik, po sobě následujících, dnů. V jednotlivých letech proto byly spočítány klouzavé sumy ETh25 vždy pro daný den a čtyři předcházející, což umožňuje kvantifikovat dlouhodobější působení vysokých teplot na rostliny a jejich patogeny.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

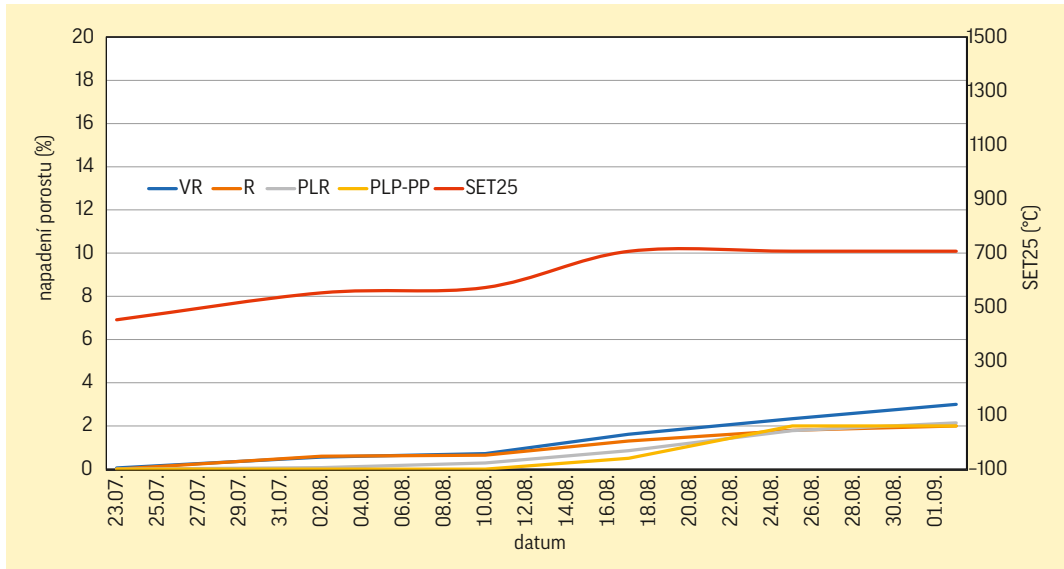
### Vztah mezi vývojem napadení alternariiovými skvrnitostmi a SETH25

Na Obr. 1 až 5 jsou vyneseny průběhy napadení porostů jednotlivých skupin odrůd brambor v letech 2020 až 2024 společně s vývojem sum efektívních teplot nad 25 °C. Ve všech těchto grafech je patrná určitá míra korelace mezi nárůstem poškození a růstem těchto sum. Dobře pozorovatelné je to např. v letech 2020 a 2024, kdy sumy v průběhu vegetační sezóny plynule narůstaly a současně s tím se zvyšoval i rozsah napadení porostů. Naproti tomu v roce 2021 byl nárůst teplotních sum velmi mírný a proto rovněž i poškození se vyvíjelo velmi pozvolna a ke konci sezóny dosáhlo jenom několika procent. Rok 2023 je kombinací období s vyššími teplotami, přesahujícími 25 °C, a chladnější periodou s nižšími teplotami. Obr. 4 ukazuje, že v průběhu růstu teplotní sumy na začátku a ve druhé polovině sledovaného období se obdobně zvyšoval rovněž rozsah poškození alternariiovými skvrnitostmi. Avšak v chladnější období mezi nimi, kdy teplotní sumy stagnovaly, se příliš neměnil ani rozsah poškození porostů.

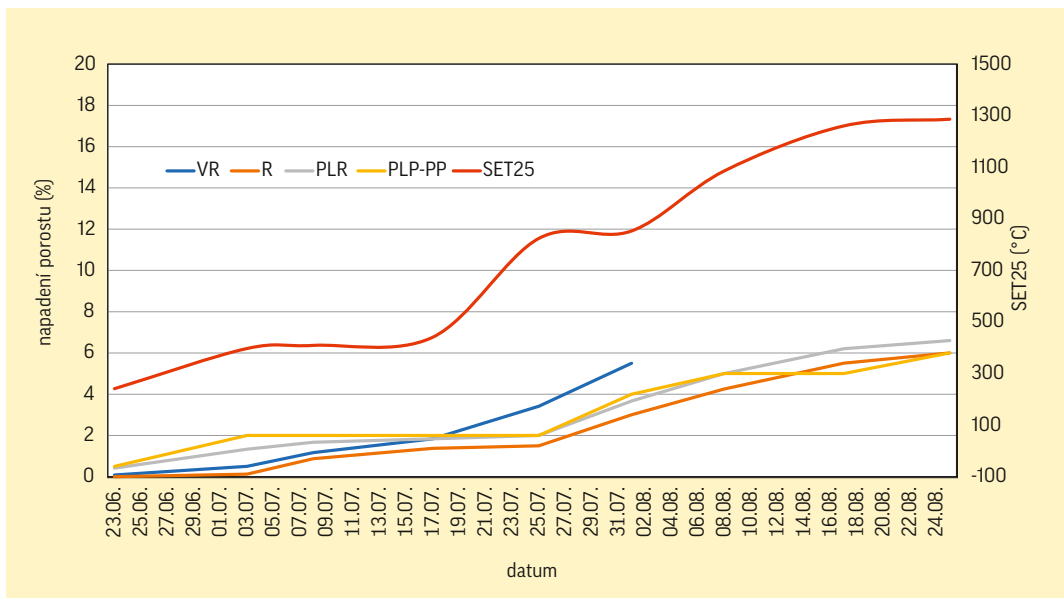
Obr. 1: Vývoj napadení porostů alternariiovými skvrnitostmi ve výzkumné stanici VÚB Havlíčkův Brod ve Valečově v roce 2020



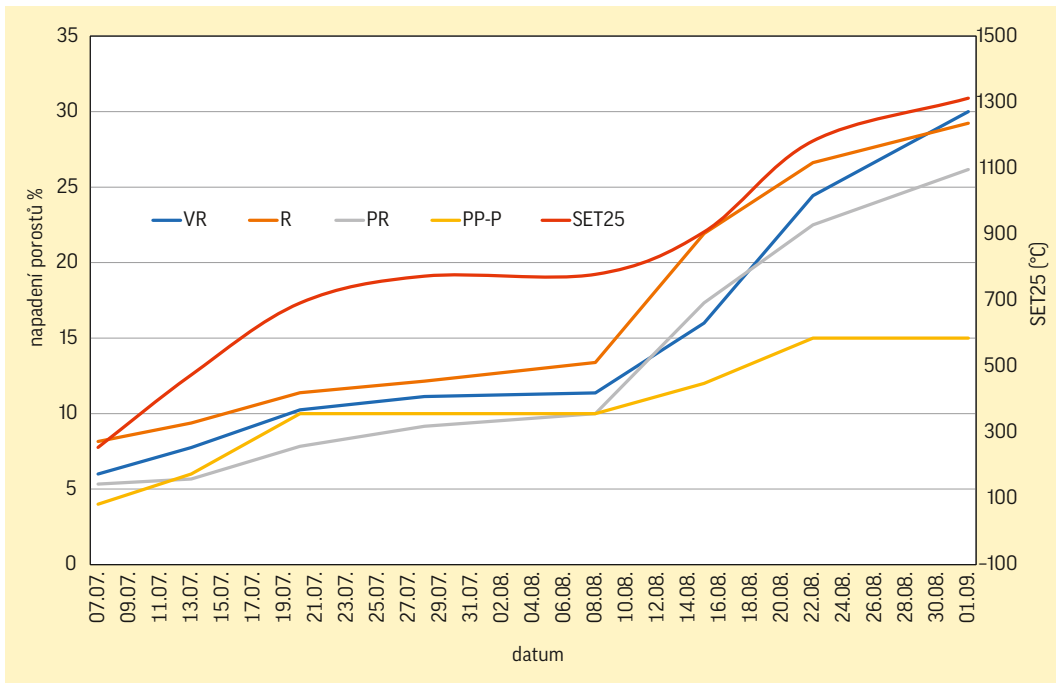
Obr. 2: Vývoj napadení porostů alternariovými skvrnitostmi ve výzkumné stanici VÚB Havlíčkův Brod ve Valečově v roce 2021



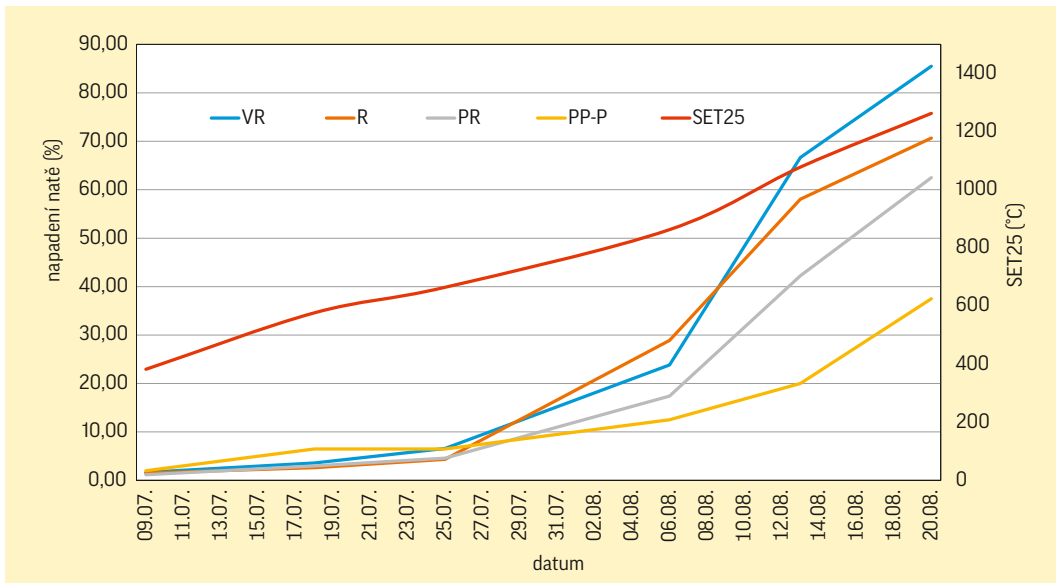
Obr. 3: Vývoj napadení porostů alternariovými skvrnitostmi ve výzkumné stanici VÚB Havlíčkův Brod ve Valečově v roce 2022



Obr. 4: Vývoj napadení porostů alternariiovými skvrnitostmi ve výzkumné stanici VÚB Havlíčkův Brod ve Valečově v roce 2023



Obr. 5: Vývoj napadení porostů alternariiovými skvrnitostmi ve výzkumné stanici VÚB Havlíčkův Brod ve Valečově v roce 2024



Na základě těchto grafů lze tedy předpokládat určitou spojitost mezi průběhem napadení listů a vyššími teplotami v průběhu dne přesahujícími 25 °C. Není to určité podmínka zcela postačující, sporulaci a infekci pravděpodobně ovlivňují i další abiotické faktory, mezi něž lze zařadit kolísání vzdušné vlhkosti, ovlhčení povrchů listů apod. Například HUSSAIN *et al.* (2022) uvádějí vysokou kladnou korelaci mezi rozvojem choroby a maximální i minimální teplotou vzduchu, naopak korelace s minimální vlhkostí vzduchu je slabší a záporná, přesto statisticky významná. Znamená to tedy, že čím je vyšší teplota vzduchu, tím vyšší je napadení rostlin, k čemuž statisticky přispívá i nižší minimální vlhkost vzduchu. V našich podmínkách je v teplotě vzduchu v průběhu dne za určitých podmínek obsažena současně i informace o jeho relativní vlhkosti. Se vzrůstající teplotou při stejném obsahu vodní páry v atmosféře jeho relativní vlhkost klesá, což by mohlo vysvětlovat zjištěnou negativní závislost. Nejnižší relativní vlhkosti vzduchu proto za jasných slunečních dnů bývají většinou naměřeny v období výskytu nejvyšších teplot. Vysoké letní teploty se obvykle vyskytují za jasných dnů v oblasti tlakových výší, kdy v průběhu noci dochází k utišení větru, vysokému efektivnímu vyzařování povrchů rostlin a tím i k tvorbě rosy na listech, což je jedna z dalších uváděných podmínek pro rozvoj alternariových skvrnitostí.

### **Roční chod pětidenních klouzavých sum ETh25**

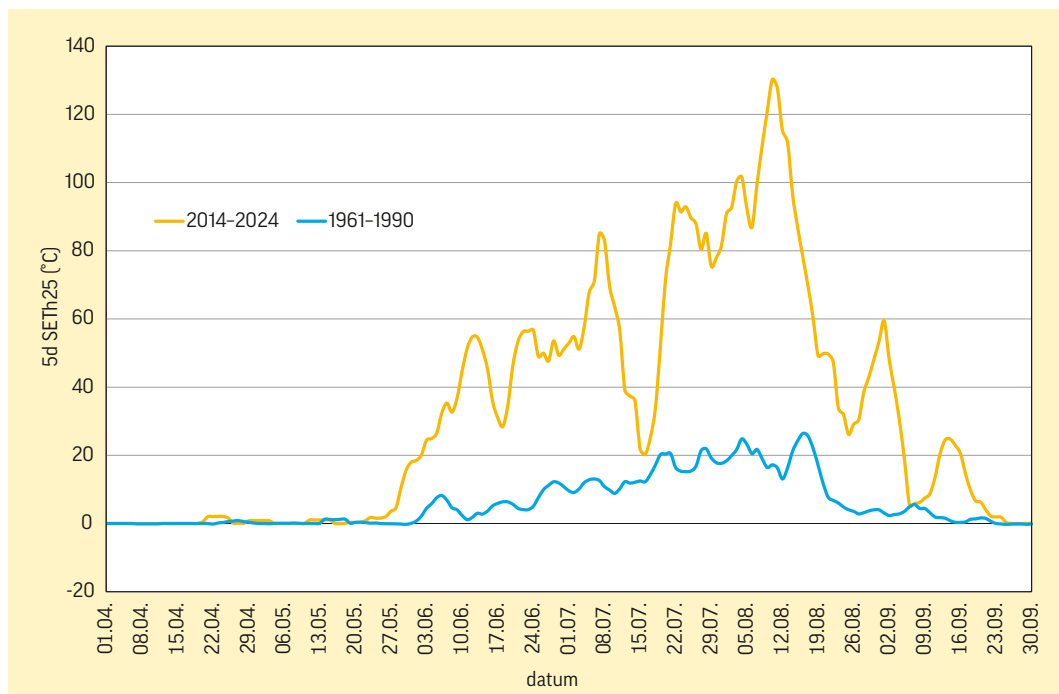
V předchozí kapitole bylo dokumentováno, že sumy hodinových efektivních teplot nad 25 °C s doprovodnými meteorologickými jevy do určité míry ovlivňují výskyt alternariových skvrnitostí v porostech brambor, ať již v důsledku zvýšeného růstu mycelia příslušných patogenů, anebo oslabení rostlin vysokými teplotami. Předpokládali jsme, že pokud toto působení vysokých teplot bude mít dlouhodobější charakter, podmínky pro vznik poškození budou příznivější než za ojedinělých jednodenních excesů. Stanovili jsme proto období 5 dnů jako vhodné pro sumu hodinových efektivních teplot nad 25 °C, u něhož lze předpokládat již dlouhodobější negativní působení na rostliny.

Tyto klouzavé sumy teplot byly vypočítány z hodinových průměrných teplot naměřených automatickou meteorologickou stanicí v Havlíčkově Brodě za jedenáctileté období 2014–2024 a pro jednotlivé dny zprůměrovány. Takto získaný roční chod pětidenních sum je znázorněn na Obr. 6. Pro porovnání, k jak výrazně změně došlo oproti druhé polovině minulého století, je do grafu přidána i křivka vypočítaná z maximálních denních teplot (viz níže) pro H. Brod za období 1961–1990. V dlouhodobém průměru sumy nad letními teplotami začínají vzrůstat v období 2014–2024 přibližně na začátku června. Po 8. červnu, kdy většinou začíná nad naše území proudit chladnější a vlhčí vzduch v rámci evropského monzonu (BEDNÁŘ, 1993), dochází k jejich mírnému poklesu a následnému vzestupu až do počátku července. Přibližně ve druhé červencové dekádě nastává v dlouhodobém průměru výraznější ochlazení a pokles sum ETh25. Z Obr. 1 až 5 za posledních 5 let lze vypořovovat, že v tomto období skutečně většinou dochází i ke zpomalení progresu choroby na listech brambor. Zatím lze jen těžko stanovit, proč zrovna v tomto období docházelo

v průměru v posledních jedenácti letech k poklesu počtu dnů s letními teplotami. Nejvyšší průměrné hodnoty pětidenních sum ETh25 se podle Obr. 6 vyskytují až koncem první srpnové dekády. V tomto období většinou dochází k nárůstu poškození alternariovými skvrnitostmi, jednak v důsledku vyšších déletrvajících teplot, ale též i v důsledku většího rozsahu nekrotických skvrn a lézí na listech uvolňujících větší množství spor. Svoji úlohu u některých odrůd má již počínající senescence nati a tím nižší náchylnost k infekci. Četnější výskyt zachycených spor rodu *Alternaria* i větší rozsah poškození od poloviny července do poloviny srpna uvádí i GAWIŇSKA-URBANOWICZ a KAPSA (2013) a pro druhou a třetí červencovou dekádu SHPANEV a SMUK (2022). Porovnání křivky z let 2014–2024 s křivkou 1961–1990 na Obr. 6 ukazuje na výrazný nárůst déletrvajících období s letními teplotami v posledním období.

Použitá pětidenní suma hodinových sum efektivních teplot nad 25 °C je proto zřejmě dobrým ukazatelem změny povětrnostních podmínek v průběhu roku a s tím i souvisejících změn ve výskytu alternariových skvrnitostí.

Obr. 6: Průměrné hodnoty pětidenních sum ETh25 pro Havlíčkův Brod za období 2014–2024 a jejich srovnání s obdobím 1961–1990



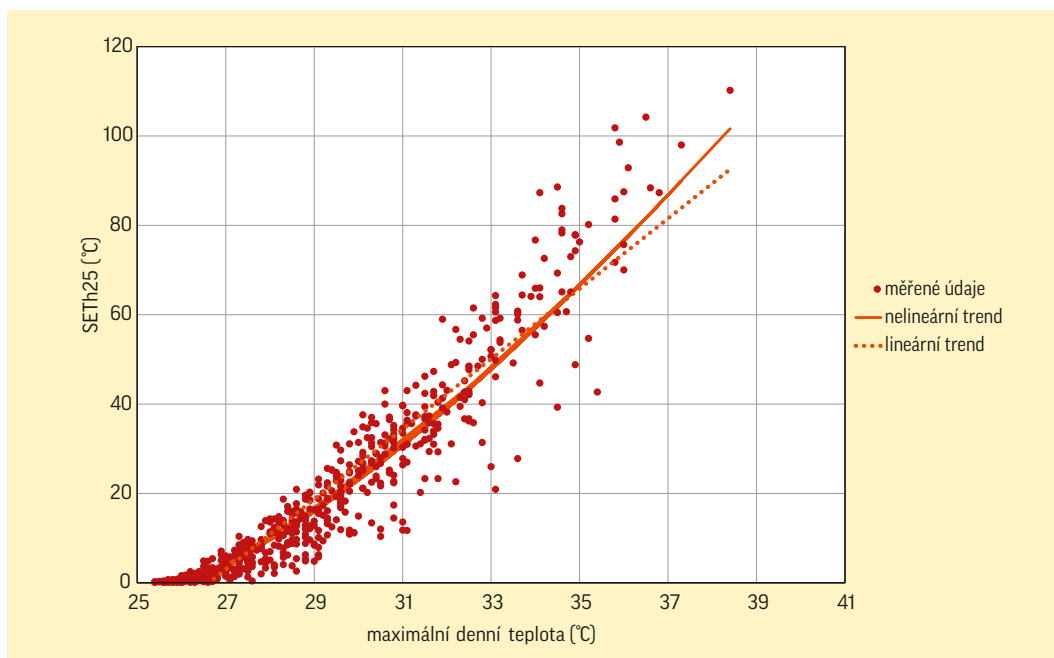


## Dlouhodobější změny sum ET25

Historické meteorologické údaje, vhodné pro dlouhodobější sledování vývoje klimatu v daném místě, jsou z důvodu ručního měření jednotlivých veličin v minulosti dostupné pouze v denním kroku a nikoliv v kratších, desetiminutových anebo čtvrt hodinových intervalech, tak jak to umožňují současné automatické meteorologické stanice. U stanic s manuální obsluhou v minulosti se měření teploty vzduchu prováděla v termínech 7, 14 a 21 hodin středního místního času, odečet maximální teploty se prováděl v 21 hod. téhož času (SLABÁ, 1972; ŽÍDEK a LIPINA, 2003). Pokusili jsme se proto stanovit dlouhodobější změny SETh25 pomocí závislosti jejich denních hodnot na Tmax. Na Obr. 7 je vynesena závislost mezi těmito dvěma veličinami pro údaje získané z automatické meteostanice v Havlíčkově Brodě za období 2014–2024. Ukazuje se, že tato závislost má v případě použití lineární závislosti hodnotu  $R^2$  0,89 a nezlepší se ani při zahrnutí minimálních teplot do výpočtu. Poněkud lepšího výsledku, zejména pak při vyšších maximálních teplotách, u nichž lineární závislost dává nižší hodnoty, lze dosáhnout použitím nelineárního vztahu, u nějž je hodnota  $R^2$  0,919.

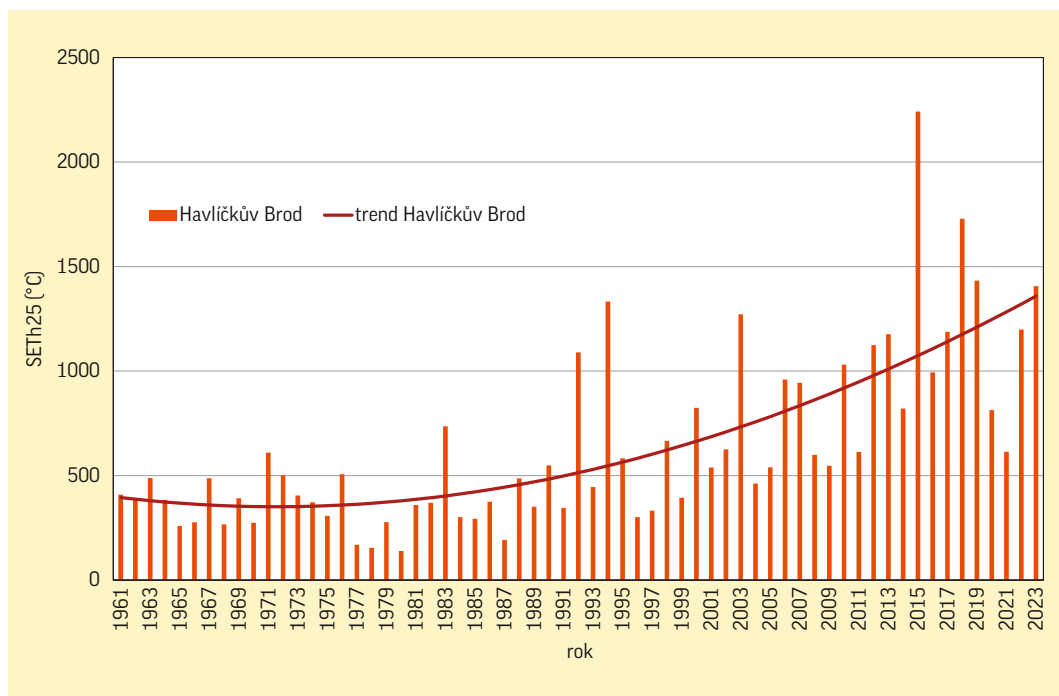
Vyšší rozptyl hodnot SETh25 pro jednotlivé maximální teploty vzduchu ukazuje, že pokud je to technicky možné, je lepší vždy použít k výpočtu pro konkrétní den naměřené hodinové teploty vzduchu a neodvozovat je z bodové hodnoty denního maxima.

Obr. 7: Závislost mezi SETh25 a maximální teplotou Tmax pro Havlíčkův Brod za období 2014–2024



Lze však předpokládat, že v delším časovém horizontu jednoho vegetačního období se odchylky vypočítaných SETH25 pomocí nelineární rovnice navzájem vykompenzují a sumy efektivních teplot stanovené s použitím maximálních denních teplot se budou blížit hodnotám vypočítaným z průměrných hodinových teplot. Z veřejně dostupných denních meteorologických údajů ze stanic provozovaných ČHMÚ podle zákona 123/1998 Sb. jsme přepočítali maximální denní teploty na SETH25 pro meteorologickou stanici ČHMÚ v Havlíčkově Brodě za období 1961–2023. Výsledek je prezentován na Obr. 8. Ukazuje se, že až do konce 80. let dvacátého století teplotní sumy jen ojediněle překračovaly hodnotu 500 °C a pohybovaly se většinou kolem 200–300 °C. Avšak od počátku 90 let vzrůstaly a od počátku nového století stále častěji překračují hodnotu 1000 °C a v posledních letech již ojediněle překonávají anebo se alespoň blíží hodnotě 1500 °C. Jedná se tudíž o velmi výraznou změnu během několika desetiletí a lze předpokládat, že v budoucnu se budou sumy i nadále zvyšovat. Dá se proto předpokládat, že se i četnost a intenzita poškození porostů brambor alternariiovými skvrnitostmi v klasických bramborářských oblastech v dalších letech bude nadále zvyšovat a je zapotřebí tomuto problému věnovat zvýšenou pozornost. Podobně i SHSPANEV a SMUK (2022) potvrzují často v literatuře uváděný předpoklad, že za zvýšeným výskytem chorob vyvolaných alternariemi na bramborách je nutno hledat

Obr. 8: Hodnoty SETH25 vypočítané z maximálních denních teplot vzduchu pro Havlíčkův Brod za období 1961–2023



zvyšování teploty vzduchu během vegetačního období. Vysoké teploty mají silně pozitivní vliv na četnost výskytu a intenzitu rozvoje těchto chorob. Podobně i výsledky sledování RUNNO-PAURSONA *et al.* (2015) v letech 2010 a 2011 v severním Pobaltí ukazují, že v tomto regionu se výrazná poškození způsobená alternariemi stávají závažným problémem vyvolaným zvýšenou četností horkých letních dní. Tedy zřejmě těch s maximální teplotou nad 25 °C, což je klimatologicky uznávaná hranice pro definici letního dne.

## ZÁVĚR

V předložené práci jsme se pokusili dát do souvislosti zvýšený výskyt alternariových skvrnitostí v posledních desetiletích s vyššími teplotami nad 25 °C a vhodnou klimatickou charakteristikou, kterou je suma hodinových efektivních teplot nad 25 °C. Ukázalo se, že průběh těchto sum ve většině let celkem dobře koresponduje s průběhem poškození na listech vyvolaném alternariovými skvrnitostmi.

Pro lepší charakteristiku sloužící k vyjádření dlouhodobějšího působení vysokých teplot na rostliny a vývoj choroby, jsou použity klouzavé pětidenní sumy ETh25. Při jejich zprůměrování pro jednotlivé dny v letech 2014–2024 se ukázaly rozdíly v průběhu ročního chodu teplot oproti typickým hodnotám z první poloviny minulého století. Vyvrcholení léta přichází později až počátkem srpna, zatímco kolem poloviny července byl zaznamenán poměrně výrazný pokles pětidenních sum ETh25 oproti předcházejícím i následujícím dnům. Tato skutečnost se poměrně dobře odráží většinou i ve vývoji rozsahu poškození listů. Pětidenní sumy ETh25 °C v průběhu jednotlivých vegetačních sezón mohou zároveň sloužit k vyjádření míry stresu bramborových porostů a jako ukazatel pro možný rozvoj projevů alternariových skvrnitostí na listech.

U vývoje ročních sum ETh25 byl zaznamenán jejich výrazný postupný nárůst od počátku devadesátých let minulého století nejprve na dvojnásobek a ke konci zpracovaného období v některých letech až na trojnásobek hodnot před rokem 1990. Zatím se neobjevily žádné nové poznatky, že by se růst teplot nejen na našem území měl zastavit anebo alespoň zpomalit. Proto je nutno počítat s tím, že bramborové porosty budou i nadále potřebovat aktivní ochranu proti alternariovým skvrnitostem. Zároveň stále se zvyšující teploty vzduchu budou negativně působit na vývoj a růst porostů a hlíz. K teplotnímu stresu se bude přidávat i stres z nedostatku vláhy vlivem nerovnoměrného rozdělení srážek během vegetace.

## PODĚKOVÁNÍ

Príspevek vznikl s podporou výzkumného úkolu NAZV QK22010073 „Alternativní postupy ochrany brambor proti chorobám a škůdcům minimalizující negativní vliv na životní prostředí“ a institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace reg. č. MZE-RO1624.



Porost brambor napadený alternariovými skvrnitostmi



Detail alternariové skvrnitosti na listu bramboru



Alternariové skvrnitosti na listech bramboru



Projevy alternariových skvrnitostí

## LITERATURA

- BEDNÁŘ, J. (1993): Meteorologický slovník výkladový a terminologický: s cizojazyčnými názvy hesel ve slovenštině, angličtině, němčině, francouzštině a ruštině. Praha: Ministerstvo životního prostředí ČR. ISBN 80-85368-45-5.
- DEL SOCORRO SÁNCHEZ-CORREA, M. – DEL ROCÍO REYERO-SAAVEDRA, M. – EDITH JIMÉNEZ-NOPALA, G. – MANDUJANO PIÑA, M. – GERARDO ORTIZ-MONTIEL, J. (2024): High-temperature effect on plant development and tuber induction and filling in potato (*Solanum tuberosum* L.). In: Abiotic Stress in Crop Plants - Ecophysiological Responses and Molecular Approaches. IntechOpen, Jul. 17, 2024. DOI: 10.5772/intechopen.114336.
- GAWIŃSKA-URBANOWICZ, H. – KAPSA, J. (2013): Monitoring results of population *Alternaria* genus in potato crops. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin, 53 (3): 527-532. ISSN 1427-4337.
- GAUTAM, S. – SCHEURING, D. C. – KOYM, J. W. – VALES, M. I. (2024). Assessing heat tolerance in potatoes: Responses to stressful Texas field locations and controlled contrasting greenhouse conditions. Frontiers in Plant Science Vol. 15, DOI: 10.3389/fpls.2024.1364244/full.
- HUSSAIN, R. – GUPTA, V. – AARTI, A. – ARORA, J.K. – SHARMA, S.K. – KUMAR, D. – AMIN, T. – KHUSHBOO, S.S. (2022): Weather based prediction of early blight of potato caused by *Alternaria solani*. Agricultural Mechanization in Asia, Africa and Latin America 53(2). ISSN: 00845841.
- KUMAR, A. – SINGH, S. K. (2022): Physiological studies on *Alternaria solani* causing early blight of potato in Eastern Uttar Pradesh. International Journal of Agricultural Invention, 7(1): 35–38. DOI: 10.46492/IJAI/2022.7.1.7.
- LINGWAL, S. – SINHA, A. – RAI, J.P. (2018): Effect of temperature on *Alternaria alternata* causing brown spot of potato. International Journal of Microbiology Research, 10(3): 1046-1048. <http://dx.doi.org/10.9735/0975-5276.10.3.1046-1048>.
- LITSCHMANN, T. – JUROCH, J. (1997): Teplotní sumy a jejich využití při prognóze škůdců pomocí programu SUMÁTOR. Zahradnictví – Zahradnictvo, (5): 2–4.
- RUNNO-PAURSON, E. – LOIT, K. – HANSEN, M. – TEIN, B. – WILLIAMS, I.H. – MÄND, M. (2015): Early blight destroys potato foliage in the northern Baltic region, Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science, 65 (5): 422–432. <https://doi.org/10.1080/09064710.2015.1017003>.
- SHPANEV, A. – SMUK, V. (2022): The role of abiotic and anthropogenic factors in the development of *Alternaria* leaf spot on potato plantings in the North-West of Russia // BIO Web of Conferences. Vol. 43, 02015. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20224302015>.
- SLABÁ, N. (1972): Návod pro pozorovatele meteorologických stanic ČSSR. 2. přepracované vydání. Sborník předpisů, sv. 7. Praha: HMÚ. 224 s.
- ŽÍDEK, D. – LIPINA, P. (2003): Návod pro pozorovatele meteorologických stanic ČHMÚ. Metodický předpis č. 13. Ostrava: ČHMÚ.

LITSCHMANN, T. – DOLEŽAL, P. – HAUSVATER, E. – SEDLÁK, P. – SEDLÁKOVÁ, V.  
**THE EFFECT OF TEMPERATURE PROGRESS IN VEGETATION ON EARLY BLIGHT  
OCCURRENCE IN POTATOES**

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 19–32

The paper evaluates five-year monitorings of early blight occurrence in varieties included in the List of Recommended Varieties (SDO) and related to temperature characteristic sum of hourly effective temperatures above 25 °C (SETh25). It is shown that especially temperatures above this limit significantly contribute to early blight development in potato crops. An indicator of suitability of temperature conditions for development of early blight during growing season has also been developed based on five-day summary of hourly effective temperatures above 25 °C (5dSETh25).

To express changes in conditions for early blight development in past decades, SETh25 were calculated for individual years in the period 1961-2023 for Havlíčkův Brod and it was shown that they reached double or triple values in last decade compared to 1961-1990. For the annual progress of the indicator 5dSETh25 in the period 2014-2024 a significant increase of values was also recorded compared to 1961-1990 with peaks being reached in August.

early blight; sum of effective temperatures; climate change

*Kontakt:*

RNDr. Tomáš LITSCHMANN, Ph.D.

AMET, Velké Bílovice

Žižkovská 1230

691 02 Velké Bílovice

Česká republika

mobil: +420 731 702 744

e-mail: amet@email.cz

## SHRnutí PŘÍNOSŮ ANALÝZ GENOTYPŮ POMOCÍ DARTSEQ PRO BRAMBORÁŘSKOU PRAXI

### SUMMARY OF THE BENEFITS OF GENOTYPE ANALYSES USING DARTSEQ FOR POTATO PRACTICE

Jiří PTÁČEK<sup>1</sup>, Oldřich TRNĚNÝ<sup>2</sup>, Vladislav KLIČKA<sup>3</sup>, Jan ŠAFÁŘ<sup>4</sup>, Renata ŠVECOVÁ<sup>1</sup>,  
Jaroslava DOMKÁŘOVÁ<sup>1</sup>, Miroslava ČEPLOVÁ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

<sup>2</sup>Zemědělský výzkum spol. s r. o., Troubsko

<sup>3</sup>VESA Velhartice, a.s.

<sup>4</sup>Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Olomouc

PTÁČEK, J. – TRNĚNÝ, O. – KLIČKA, V. – ŠAFÁŘ, J. – ŠVECOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J. – ČEPLOVÁ, M.  
**SHRnutí PŘÍNOSŮ ANALÝZ GENOTYPŮ POMOCÍ DARTSEQ PRO BRAMBORÁŘSKOU PRAXI**  
Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 33–42

V rámci platformy NCKTN01000062 „Biotechnologické centrum pro genotypování rostlin“ byl koordinován ve VÚB Havlíčkův Brod Dílčí projekt TN01000062/04 – Brambory (ve spolupráci s ÚEB AV ČR, v.v.i., a VESA Velhartice, a.s.)

Řešení tohoto unikátního projektu probíhalo v letech 2019 až 2022, zde prezentujeme všechny dosažené výsledky.

DNA; DaT; genotypování; brambor; asociační analýza

## ÚVOD

Hlízotvorné *Solanum*, které představuje kulturní brambor a jeho plané příbuzné druhy, je velice rozmanitá skupina (HAWKES, 1990). Většina těchto planých druhů obsahuje celou řadu neznámých systémů odolností vůči chorobám a škůdcům, mrazuvzdornosti, suchovzdornosti aj., které se v kulturních formách bramboru vůbec nevyskytují. V jihoamerické a v mexické oblasti existuje řada druhů s odolností k virózám bramboru, popř. s odolností vůči přenašečům těchto viróz, jsou známy druhy, které například nejsou napadány mandelinkou bramborovou. Výskyt genů zodpovědných za tyto vlastnosti je podmíněn především areálem výskytu jednotlivých druhů a podmínkami, jež zde panují.

Genová banka VÚB v Havlíčkově Brodě uchovává kromě odrůd bramboru a různých hybridních materiálů i velmi cenné genové zdroje planých druhů rodu *Solanum*. V tomto souboru je 22 druhů, které hlízy tvoří, a jeden druh, který hlízy netvoří. Druhy jsou udržovány ve více vzorcích a byly získány ze světových kolekcí genetických zdrojů bramboru

(HORÁČKOVÁ a DOMKÁŘOVÁ, 2003). Popis morfologických znaků, hodnocení růstové energie, vegetační doby, zdravotního stavu, výnosu a vybraných hospodářských vlastností je prováděn podle „Klasifikátoru pro genus *Solanum* L.“ (VIDNER *et al.*, 1987).

Brambor je jednou z nejdůležitějších potravinářských plodin na světě. Zlepšení jeho vlastností proto může mít významný dopad. Čtení genomové sekvence bramboru je však velmi složité, protože běžné brambory jsou tetraploidní, tzn. jsou složeny ze čtyř sad chromozomů, což mimo jiné ztěžuje správné poskládání referenčního genomu. Nedávný výzkum se týkal diploidního bramboru pouze s jedním genomem, tzv. homozygotem, který usnadňuje čtení a porovnání sekvencí DNA. Tato rostlina, Solyntus, byla vyprodukována jako součást hybridního šlechtitelského programu firmy Solynta.

V současnosti je již také dostupná referenční sekvence v sestavení po chromozomech ve verzi v4.04 (HARDIGAN *et al.*, 2016). Velmi přesná genomová sekvence umožňuje rychlejší a cílenější šlechtění, protože v DNA je snazší najít, která křížení s jinými odrůdami by mohla být zajímavá a kde by výměna genetického materiálu mezi „otcem“ a „matkou“ měla v ideálním případě probíhat. To znamená, že šlechtitelé vědí v rané fázi, zda brambor má požadované vlastnosti, jako je např. odolnost vůči specifickým chorobám.

#### GWA studie, GWAS

V genetice je hojně využívaným nástrojem *genome-wide association study*, tj. celogenomová asociční studie (studie GWA nebo GWAS), srovnávací studie genetických variant u různých jedinců, která určuje úroveň spojení mezi genetickou variantou a vlastností. GWAS se obvykle zaměřují na asociace mezi jednonukleotidovými polymorfismy (SNP) a fenotypovými vlastnostmi, jako jsou významná geneticky podmíněná lidská onemocnění, ale mohou být stejně aplikovány na jakékoli jiné genetické varianty jakýchkoli jiných organismů a jejich fenotypové znaky.

## MATERIÁL A METODY

Z genové banky bramboru byl vybrán soubor fenotypově charakterizovaných genotypů bramboru s rozdílnými hodnotami pro barvu dužniny, ranost, obsah škrobu a rezistence k vybraným biotickým a abiotickým činitelům. Tyto rostliny byly průběžně pasážovány a vedeny jak v podmínkách *in vitro*, tak i *in vivo*. Tento soubor byl doplněn fenotypově částečně charakterizovanými šlechtitelskými materiály, u kterých jsou tato data v průběhu řešení projektu doplňována a současně srovnávána s genotypovými daty.

DNA byla extrahována z 376 genotypů bramboru na pracovišti ÚEB AV ČR Olomouc, v.v.i., kde byl čerstvý materiál nejprve lyofilizován, a poté homogenizován pomocí skleněných kuliček. Pro vlastní izolaci byl použit NucleoSpin Plant II kit (Macherey-Nagel). Byla zkontrolována kvalita DNA a poté každý vzorek naředěn na požadovanou koncentraci.



Izolovaná DNA byla zaslána do Diversity Arrays Technology Pty Ltd, Canberra, Austrálie, k vlastní analýze genotypu pomocí DArTSeq analýzy. Výsledkem DArTSeq analýzy jsou celogenomová genotypová data SNP polymorfismů pro 372 vzorků. Genotypová data byla dále filtrována na chybějící informace, frekvenci minoritní alely a mapována k aktuální verzi genomu bramboru.

Celogenomová asociační analýza byla provedena pro 8 vybraných fenotypových znaků (odolnost k rakovině bramboru, odolnost k hádátku, ranost, obsah škrobu, odolnost k Viru Y bramboru (PVY), odolnost k Viru svinutky bramboru (PLRV), výnos a suchovzdornost) podle dostupných dat hodnocení. Asociační analýza byla provedena pro genotypový soubor SNP polymorfismů s chybějícími údaji do 50 % a s frekvencí minoritní alely (MAF) do 5 %. Práce s genotypovými daty byla prováděna zejména pomocí balíku dartR, vcfR v R. Pro analýzu genetické diverzity nebyly dále použity vysoce korelované polymorfismy ve vazbě ( $r^2 > 0.6$ ) do vzdálenosti 10 000 bp a také byl v rozmezí 500 bp ponechán vždy jen jeden polymorfismus s vyšší MAF za využití softwaru bcftools. Pro analýzu genetické diverzity nebyly také použity polymorfismy, které mapují na více pozicích v genomu (blastn evaluate < 0.00001). Asociační analýza byla provedena pomocí programu GAPIT implementovaného v jazyce R. Pro výpočet byl použit statistický výpočetní model Blink (HUANG *et al.*, 2019) s korekcí na genetickou strukturu populace, genetickou příbuznost a další matoucí efekty. Výběr počtu PCs, které sloužily ke korekci na genetickou strukturu uvnitř sledované populace, byl určen pomocí BIC s maximálním počtem 3 PCs. Pro zahrnutí vlivu příbuznosti jedinců byl použit koeficient příbuznosti dle VAN RADEN (2008). Pro imputaci byla použita majoritní alela. Výsledky byly korigovány pomocí *false discovery rate* FDR (BENJAMINI a HOCHBERG, 1995) pro mnohonásobné porovnání. Práh FDR pro signifikantní asociace byl zvolen na hladině 0,05. Spolehlivost výsledků asociace byla posouzena pomocí kvantil-kvantil Q-Q grafu při porovnání očekávaných výsledků proti získaným. Výsledky asociace polymorfismů a jejich fyzická pozice byly vyneseny do Manhattan grafů.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky asociačních celogenomových analýz genotypů bramboru prokázaly vazbu mezi fenotypovým projevem a sekvenční variabilitou genotypů brambor. Znalost markerů asociovaných s požadovaným znakem umožňuje sledovat prostupnost genetické informace z rodičů na potomky napříč generacemi. U barvy dužniny můžeme například využít znalost asociovaného markeru k cílenému přikřížení znaku barvy pomocí zpětného křížení, tak abychom co nejlépe zachovali genetické pozadí obohacovaného genotypu. U jiných znaků může znalost asociovaného markeru umožnit šlechtitelům dříve a snáze rozpoznat tuto zájmovou vlastnost již v raných fázích vývoje potomků. Přiložené grafy reprezentují výsledky výše uvedené asociace jednotlivých vazeb mezi vybranými fenotypovými projevy

a genotypovým profilem. Podrobný popis je uveden v naší předešlé práci (PTÁČEK *et al.*, 2020), kde je popsán i význam jednotlivých grafů.

Přiložené grafy (Obr. 1) prezentují výše uvedené asociace, Q-Q graf výsledků asociace potvrzuje statistickou průkaznost výsledků. Výsledky asociace k odolnosti k hádátku nejsou na uvedeném obrázku prezentovány. Pro posouzení asociace byl použit statistický model Blink. Model Blink - Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway (HUANG *et al.*, 2019) využívá nový postup opakovaného hodnocení asociace, který vybírá v hodnoceném lokusu v genomu to SNP, které nejlépe vyjadřuje změny v hodnotách hodnoceného znaku. Dále byly hodnoty asociace jednotlivých SNP korigovány podle genetické příbuznosti položek mezi položkami a podle genetické struktury, která byla již dříve rozpoznána v hodnocené kolekci brambor. Polymorfismy SNP označené touto metodou za nejvíce asociované v jednotlivých lokusech jsou obzvláště vhodné pro jejich použití v markery asistované selekci, neboť jsou očištěny od vlivu ostatních blízkých SNP. Paralelně s přicházejícími výsledky asocičních studií byl zahájen převod vybraných SNP u některých znaků na PCR markery, které budou použity ve šlechtění.

U vybraných sledovaných znaků (odolnost k hádátku, ranost, obsah škrobu, odolnost k PVY, odolnost k PLRV) jsme doplnili nově získaná fenotypová data šlechtitelských materiálů a analýza byla provedena opakovaně. Nyní již bylo zjištěno vazby mezi fenotypovým projevem a genetickým profilem statisticky průkazné. Statisticky průkazné vazby mezi fenotypovým projevem a genetickým profilem byly získány i u nově zařazených fenotypových znaků (výnos a suchovzdornost). U všech osmi testovaných fenotypových znaků byly prokázány statisticky průkazné vazby mezi fenotypovým projevem a genetickým profilem, což vedlo k získání souborů asociovaných markerů pro jednotlivé sledované znaky, které jsou vhodné k markery asistované selekci a k převodu na PCR markery. U znaků výnos, suchovzdornost, obsah škrobu, ranost a u znaků odolností k rakovině, k PVY a k PLRV byly nalezeny desítky statisticky průkazných SNP na úrovni významnosti  $P = 0.05$  po korekci na mnohonásobné porovnání.

Následně byla analyzována fenotypová data u dalších znaků. Vhodnost brambor pro přípravu lupínků, hranolků a kaší. Hodnocení odolnosti k mechanickému poškození a odolnosti k napadení plísní bramboru. Též byly také asociovány s genetickou variabilitou chuťové parametry brambor.

Přiložené grafy (Obr. 2) prezentují nalezené asociace genotypových variant s fenotypovým projevem, Q-Q graf výsledků asociace potvrzuje statistickou průkaznost výsledků, zejména průkazné asociace lze sledovat u vhodnosti brambor k přípravě lupínků, hranolek a kaše. Výsledky asociace k odolnosti k hádátku nejsou na uvedeném obrázku prezentovány. Pro posouzení asociace byl použit statistický model Blink. Model Blink - Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway (HUANG *et al.*, 2019) využívá postup opakovaného hodnocení asociace, který vybírá v hodnoceném lokusu v genomu to SNP, které nejlépe vyjadřuje změny v hodnotách hodnoceného znaku. Dále byly

hodnoty asociace jednotlivých SNP korigovány podle genetické příbuznosti položek mezi položkami a podle genetické struktury, která byla již dříve rozpoznána v hodnocené kolekci brambor. Polymorfismy SNP označené touto metodou za nejvíce asociované v jednotlivých lokusech jsou obzvlášť vhodné pro jejich použití v markery asistované selekci, neboť jsou očištěny od vlivu ostatních blízkých SNP. Paralelně s přicházejícími výsledky asociacních studií byl zahájen převod vybraných SNP u některých znaků na PCR markery, které budou použity ve šlechtění.

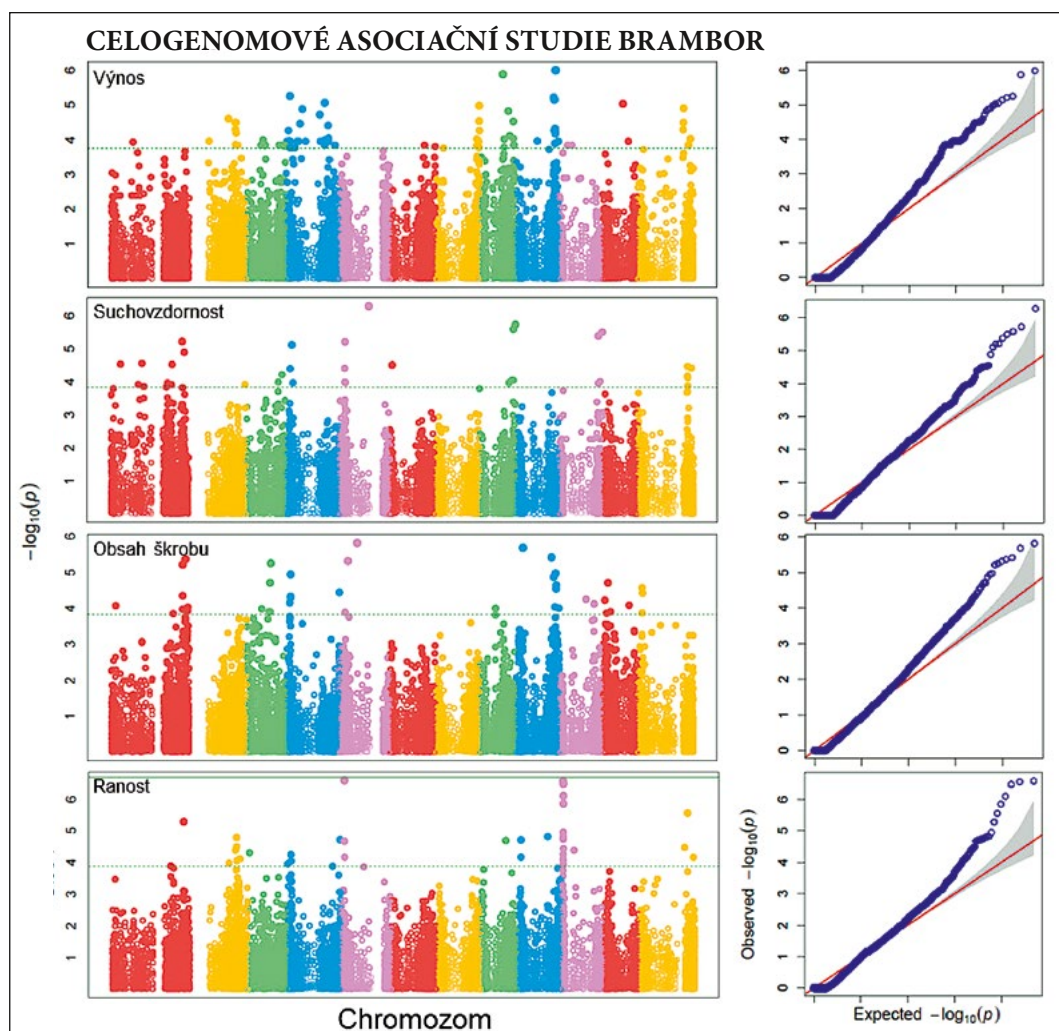
U těchto vybraných sledovaných znaků (vhodnost pro přípravu lupínků, hranolků a kaší, chuť hlíz po uvaření ve slupce v páře, odolnost k mechanickému poškození a odolnost k plísni bramboru) jsme doplnili nově získaná fenotypová data šlechtitelských materiálů a analýza byla provedena opakovaně. Nyní již bylo zjištění vazby mezi fenotypovým projevem a genetickým profilem statisticky průkazné u vhodnosti pro přípravu lupínků, hranolků a kaší, avšak pro chuť hlíz po uvaření ve slupce v páře, odolnost k mechanickému poškození a odolnost k plísni bramboru byly výsledky asociace statisticky neprůkazné, ale i přes to lze nejlepší výsledky těchto asociací použít pro navržení PCR primerů, jejichž diagnostické využití bude třeba ověřit v potomstvu. Statisticky průkazné vazby mezi fenotypovým projevem a genetickým profilem byly získány tedy u třech nově zařazených fenotypových znaků. Celkově jsme u jedenácti testovaných fenotypových znaků brambor našli desítky statisticky průkazných asociovaných SNP na úrovni významnosti  $P = 0,05$  po korekci na mnohonásobné porovnání. Tyto SNP se vztahem k fenotypovému projevu byly vybrány pro tvorbu souboru molekulárních DNA markerů, které jsou vhodné k markery asistované selekci brambor a k převodu na PCR markery.

Doposud dosažené výsledky ukázaly, že by celogenomové genotypování a GWAS přístup mohly být efektivní vzhledem k nákladům a rychlosti získání výsledků nových molekulárních markerů pro selekci zájmových znaků.

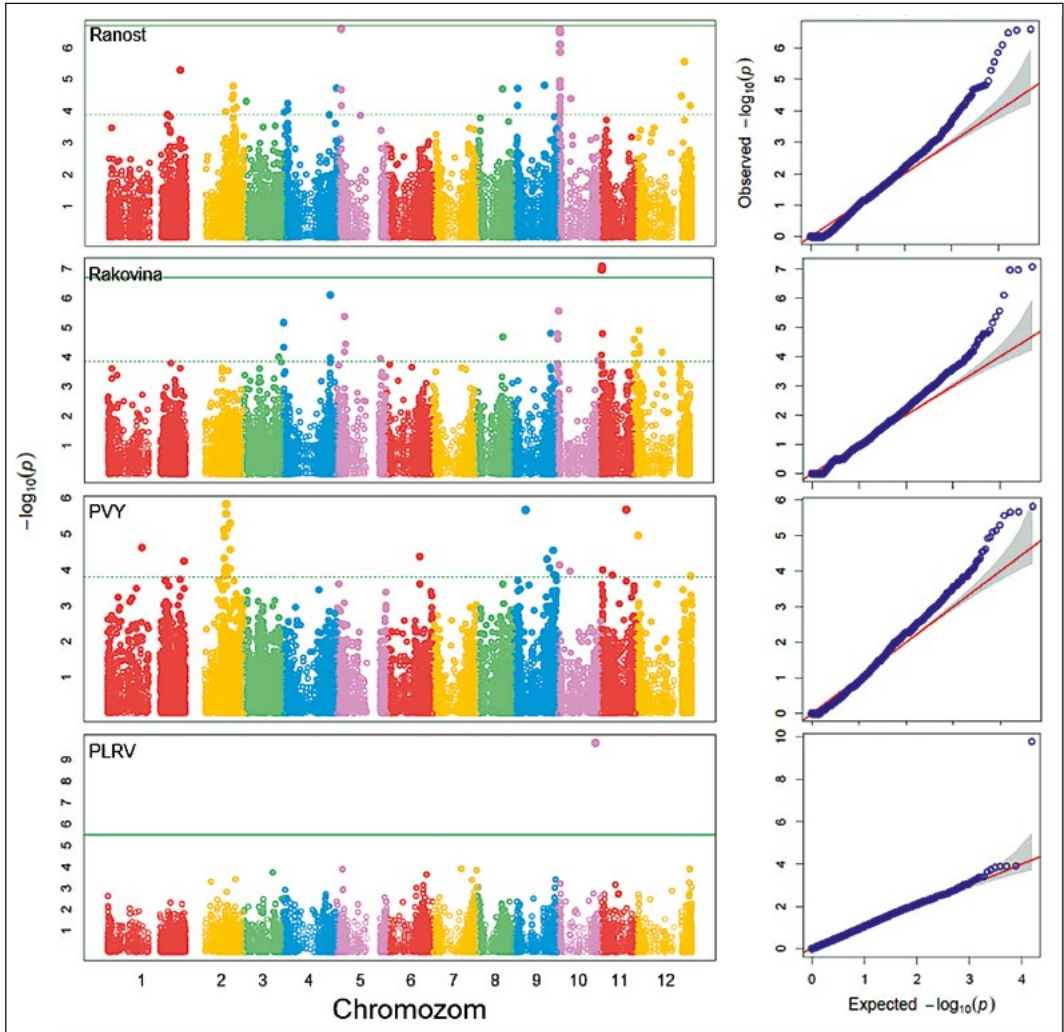
Dále si již musí šlechtitel z těchto souborů asociovaných markerů vybrat ty SNP, u nichž jsou jejich benefitní alely žádanou komponentou nově tvořených odrůd. Při výběru asociovaného SNP pro převod na selekční marker se nesmí opomenout také hledisko dostupnosti benefitních alel v donorových genotypech v kolekcích genotypů určených pro šlechtění. Vybrané SNP lze převést na markery sériově detekovatelné v potomstvu celou řadou metod.

Doposud dosažené výsledky ukázaly, že by celogenomové genotypování a GWAS přístup mohly být efektivní vzhledem k nákladům a rychlosti získání výsledků.

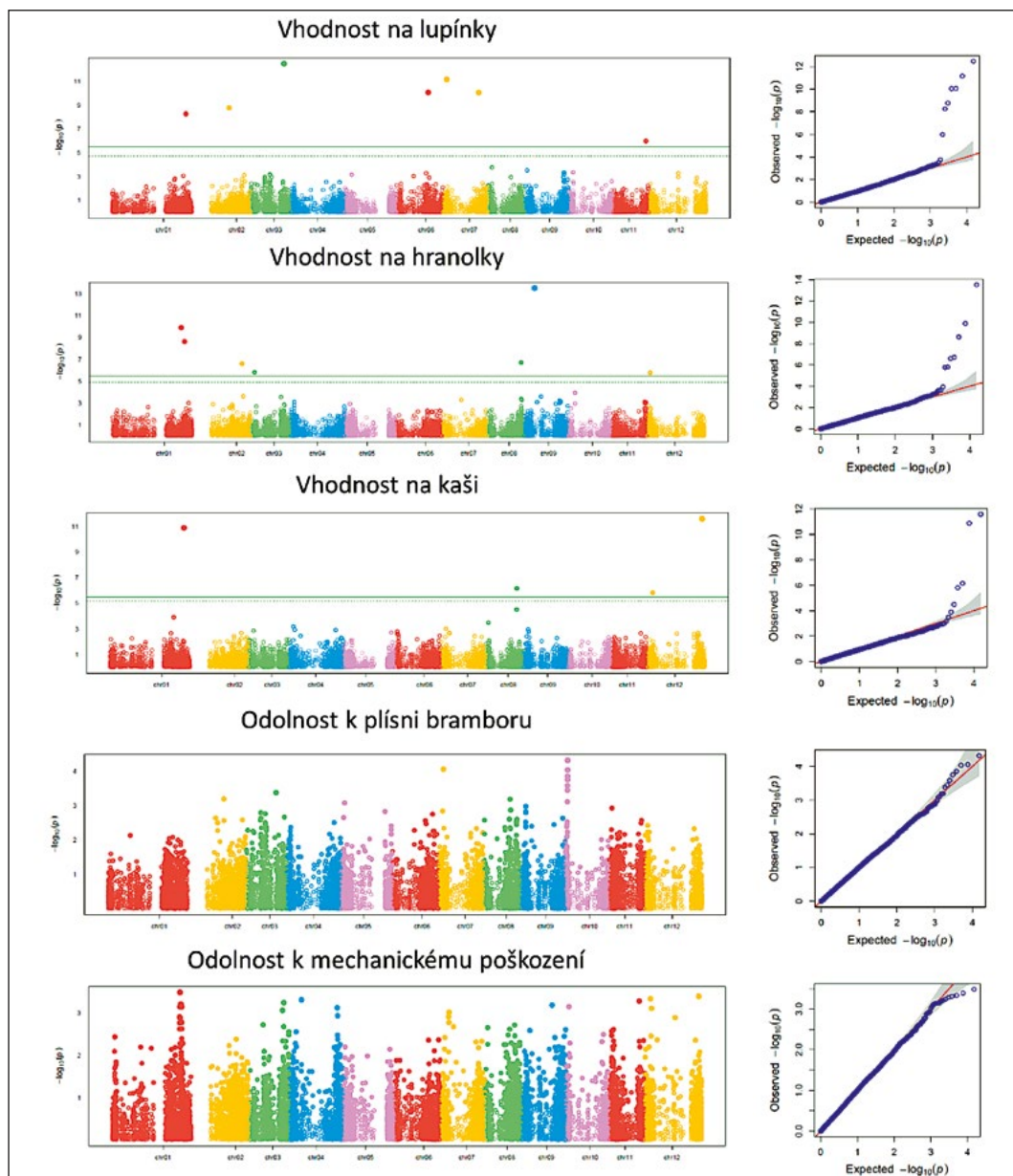
Obr. 1: V levé části obrázku jsou tzv. Manhattan grafy, které graficky znázorňují genotypovou asociaci k sledovanému znaku plodiny. Každý bod představuje jednonukleotidovou záměnu v řetězci DNA tzv. SNP. Úroveň asociace SNP je určena jeho vertikální pozicí v grafu. V horizontálním směru je znázorněna pozice SNP v genomu brambor. Barevně jsou rozlišeny jednotlivé chromozomy genomu lilku bramboru. Úroveň asociace je vyjádřena pomocí záporného dekadického logaritmu P-hodnoty statistického testu vypočtenou metodou BLINK. Zelená čára je hranice statistické významnosti P-hodnoty upravené na mnohonásobné testování na úrovni FDR = 0,05 (přerušovaná) nebo FDR = 0,01 (plná). V pravé části grafu jsou příslušné Q-Q grafy znázorňující distribuci hodnot úrovně asociace pozorovaných a očekávaných, červená čára kopíruje teoretickou hladinu očekávaných hodnot, velká odchylka vyšších pozorovaných hodnot od hodnot očekávaných značí vysokou naměřenou míru asociace mezi genetickým polymorfismem a sledovaným znakem.



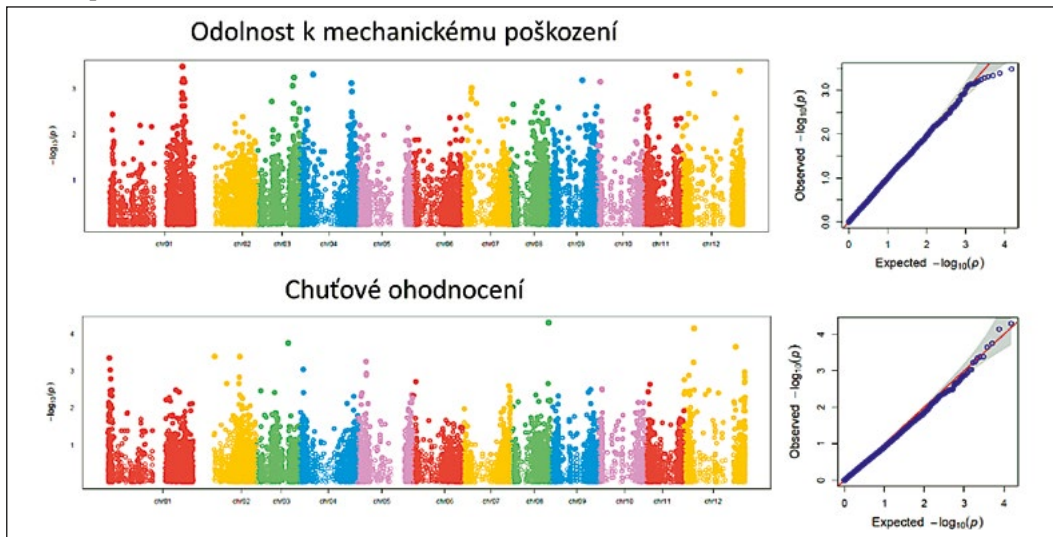
Obr. 1: pokračování



Obr. 2: Grafy celogenomových genetických asociací s vybranými popisnými znaky brambor. V levé části jsou zobrazeny Manhattan grafy síly asociace příslušného znaku s genetickými variantami SNP. Řazení variant SNP je podél referenčního genomu bramboru v4.04 (HARDIGAN *et al.*, 2016). V pravé části jsou v Q-Q grafech přiřazeny k očekávanému rozložení výsledných hodnot hodnoty pozorované, z čehož lze odvozovat statistickou sílu asociace vyjádřenou použitým modelem. Zelená čára označuje hranici hodnoty  $P=0,05$  (čárkovaná) a  $P=0,01$  (plná) po korekci na mnohonásobné testování.



Obr. 2: pokračování



## PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla díky podpoře TA ČR na projekt NCKTN01000062 a Národnímu programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity MZE-62216/2022-13113/6.2.3.

## LITERATURA

- BENJAMINI, Y. – HOCHBERG, Y. (1995): Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 57(1): 289–300.
- HARDIGAN, M. A. – CRISOVAN, E. – HAMILTON, J. P. – KIM, J. – LAIMBEER, P. – LEISNER, C. P. – MANRIQUE-CARPINTERO, N. C. – NEWTON, L. – PHAM, G. M. – VAILLANCOURT, B. – YANG, X. – ZENG, Z. – DOUCHES, D. S. – JIANG, J. – VEILLEUX, R. E. – BUELL, C. R. (2016): Genome reduction uncovers a large dispensable genome and adaptive role for copy number variation in asexually propagated *Solanum tuberosum*. *The Plant Cell*, 28: 388–405.
- HAWKES, J. G. (1990): *The potato: evolution, biodiversity and genetic resources*. London: Belhaven.
- 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.
- HUANG, M. – LIU, X. – ZHOU, Y. – SUMMERS, R. M. – ZHANG, Z. (2019): BLINK: A package for the next level of genome-wide association studies with both individuals and markers in the millions. *Gigascience*, 8(2).
- PTÁČEK, J. – TRNĚNÝ, O. – KOPAČKA, V. – ŠAFÁŘ, J. – ŠVECOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J. – ČEPLOVÁ, M. – KRPÁLKOVÁ, A. (2020): První přínosy celogenomového genotypování pro bramborářskou praxi. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod*, 26: 9–18.
- VANRADEN, P. M. (2008): Efficient methods to compute genomic predictions. *J Dairy Sci.*, 91(11): 4414–4423.
- VIDNER, J. – DOBIÁŠ, K. – KONRÁD, J. – DĚDIČ, P. – BAREŠ, I. – SEHNALOVÁ, J. (1987): *Klasifikátor – genus Solanum L.* [Classifier – genus *Solanum L.*]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. Genové zdroje (31). 45 s.

PTÁČEK, J. – TRNĚNÝ, O. – KLIČKA, V. – ŠAFÁŘ, J. – ŠVECOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J. – ČEPLOVÁ, M.  
**SUMMARY OF THE BENEFITS OF GENOTYPE ANALYZES USING DARTSEQ FOR POTATO PRACTICE**

**Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 33–42**

As part of the platform NCKTN01000062 "Biotechnological Center for Plant Genotyping", Subproject TN01000062/04 – Potatoes was coordinated at PRI Havlíčkův Brod (in cooperation with the IEB of the Academy of Sciences of the Czech Republic and VESA Velhartice.)

The solution of this unique project took place between 2019 and 2022, here we present all the achieved results.

DNA; DArT; genotyping; potato; association analysis

*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



## TVORBA NOVÝCH GENOTYPŮ BRAMBORU S ČERVENOU DUŽNINOU S VYUŽITÍM MUTANTA Z UVC OZAŘOVÁNÍ PROTOPLASTŮ ODRŮDY HERBY

### CREATION OF NEW GENOTYPES OF RED-FLESHED POTATO USING A MUTANT FROM UVC IRRADIATION OF PROTOPLASTS OF THE HERBY VARIETY

Marie GREPLOVÁ, Renata ŠVECOVÁ, Romana HAMPEJSOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

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

GREPLOVÁ, M – ŠVECOVÁ, R. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

#### TVORBA NOVÝCH GENOTYPŮ BRAMBORU S ČERVENOU DUŽNINOU S VYUŽITÍM MUTANTA Z UVC OZAŘOVÁNÍ PROTOPLASTŮ ODRŮDY HERBY

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 43–52

Toto sdělení navazuje na článek z roku 2013 popisující vznik mutantů odrůdy Herby pomocí ozařování protoplastů ultrafialovým zářením (GREPLOVÁ *et al.*, 2013). Šlechtitelská práce pokračovala se dvěma mutanty: Herby 6/9 a Herby 6/29. Byla sledována fertilita pylu a oba genotypy byly zahrnuty do klasické hybridizace. Nasazení květů nebylo velké a záleželo i na ročníku. V průběhu sledovaného období se podařilo uskutečnit zpětné dosycovací křížení s odrůdou Herby – back cross generace (I. BCG) a následně bylo úspěšné opylení křížencem s barevnou dužninou za vzniku II. cross generace (II. CG). Získané hybridní potomstvo vykazovalo dostatečný počet jedinců s homogenně vybarvenou dužninou, ale naproti tomu se projevil snížený výnos i nedostatky chuti v testech stolní hodnoty. Získané poznatky poukazují na složitost hybridizace u tetraploidní plodiny, jakou je brambor (*Solanum tuberosum*).

mutageneze; hybridizace; barevná dužnina; stolní hodnota

## ÚVOD

Ultrafialové záření (UV) je součástí elektromagnetického spektra. UVC je tzv. krátkovlnné záření v rozsahu 280-100 nm. Toto UV záření již začíná být na své dolní hranici ionizující (wikipedie). Při dopadu dochází k ionizaci a excitaci, přičemž je absorbována energie (SÚJEB). UV záření může vést k poškození DNA, zejména přímou tvorbou pyrimidinových dimerů (CVETKOVIC *et al.*, 2023) a vznikem reaktivních forem kyslíku, které zapříčiňují oxidativní stres (HE *et al.*, 2008). Může způsobit změny v DNA jako mutace nebo chybné replikace DNA (HUO *et al.*, 2022), strukturální změny v chromozomech (BHOI *et al.*, 2022). Nicméně je také známo, že řídké ionizující záření může v oblasti velmi nízkých dávek stimulovat chromozómové reparace a vést k pozitivnímu účinku. Tento jev se nazývá *hormeze* (SÚJEB). UV záření jako technika fyzikálního působení k vyvolání mutagenese je využívána šlechtiteli (BHOI *et al.*, 2022). Přírodním zdrojem UVC je Slunce, ale může pocházet také ze speciálních lamp nebo laseru (NZIP) a takto kontrolovaně může být cíleně využito. Tento příspěvek informuje o úspěšnosti cílené hybridizace mutovaných genotypů Herby a představuje získané potomstvo.

## MATERIÁL A METODY

Do hybridizace byly zahrnuty dva mutované genotypy Herby: 6/9 a 6/29, které byly získány v předchozím řešení aplikací UVC ozařování protoplastů (GREPLOVÁ *et al.*, 2013) a byly uchovávány v *in vitro* podmínkách. Vybrány byly pro sytější barvu dužniny, ačkoli jejich výnos nedosahoval úrovně výchozí odrůdy Herby a stolní hodnota byla rovněž nižší (GREPLOVÁ *et al.*, 2013). *In vitro* rostliny byly kultivovány na MS médiu bez hormonů (MURASHIGE a SKOOG, 1962) v kultivační místnosti s fotoperiodou 16/8 h světlo/tma (světelné podmínky: zářivky, denní světlo,  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) při 22 °C. Rostliny z *in vitro* podmínek byly aklimatizovány a převedeny do substrátu B (Rašelina Soběslav) a další kultivace probíhala v technickém izolátu. U mutantů byla sledována stabilita pozměněného morfologického projevu nejprve v technickém izolátu a následně i v polních podmínkách.

Rostliny byly hodnoceny podle Deskriptoru (HUAMAN *et al.*, 1977). V technickém izolátu byly vysazeny 3 rostliny a v dalším roce 3 hlízy, na poli bylo vysazeno 5 hlíz na genotyp. Fertilita pylu byla hodnocena podle FRČEK (1988), postup je popsán také v GREPLOVÁ *et al.* (2009). Cílené opylování bylo realizováno nanášením pylu na blizny vykastrovaných květů ve stádiu poupěte. Stolní hodnota byla stanovena podle ČSN 462211:1988 a varný typ podle ČERMÁK (2009).

## VÝSLEDKY

V morfologii barvy dužniny byla u mutantů zaznamenána stabilita jak při pěstování v technickém izolátu, tak v polním pěstování. Kvetení bylo problematické zejména u mutantu Herby 6/9, zatímco mutant Herby 6/29 kvetl téměř pravidelně. Fertilitu pylu a počty opylených květů v letech uvádí Tab. 1 a 2.

Tab. 1: Fertilita pylu u mutantních genotypů v průběhu pěti let v porovnání s fertilitou pylu výchozí odrůdy Herby

	Fertilita pylu (%)					
	2012	2014	2015	2016	2017	Ø
Herby 6/9	~	~	68	72	~	~
Herby 6/29	83	77	68	66	67	72
Herby	~	88	76	78	~	81

~ fertilita pylu nebyla stanovena

Tab. 2: Přehled počtu opylených květů ve dvou čtyřletých cyklech a zisk I. BC generace

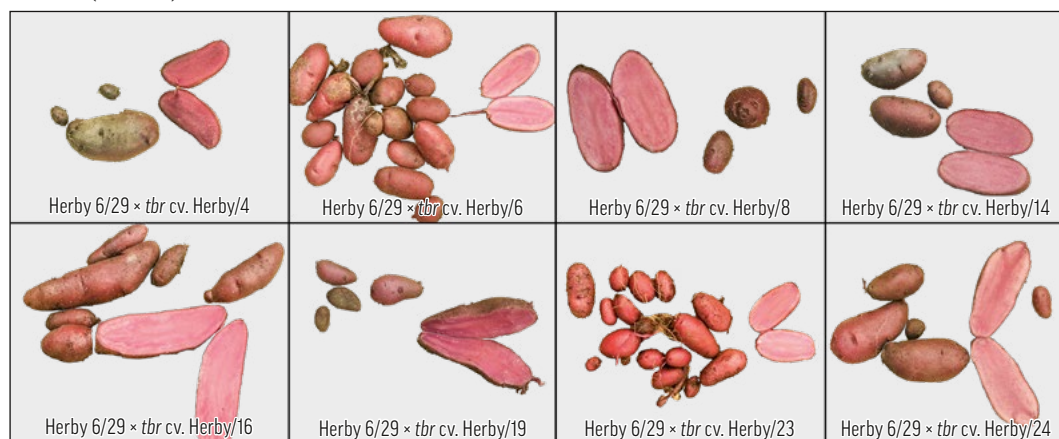
1. cyklus	Počet opylených květů						2. cyklus	Počet opylených květů					
	2014	2015	2016	2017	Σ	Ø		2021	2022	2023	2024	Σ	Ø
Herby 6/9	2	12	1*	28	43	11	Herby 6/9	—	—	—	—	—	—
Herby 6/29	14	12	35**	3	64	16	Herby 6/29	22	41	8	26	97	24

\* zjištěno chimérické pletivo a vyřazení ze sledování v dalším cyklu

\*\* 8 bobulí, 266 semen, v násled. roce 37 hlízotvorných regenerantů

V roce 2016 se zdařilo dosycovací křížení: Herby 6/29 × *tbr* cv. Herby. Celkem bylo získáno 8 bobulí s 266 semeny.

Obr. 1: Výběr z potomstva dosycovacího křížení mutantu Herby 6/29: Herby 6/29 × *tbr* cv. Herby (I. BCG)



Z výsevu těchto semen vzešlo 37 hlízotvorných genotypů, z nichž osm s červenou nebo růžovou dužninou bylo vyhodnoceno jako perspektivních k dalšímu využití. Tento výběr dokumentuje Obr. 1 a Tab. 3. V dalším cyklu (2021–2024) opylování mutanta Herby 6/29 nebyl zaznamenán úspěch.

Tab. 3: Přehled vybraných genotypů z I. BCG (2018), počet opylených květů a zisk II. CG (2019, 2020)

Rostlina v technickém izolátu			Hlízy					Počet opylených květů**		Bobulí/ semen
	Výška (cm)	Kvetení	Barva slupky	Barva dužniny	Tvar	Hmot. (g) na rostlinu	Počet hlíz na rostlinu	2019	2020	2020
Herby 6/29 × Herby /4	60	-	červená	světlé růžová	rohličkovitý	37	4	0	0	
Herby 6/29 × Herby /6	120	-/✓	červená	růžová, obvod krémová	oválný	187	17	0	10	
Herby 6/29 × Herby /8	90	-	červená	růžová	oválný	58	4	0	0	
Herby 6/29 × Herby /14	50	-	červená	sytlejší růžová	oválný	13	4	0	0	
Herby 6/29 × Herby /16	80	P/✓	červená	růžová mramorová	rohličkovitý	103	6	0	1	
Herby 6/29 × Herby /19	90	P/✓	červená	sytlejší růžová	rohličkovitý	64	5	0	6	1/63
Herby 6/29 × Herby /23	130	✓	červená	světlé růžová	oválný	189	17	0	12	2/177
Herby 6/29 × Herby /24	90	P	červená	růžová mramorová	oválný	75	6	26	2	

~ fertilita pylu nebyla stanovena; P – poupata

Kříženci I. BCG nekvety nebo shazovaly poupata. Přesto bylo v roce 2020 úspěšné opylování dvou genotypů se ziskem bobulí a semen: **Herby 6/29 × Herby/19 a Herby 6/29 × Herby/23** (Tab. 3). Úspěšným opylovačem byl v obou případech hybrid 10.9/1 s červenou slupkou i dužninou, který byl v roce 2022 registrován jako odrůda Val Red.

Z kombinace [Herby 6/29 × Herby/19] × 10.9/1 (pracovní označení **Rút**) bylo získáno 63 semen a vzešlo (v roce 2021) 16 semenáčů (12 hlízotvorných). Z kombinace [Herby 6/29 × Herby/23] × 10.9/1 (pracovní označení **Ráchel**) bylo získáno 177 semen a vzešlo (v roce 2022) 128 semenáčů (110 hlízotvorných). Po screeningu všech hlízotvorných kříženců byla provedena selekce podle kvality hlíz se zaměřením zejména na barevnou dužninu. Přehledy uvádí Tab. 4 a 5 a Obr. 2 a 3.

Tab. 4 Přehled vybraných genotypů Rút - [Herby 6/29 × Herby/19] × 10.9/1 ze skleníku (II. CG)

Rostlina v technickém izolátu			Pylová fertilita (%)	Hlízy					Stolony	
	Výška (cm)	Kvetení		Barva slupky	Barva dužniny	Tvar	Hmotnost (g) na rostlinu	Počet hlíz na rostlinu		
Rút = 20_21 [[Herby 6/29 × Herby/19] × 10.9/1]										
Rút 1	140	✓	39,2	červená	růžová	rohličkovitý	135	9	-	
Rút 2	140	✓	64,4	fialová	tm.fialová	rohl./kulovitý	284	14	-	
Rút 3	150	✓	49,4	červená	světlé růžová	rohličkovitý	239	15	-	

Obr. 2: Výběr genotypů Rút z Tab. 4 (II. CG)

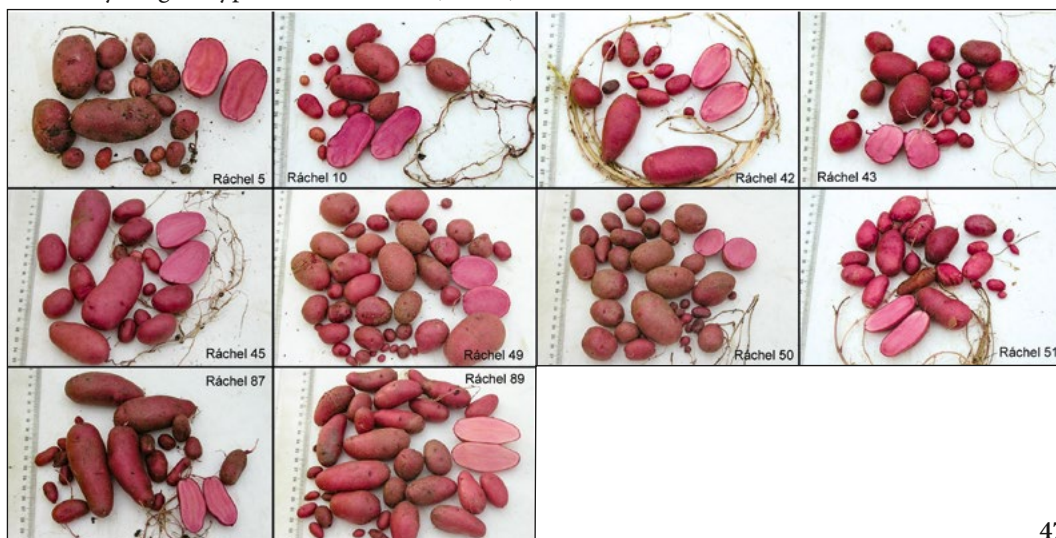


Tab. 5 Přehled vybraných genotypů Ráchel – [Herby 6/29 × Herby/23] × 10.9/1 ze skleníku (II.CG)

Rostlina v technickém izolátu			Pylová fertilita (%)	Hlízy					Stolony
	Výška (cm)	Kvetení		Barva slupky	Barva dužniny	Tvar	Hmotnost (g) na rostlinu	Počet hlíz na rostlinu	
Ráchel = 20_22 [[Herby 6/29 × Herby/23] × 10.9/1]									
Ráchel 5	190	✓	72,6	červená	sytě růžová	oválný	131	19	-
Ráchel 10	165	✓	67,6	červená	sytě růžová	oválný	83	17	✓
Ráchel 42	140	✓	83,0	červená	růžová - šedě mramorovaná	dlouze oválný	84	13	✓
Ráchel 43	135	✓	~	červená	růžová	oválný	166	26	✓
Ráchel 45	165	P	~	červená	sytě růžová	dlouze oválný	287	17	✓
Ráchel 49	160	✓	76,8	červená	sytě růžová	oválný	437	42	-
Ráchel 50	160	✓	78,5	červená	sytě růžová	kulatý až oválný	348	35	✓
Ráchel 51	145	✓	80,2	červená	sytě růžová	oválný	131	23	✓
Ráchel 87	170	✓	78,9	červená	sytě růžová až našedlá	dlouze oválný až rohličkovitý	242	20	✓
Ráchel 89	155	✓	82,9	červená	růžová - béžově mramorovaná.	rohličkovitý	360	33	-

~ fertilita pylu nebyla stanovena; P – poupata

Obr. 3: Výběr genotypů Ráchel z Tab. 5 (II. CG)



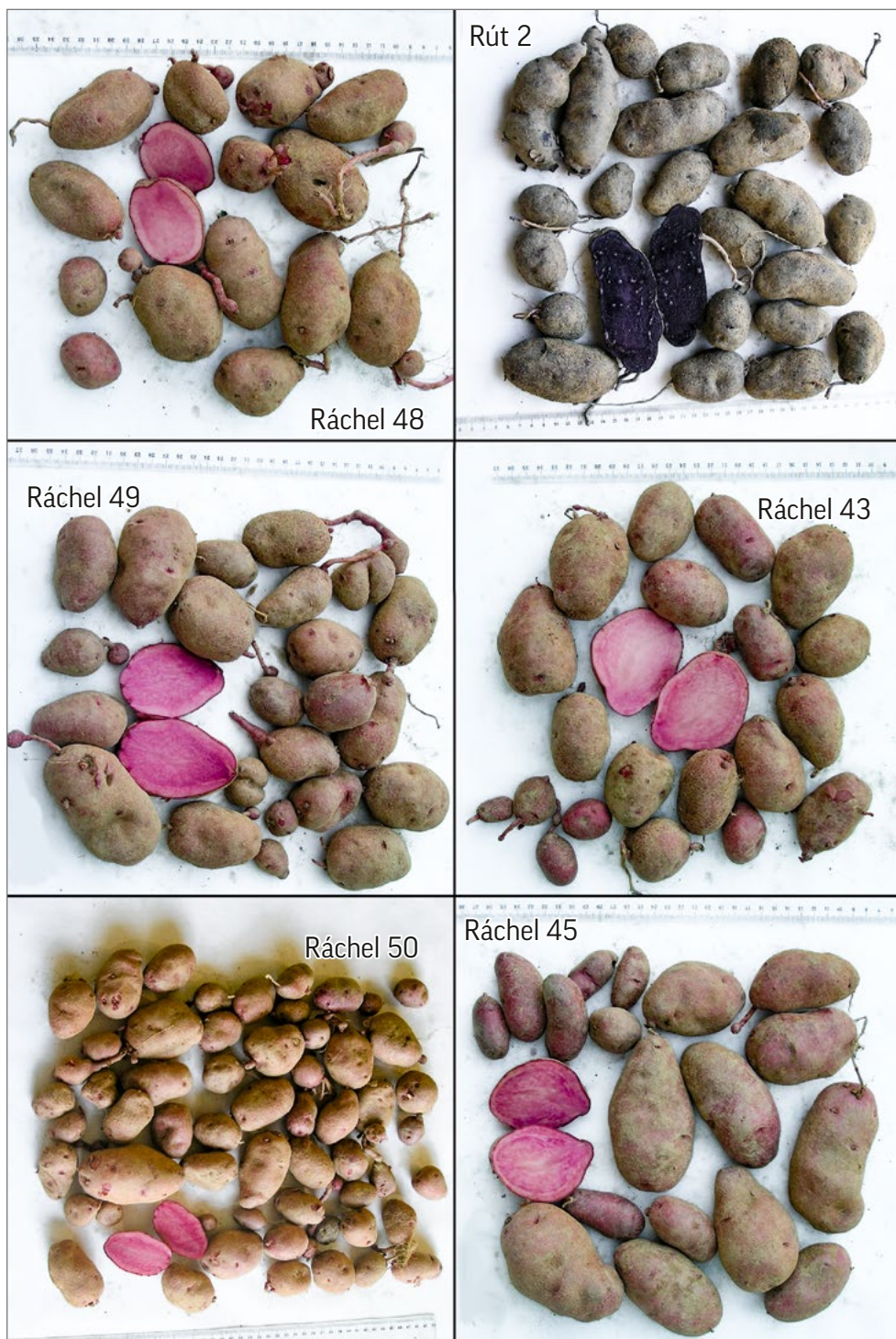
V roce 2023 byla v polních podmínkách ze skupiny Rút pěstována pouze Rút 2. Výnos na trs činil 0,93 kg s 21 hlízami. V testu stolní hodnoty **Rút 2** dosáhla celkový počet 67 bodů, což je úroveň 79 % kontrolní odrůdy Antonie (85 bodů). Ztráta bodů byla v chuti a v pevnosti dužniny, méně atraktivní byl rovněž varný typ CB. V roce 2024 bylo v polních podmínkách ze skupiny Ráchel pěstováno 5 genotypů (Ráchel 43, 45, 48, 49 a 50). Do testu stolní hodnoty (SH) byly vybrány **Ráchel 45 a 49**. Výnos byl u vybraných kříženců nižší, žádný nedosáhl 1 kg na trs. Celkový počet bodů stolní hodnoty dosáhl u nejvýnosnější Ráchel 49 až 75 bodů (téměř 95 % kontroly; Antonie 79 bodů) s varným typem BA, který je pro speciální použití velmi vhodný. Výnosy a výsledky zkoušek SH dokumentuje Tab. 6 a Obr. 4.

Tab. 6: Výběr kříženců II. CG z polního pěstování: Rút\* v roce 2023 a Ráchel v roce 2024

	výnos hlíz na trs		celkové body SH	varný typ
	kg	počet		
Rút 2*	0,93	21	67	CB
Ráchel 43	0,69	19	~	~
Ráchel 45	0,55	6	73	B
Ráchel 48	0,51	14	~	~
Ráchel 49	0,83	26	75	BA
Ráchel 50	0,76	24	~	~

~ stolní hodnota a varný typ nebyly stanoveny

Obr. 4: Výběr kříženců II. CG mutanta Herby 6/29 z polního pěstování roku 2023 (Rút) a roku 2024 (Ráchel)



## ZÁVĚR A DISKUSE

Aplikací UVC záření na protoplasty došlo u vybraných genotypů k posunu intenzity zbarvení dužniny. Současně se ale dostavilo snížení výnosu a částečně i zhoršení stolní hodnoty (GREPLOVÁ *et al.*, 2013). Přes zpětné křížení (I. BCG) a II. CG zůstal výnos na trs pod úrovní jednoho kilogramu, ale došlo ke zlepšení stolní hodnoty. Obsah glykoalkaloidů, který může ovlivnit chuťové vlastnosti, nebyl stanoven. Jejich koncentrace je spíše odrůdovou záležitostí než vazbou na množství antokyanů v hlízách, jak prokázal HAMOUZ *et al.* (2014): většina testovaných odrůd s barevnou dužninou vykazovala 1,53× vyšší hodnoty glykoalkaloidů a jedna odrůda absolutně nejnižší obsah ze všech 14 sledovaných kultivarů. Vliv genotypu a nikoli barva dužniny na koncentraci glykoalkaloidů potvrzuje i práce URBANA *et al.* (2018).

Šlechtění bramboru zaměřené na získání nových genotypů s vyšším obsahem antokyanů v dužnině má velký potenciál u spotřebitelů. Zdravotní benefity přírodních barviv se dostávají do širšího povědomí, zejména pro jejich antioxidační potenciál, a proto zájem o takové odrůdy postupně vzrůstá (WEGNER *et al.*, 2010). Blíže spotřebitelům je i čínská netransgenní odrůda Hongmei s červenou dužninou a se sníženým obsahem glykoalkaloidů na bezpečné úrovni pro konzum dužniny zasyrova, kdy je benefitem nejen vysoký obsah přírodních barviv, ale v plné míře je zachován i obsah kyseliny askorbové - vitamínu C (XU *et al.*, 2018).

## PODĚKOVÁNÍ

Práce byla realizována s podporou MZe SZIF - Tvorba genotypů bramboru s vysokou rezistencí k biotickým a abiotickým faktorům a diferencovanou kvalitou pomocí biotechnologických postupů a experimentální hybridizace s využitím různých úrovní ploidie a zdrojů rezistence, v rámci dotačního programu: 3.



## LITERATURA

- BHOI, A. – YADU, B. – CHANDRA, J. – KESHAVKANT, S. (2022): Mutagenesis: A coherent technique to develop biotic stress resistant plants. *Plant Stress*, 3: Article Number: 100053. DOI: 10.1016/j.stress.2021.100053.
- ČERMÁK, V. (2009): Metodika zkoušek užitné hodnoty brambor. ÚKZÚZ, Národní odrůdový úřad.
- CVETKOVIC, S. – VULETIC, S. – VUNDUK, J. – KLAUS, A. – MITIC–CULAFIC, D. – NIKOLIC, B. (2023): The role of *Gentiana lutea* extracts in reducing UV–induced DNA damage. *Mutagenesis*, 38(1): 71–80. DOI: 10.1093/mutage/geac006.
- FRČEK, J. (1988): Nepřímá metoda pro stanovení fertility pylu odrůd bramboru *Solanum tuberosum* L. *CJGPB*, 24: 85–86.
- GREPLOVÁ, M. – POLZEROVÁ, H. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2013): Mutation Breeding of *Solanum tuberosum* using UVC irradiation. *Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborařský Havlíčkův Brod*, 21: 59–74.
- GREPLOVÁ, M. – POLZEROVÁ, H. – DOMKÁŘOVÁ, J. (2009): Intra– and inter–specific crosses of *Solanum* materials after mitotic polyploidization *in vitro*. *Plant Breeding*, 128: 651–657.
- HAMOUZ, K. – PAZDERŮ, K. – LACHMAN, J. – ORSÁK, M. – PIVEC, V. – HEJTMÁNKOVÁ, K. – TOMÁŠEK, J. – ČÍŽEK, M. (2014): Effect of cultivar, flesh colour, location and year of cultivation on the glycoalkaloid content in potato tubers. *Plant Soil and Environment*, 60 (11): 512–517. DOI 10.17221/596/2014–PSE
- HE, R. – DRURY, G. E. – ROTARI, V. I. – GORDON, A. – WILLER, M. – FARZANEH, T. – WOLTERING, E. J. – GALLOIS, P. (2008): Metacaspase–8 modulates programmed cell death induced by ultraviolet light and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry*, 283(2): 774–783; DOI: 10.1074/jbc.M704185200
- HUAMAN, Z. – WILLIAMS, J. T. – SALHUANA, W. – VINCENT, L. (1977): Descriptors for the cultivated potato and for the maintenance and distribution of germplasm collections. International board for plant genetic resources, Rome, Italy.
- HUO, H. – HE, Y. – CHEN, W. – WU, L. – YI, X. – WANG, J. (2022): Simultaneously monitoring UVC–induced DNA damage and photoenzymatic repair of cyclobutane pyrimidine dimers by electrochemical impedance spectroscopy. *Talanta*, 239: 123081. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.123081.
- MURASHIGE, T. – SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473–497.
- URBAN, J. – HAMOUZ, K. – LACHMAN, J. – PULKRÁBEK, J. – PAZDERŮ, K. (2018): Effect of genotype, flesh colour and environment on the glyco–alkaloid content in potato tubers from integrated agriculture. *Plant Soil and Environment*, 64(4): 186–191. DOI: 10.17221/166/2018–PSE.
- WEGNER, K. – HERRMANN, M. E. – HILLEBRAND, S. – PAWELZIK, E. – ELLROTT, T. (2010): Current research on potatoes Part 2: Undesirable substances and contaminants; flesh–coloured potatoes. *Ernährungs Umschau*, 57(5): 232–237.
- XU, D. – LIU, H. – JIN, CH. – CAO, CH. – LI, W. – ZENG, F. – ZHAO, Y. – LIU, G. (2018): A new potato variety grown in China suitable for raw eating. *European Food Research and Technology*, 244(5): 851–860. DOI: 10.1007/s00217-017-3009-9.
- Národní zdravotnický informační portál: NZIP: <https://www.nzip.cz/rejstrikovy-pojem/3236>.
- SÚJEB: <https://sujb.gov.cz/radiacni-ochrana/oznameni-a-informace/strucny-prehled-biologicky-ucinku-zareni/>.
- Wikipedie:  
[https://cs.wikipedia.org/wiki/Ionizuj%C3%ADc%C3%AD\\_z%C3%A1%C5%99en%C3%AD](https://cs.wikipedia.org/wiki/Ionizuj%C3%ADc%C3%AD_z%C3%A1%C5%99en%C3%AD).  
[https://cs.wikipedia.org/wiki/Slune%C4%8Dn%C3%AD\\_energie](https://cs.wikipedia.org/wiki/Slune%C4%8Dn%C3%AD_energie).  
[https://cs.wikipedia.org/wiki/Ultrafialov%C3%A9\\_z%C3%A1%C5%99en%C3%AD](https://cs.wikipedia.org/wiki/Ultrafialov%C3%A9_z%C3%A1%C5%99en%C3%AD).  
<https://cs.wikipedia.org/wiki/Hormeze>.

GREPLOVÁ, M – ŠVECŮVÁ, R. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

**CREATION OF NEW GENOTYPES OF RED-FLESHED POTATO USING A MUTANT FROM UVC IRRADIATION OF PROTOPLASTS OF THE HERBY VARIETY**

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 43–52

This communication follows up on the 2013 article describing the emergence of mutants by UVC irradiation (GREPLOVÁ *et al.*, 2013). Breeding work continued with two mutants Herby 6/9 and Herby 6/29. Pollen fertility was monitored and both genotypes were included in classical hybridization. Flower setting was not high and also depended on the year. During the monitored period, a back-crossing with the Herby variety was successfully carried out - back cross generation (I. BCG) and subsequently pollination with a cross with colored pulp was successful and the II. cross generation (II. CG) was formed. The obtained hybrid offspring showed a sufficient number of individuals with homogeneously colored pulp, but on the other hand, a reduced yield and taste deficiencies were observed in table value tests. The obtained knowledge points to the complexity of hybridization in a tetraploid crop such as potato (*Solanum tuberosum*).

mutagenesis; hybridization; colored pulp; table value

*Kontakt:*

Ing. Marie GREPLOVÁ, Ph.D.

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

Dobrovského 2366

580 01 Havlíčkův Brod

Česká republika

tel.: +420 569 466 218

e-mail: greplova@vubhb.cz

## JINÝ POHLED NA GENETIKU A DĚDIČNOST – SEZNÁMENÍ S OBJEVY LAUREÁTKY NOBELOVY CENY BARBARY McCLINTOCK

### A DIFFERENT VIEW OF GENETICS AND HEREDITY – MEET THE DISCOVERIES OF NOBEL LAUREATE BARBARA McCLINTOCK

Marie GREPLOVÁ, Romana HAMPEJSOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

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

GREPLOVÁ, M. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

#### JINÝ POHLED NA GENETIKU A DĚDIČNOST – SEZNÁMENÍ S OBJEVY LAUREÁTKY NOBELOVY CENY BARBARY McCLINTOCK

Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 53–60

V minulém roce uplynulo 40 let od udělení Nobelovy ceny za fyziologii a lékařství Barbaře McClintock. Své poznatky poprvé publikovala před téměř tři-čtvrté stoletím. Americká bioložka B. McClintock při studiu variability barvy kukuřičných zrn důsledně evidovala i výjimky. Její experimenty vedly k pochopení vztahu mezi nestabilními mutacemi a pohyblivými elementy (transpozony) v genomu. Tyto pohyblivé úseky DNA také zodpovídají za specifickou genovou expresi v organismu jako celku tím, že se v určitém okamžiku nebo v určité části zapínají a vypínají.

transponovatelné elementy; mutace; dědičnost; kukuřice

## ÚVOD

Všeobecně není americká bioložka Barbara McClintock (1902–1992) široké veřejnosti známa. Přestože byla oceněna Nobelovou cenou za fyziologii a lékařství (1983), její objevy nebyly výrazněji popularizovány a rozhodně se nestaly samozřejmou součástí naší představy o fungování genetické informace. V češtině je možné se s touto pozoruhodnou osobností i jejím výzkumem seznámit v knize *Střetnutí paradigmat a řád nové skutečnosti* autorů Z. NEUBAUERA a J. FIALY (Malvern 2011). V publikaci je k dispozici i překlad její nobelovské přednášky *Plasticita genomu jako odpověď na nepředvídatelné situace* (The Significance of Responses of the Genome to Challenge; v originále na <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/mcclintock-lecture.pdf>), kde popisuje svoje poznatky o mechanismech genetické regulace. Uvádí např., jak jeden keř může vytvořit v reakci na naklazení hmyzích vajíček několik typů specifických útvarů – hálek pro potřeby těchto hmyzích dru-

hů, nebo jak stejný genetický program platí pro housenku a motýla. Autoři knihy provází svůj text také výňatky z životopisné knihy, kterou o Barbaře McClintock napsala Evelyn Fox Keller ještě před udělením Nobelovy ceny (*A Feeling for the Organism, The Life and Work of Barbara McClintock*, 1983; v češtině dosud nevyšlo).

Barbara McClintock byla průkopnicí nového pohledu na fungování genetické informace. Ukázala, že mechanismy genové regulace jsou složitější a nejsou čistě mechanistické. Objevila a prokázala existenci transpozice – mechanismu řízeného přemístování genů z jednoho místa chromozomu na jiné nebo na zcela jiný chromozom. Tyto transponovatelné/mobilní elementy (transpozony, pohyblivé úseky DNA, „skákájící geny“) mají schopnost vypínat a zapínat geny, změnit způsob regulace jejich exprese, dokonce mohou způsobit ztrátu či zmnožení celých úseků genetické informace (NEUBAUER a FIALA, 2011).

První fáze práce na transpozici s objevením regulace (Ac/Ds – aktivátor/disociátor) proběhla v letech 1946–1948, publikována byla v roce 1950 a následující rok prezentovaná na sympoziu (NEUBAUER a FIALA, 2011). Tento revoluční pohled nebyl přijat. Atmosféra ve společnosti nebyla nakloněna přijmout představu aktivních rozsáhlejších genetických změn (NEUBAUER a FIALA, 2011). Experimenty dokazující podstatu transpozice byly příliš složité „i pro nejbystřejší mysl“ a teorie autonomie organismu/buňky byla vnímána jako příliš mystická (LIU, 2021), ne-li heretická (JONES, 2005), a tedy nepřijatelná (NEUBAUER a FIALA, 2011). Ve vědeckém prostředí dominoval mechanistický výklad přírody Reného Descartese (1596–1650), považovaného za hlavní postavu tzv. vědecké revoluce (wikipedie.cz). V roce 1953 přišli Francis Crick a James Watson s modelem dvojité šroubovice DNA, na jejímž objevu se podílela i R. E. Franklinová (wikipedie.cz) a pět let poté (1958) Francis Crick formuloval centrální dogma molekulární biologie, tj. jednosměrný přenos informace: DNA → RNA → protein (wikipedie.cz). Důraz byl kladen na stálost genů a chromozomů a na uspořádaná pravidla, jimiž se řídí dědičnost. Pakliže nastane změna genu (tedy mutace), je tato změna nevratná a důsledkem může být deaktivace genu (FERDOROFF, 1984). Pojetí organismu jako funkční mechanické jednotky a evoluce jako součty náhodných změn ve složení DNA ve společnosti přetrvávalo dalších dvacet let a o významu a dosahu transpozice se nemluvilo (NEUBAUER a FIALA, 2011). Ovšem poté, co byly k dispozici sekvenované genomy (rostlin, myší, lidí), bylo nutné akceptovat, že jsou plně transponovatelných elementů. Jevilo se, že většina genomů obsahuje směs transponovatelných elementů, z nichž některé jsou aktivní, zatímco jiné jsou relikty z minulosti (BIÉMONT, 2010). Namísto lineárních příčinných řetězců vedoucích od DNA přes RNA k bílkovinám a následným biologickým funkcím je organismus na všech úrovních propojen komplexními zpětnovazebnými i anticipačními vazbami s prostředím, které ovlivňují a mění RNA a DNA. Při zpětném pohledu to dává dokonalý smysl, protože „instrukce“ zapsané v DNA nikdy nemohou plně předvídat, co organismus během svého života zažije (HO, 2013).

## TEORIE AUTONOMIE ORGANISMU – SUBJEKT VS. OBJEKT

Východisko tázání Barbary McClintock pramenilo z přesvědčení o subjektivitě organismů. A právě skutečnost, jaké otázky si klademe, se podle Ilji Prigogina (1917–2003) rozhodujícím způsobem podílí na tom, co objevíme. Záleží také na vnitřních (implicitních) předpokladech, na předsudcích (NEUBAUER a FIALA, 2011). Podle Evelyn Fox Keller sama Barbara McClintock považovala za nebezpečí, „když se lidé snaží vše vysvětlit na základě toho, o čem se domnívají, že vědí“. ... Když „lpění na modelech brání lidem podívat se na výsledky s čerstvou myslí“ (NEUBAUER a FIALA, 2011). Upozorňovala na zavedená dogmata, která brání efektivní komunikaci (LIU, 2021). Důvody nepřijetí mcclintokovského poznání souvisely se způsobem vědeckého myšlení a hledání pravdy (NEUBAUER a FIALA, 2011).

## TRANSPOZONY REGULUJÍ NORMÁLNÍ VÝVOJ ORGANISMU, ALE ÚČINKUJÍ I PŘI EXTRÉMNÍ ZÁTĚŽI

Pravidla mívají výjimky. Tím, jak si Barbara McClintock všímala výjimek zbarvení kukuřičných zrn, vyvstaly důležité indicie. Provedla řadu experimentů, které vedly k pochopení vztahu mezi nestabilními mutacemi a transpozicí. Dospěla k závěru, že nestabilní mutace může vzniknout vložením transpozicičního elementu do genu zodpovědného za určitý morfologický projev (FEDOROFF, 1984).

Podle Niny FEDOROFF (1984) Barbara McClintock pochopila, že transpozony v jistém smyslu reverzibilně inhibují genovou expresi, a tím zodpovídají za specifickou genovou expresi v organismu jako celku. V určitém okamžiku vývoje organismu nebo v určité jeho části se zapínají, a jindy a jinde se vypínají (FEDOROFF, 1984), tedy hrají významnou roli v regulaci procesu vývoje, a to díky způsobu, jakým působí v určitých obdobích (JONES, 2005). Jde o jejich celkovou úlohu v „genetické choreografii“ (FEDOROFF, 1984). Transpozony jednak přispívají k přeprogramování genů jemným způsobem (např. geny zodpovědné za syntézu protilátek u vyšších živočichů), ale také se aktivují, když je genom ve stresu. Při silném stresu může dojít doslova ke „genetickému zemětřesení“ či „turbulenci“ (JONES, 2005; FEDOROFF, 1984). Cílem procesů v genech je ale následky stresu zmírnit; jde o „molekulární tanec života“ (HO, 2013), neboť celý organismus směřuje k jedinému cíli, k zachování a k přežití (NEUBAUER a FIALA, 2011). Při velkém stresu může být malá porucha zesílena (FEDOROFF, 1984), mohou nastat hrubé strukturální změny v genomu (JONES, 2005). Jedná se pak spíše o symptom už zhroucené stability organismu než o příčinu jejího zhroucení (HO, 2000).

## ZAJŠTĚNÍ GENETICKÉ STABILITY DRUHU

Mutace v klíčovém genu může být pro buňku fatální a v takovém případě je vysoká míra transpozice nežádoucí. Transpozon má tedy mechanismus regulace genů pro enzymy transpozázu i resolvázu, které transpozici zahajují a ukončují; ukončovací enzym je současně represorem transpozice (FEDOROFF, 1984). Ke specifickým mechanismům omezujícím aktivitu transpozonů také patří represivní mechanismy heterochromatinu - specifické RNA, DNA vazebné faktory (CAVALLI a HEARD, 2019), metylace DNA, modifikace histonů a interference RNA (BIÉMONT, 2010). Mechanismy spojené s konformací chromatinu jsou vzájemně závislé a mohou zapínat nebo vypínat transponovatelné elementy (BIÉMONT, 2010). Buněčnými mechanismy je buňkám umožněno „editovat“ genom (NEUBAUER a FIALA, 2011).

Pozoruhodné ovšem je, že v germinální (zárodečné) linii jsou modifikační mechanismy „drženy přísně na uzdě“ (NEUBAUER a FIALA, 2011). Barbara ve své nobelovské přednášce poukazuje např. na rozdíl, jak organismus naloží s koncovým zlomem v chromozomu. V somatických buňkách např. endospermu se problém přenáší a opakuje se cyklus zlom-spoj-most, ale v zygotě se tento cyklus utne a dojde k tzv. zahojení dosyntetizováním nové funkční telomery (na molekulární úrovni tehdy neprokázaný jev; NEUBAUER a FIALA, 2011). Barbara McClintock totiž označila genom za „vysoce citlivý orgán buňky“, který „dovede vycítit“ úroveň stresu ve svém okolí a dokáže provést různě rozsáhlou restrukturalizaci, která povede k přežití (LIU, 2021). Je-li tedy buňka schopná takové opravy, musí tento zlom vnímat (NEUBAUER a FIALA, 2011). Povědomí o prostředí pravděpodobně znamená přítomnost/existenci vědomí. Oprava chyby ukazuje na záměr. Kterákoli jednotlivá rostlina s miliony buněk je samoorganizující se komplexní systém, kde každá buňka má povědomí o vnitřním a vnějším prostředí. Organismus nezbytně vyhodnocuje z různých možností a rozhoduje se pro nejvýhodnější, tudíž uplatňuje inteligentní chování (TREWAVAS, 2016). Podle srovnávacího sekvenování existuje v germinální linii i evoluční autoprogramování (jiné než diferenciační autoprogramování), takže následky transpozice mohou být děděny (NEUBAUER a FIALA, 2011). K udržení stability organismu je třeba, aby se geny a genomy průběžně adaptovaly. To je podstata organické stability v protikladu ke stabilitě mechanické (HO, 2000).

Od představy stabilního neměnného genomu jsme tak vedeni k představě „tekutého genomu“. Jde o obrat od „genocentrismu“ k „somatocentrismu“ (NEUBAUER a FIALA, 2011).

## STUPNĚ GENETICKÉ REGULACE

Bakterie jsou schopné zahájit tvorbu bílkovin, které potřebují, a zastavit jejich tvorbu, jestliže potřeba pominula. V roce 1961 publikovali francouzští genetici François Jacob a Jacques Monod práci o funkci *lac operonu*, tj. genetického mechanismu bakterií, který umožňuje využívat alternativní zdroj uhlíku (NEUBAUER a FIALA, 2011). Oblasti důležitých genů – operonu je nadřazený regulátorový gen, tzn., že i u bakterií je systém genetické kontroly. Tehdy Barbara McClintock předpokládala, že se její práce dočká pochopení. Transpozice u kukuřice je analogií řídicích mechanismů bakterií. Považovala transpozici logicky za další/vyšší úroveň „genetické regulace“, totiž úroveň přestavby DNA, na rozdíl od přepisu na úrovni RNA (které se říká operonový model) a úrovně funkce zprostředkovanou proteiny. Tato myšlenka nebyla v té době přijatelná (NEUBAUER a FIALA, 2011).

## HORIZONTÁLNÍ PŘENOS GENETICKÉ INFORMACE U BAKTERIÍ

Od šedesátých do osmdesátých let minulého století došlo k významnému poznání v oblasti rezistence bakterií k antibiotikům. Ukázalo se, že nedochází ke změně sekvence nukleotidů (pořadí zápisu), ale že jde o výsledek vložení kusu cizí DNA; že tuto cizí DNA nesou malé mobilní elementy; že k přenosu dochází také napříč mezi bakteriálními druhy, rody, řády a kmeny (FEDOROFF, 1984; HO, 2000), kde transport zajišťují plazmidy (malé kruhové molekuly bakteriální DNA; FEDOROFF, 1984). Např. sekvence DNA rezistentní k neomycinu a kanamycinu byla shodná u *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* a *Campylobacter* sp. (HO, 2000). Objevily se práce o regulaci transposáz (transpozicičních enzymů; NEUBAUER a FIALA, 2011). Pozoruhodné bylo i zjištění, že přeskoky se dějí u nedělicích se bakterií, v období zrání a stárnutí, tedy když nedochází k replikaci DNA (NEUBAUER a FIALA, 2011). Bakterie v kolonii (biofilmu) totiž pilně spolupracují, neznají konkurenci a sdílejí i to nejcennější (HO, 2000), v tomto případě rezistenci k antibiotikům, aby přežily.

## TRANSPONOVATELNÉ ELEMENTY, EPIGENETIKA A EVOLUCE

B. McClintocková pochopila úlohu transpozonů v evoluci dříve než ostatní (wikipedia.org). Možnost uplatnění transponovatelných elementů v evoluci rozvíjí FEDOROFF (1984), a to nejen z hlediska modifikace genové exprese, ale i změny struktury genů a genomů. Tzn. že transpozibilní elementy mohou fungovat velmi decentním způsobem (kdy a kde v organismu bude gen aktivní), ale rovněž mohou být zdrojem takové genetické variability, kdy následně přírodní výběr vytrídí, co je pro daný druh užitečné. K úloze transpozonů v evoluci se přiklání JONES (2005): drastický podnět (enormní stres z prostředí) vyvolá

mobilizaci transpozonů, dojde k „výbuchu“ genetické nestability a nastanou rychlé změny v reakci na změny prostředí. Podle BIÉMONTA (2010) se lze na základě do té doby publikovaných prací domnívat, že transponovatelné elementy významně ovlivnily strukturu, funkci a evoluci genomů a že jejich regulační sekvence mohou zasahovat do regulačních sítí mnoha genů, vytvářet genetický polymorfismus podporující populační adaptaci, ale také mohou podporovat speciaci.

Složitá vzájemná komunikace mezi organismem a jeho prostředím existuje na všech úrovních, s cykly zpětné vazby v epigenetických a metabolických interakcích, které mění geny v průběhu života organismu, přičemž účinky doznívají nebo zesilují po generace. Tak je zajištěna příprava organismu na další životní etapu a předání zkušeností dalším generacím (HO, 2013). Na interakci gen  $\times$  prostředí se podílejí transpozony jakožto intimní součásti genomů se svým regulačním potenciálem a mechanismy, které jejich aktivitu omezují. Ovlivňují, jak budou jedinci se stejnými nebo různými genotypy reagovat na změny prostředí (CAVALLI a HEARD, 2019). Aby organismus přežil, musí se v reálném čase zapojit do přirozené genetické modifikace, což je nesmírně přesný „molekulární tanec života“, kdy RNA a DNA se plně účastní navazujících biologických funkcí a reagují na ně (HO, 2013). Vnímání environmentálního stresu s následným resetem genomu prostřednictvím mobilních elementů může podle LIU (2021) souviset s dávno zavrženou teorií J. B. Lamarcka (1744–1829) o získané dědičnosti a s transgenerační epigenetickou dědičností.

## ZÁVĚR

Transponovatelné elementy byly původně považovány za pouhou odpadní DNA, případně že jsou schopny produkovat částice podobné virům. To vedlo původně k představě jejich škodlivosti (BIÉMONT, 2010). Později CAVALLI a HEARD (2019) i LIU (2021) poukázali na to, že transpozony a jejich relikty tvoří hlavní část většiny eukaryotických genomů (např. dvě třetiny u lidí, 80 % u kukuřice). BIÉMONT (2010) publikoval schéma jejich odhadovaného podílu v genomech různých eukaryot. Je možné, že rozsáhlé molekulární studie variability nemocí najdou více propojení na mcclintokovskou genetiku. Sedmdesát let od publikování první práce o transponovatelných elementech se ve svém článku LIU (2021) odkazuje na práci konsorcia vědců Pan-cancer analysis of whole genomes (The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium) upozorňující na nesmírnou heterogenitu rakoviny, kterou nelze vysvětlit tradiční teorií somatických mutací. Historie transponovatelných prvků je dobrým příkladem toho, jak věda funguje a jak se nové koncepty mohou postupně začleňovat a vyvíjet, až nakonec zcela změní náš pohled na věc. Je to ponaučení pro vědce, jak je třeba být tolerantní k novým myšlenkám, i když jsou v rozporu s dobovými teoriemi a poznatky (BIÉMONT, 2010). LIU (2021) předpokládá, že se historie zopakuje: Jestliže 37 let po smrti Johana Gregora Mendela byla jeho



genetika přijata a stala se univerzální ve 20. století, ve 21. století bude přijata teorie Barbary McClintock (opět po více než 30 letech od jejího úmrtí). V pozoruhodné publikaci Rozhovor s Einsteinem (MIHULOVÁ a SVOBODA, 2019) Einstein říká: „*Na poli univerza jsou všechny lidské objevy nepatrné... to, co jsme považovali za pevné základy, bylo pouze povrchním zdáním.*“ A v knize Evelyn Fox Keller Barbara McClintock sděluje: *Cokoli, nač jste schopni pomyslet, naleznete... Ve srovnání s vynalézavostí přírody naše vědecká inteligence bledne.* (NEUBAUER a FIALA, 2011).

## PODĚKOVÁNÍ

Krátké sdělení bylo zpracováno v rámci institucionální podpory MZE-RO1624.

## ZDROJE

### LITERATURA

- BIÉMONT, CH. (2010): A brief history of the status of transposable elements: from junk DNA to major players in evolution. *Genetics*, 186: 1085–1093. doi: 10.1534/genetics.110.124180
- CAVALLI, G. – HEARD, E. (2019): Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*, 571: 489–499. doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0
- FEDOROFF, N. V. (1984): Transposable genetic elements in maize. *Scientific American*, 250(6): 84–96.
- HO, M-W. (2000): Genetické inženýrství – naděje nebo hrozba? *Alternativa*. ISBN 80-85993-52-X.
- HO, M-W.(2013): The new genetics and natural versus artificial genetic modification, *Entropy*, 15: 4748–4781; doi:10.3390/e15114748
- JONES, R. N. (2005): McClintock's controlling elements: the full story. *Cytogenet Genome Res*, 109: 90–103. DOI: 10.1159/000082387
- LIU, J. (2021): Giant cells: Linking McClintock's heredity to early embryogenesis and tumor origin throughout millennia of evolution on Earth. *Semin Cancer Biol*, 81: 176–192. 2022. e-Pub 2021. PMID: 34116161.
- MIHULOVÁ, M. – SVOBODA, M. (2019): Rozhovor s Einsteinem – Vědomí pokory. *Santal*. ISBN 978-80-87987-12-4.
- NEUBAUER, Z. – FIALA, J. (2011): *Střetnutí paradigmat a řád živé skutečnosti*. Malvern. ISBN 978-80-86702-88-9.
- TREWAVAS, A. (2016): Intelligence, cognition, and language of green plants. *Front. Psychol.*, 7: 588. doi: 10.3389/fpsyg.2016.00588

### INTERNET

- [https://cs.wikipedia.org/wiki/Ren%C3%A9\\_Descartes](https://cs.wikipedia.org/wiki/Ren%C3%A9_Descartes)
- [https://cs.wikipedia.org/wiki/Rosalind\\_Franklinov%C3%A1](https://cs.wikipedia.org/wiki/Rosalind_Franklinov%C3%A1)
- [https://cs.wikipedia.org/wiki/Centr%C3%A1ln%C3%AD\\_dogma\\_molekul%C3%A1rn%C3%AD\\_biologie](https://cs.wikipedia.org/wiki/Centr%C3%A1ln%C3%AD_dogma_molekul%C3%A1rn%C3%AD_biologie)
- [https://en.wikipedia.org/wiki/Barbara\\_McClintock](https://en.wikipedia.org/wiki/Barbara_McClintock)
- <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/mcclintock-lecture.pdf>

GREPLOVÁ, M. – HAMPEJSOVÁ, R. – DOMKÁŘOVÁ, J.

**A DIFFERENT VIEW OF GENETICS AND HEREDITY - MEET THE DISCOVERIES OF NOBEL LAUREATE BARBARA McCLINTOCK**

**Vědecké práce – Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, 2024, 30: 53–60**

Last year marked 40 years since Barbara McClintock was awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine. She first published her findings nearly three-quarters of a century ago. American biologist B. McClintock consistently recorded also the exceptions when studying the variability of the corn grains color. Her experiments led to an understanding of the relationship between unstable mutations and mobile elements (transposons) in the genome. These mobile stretches of DNA are also responsible for specific gene expression in the organism as a whole by turning on and off at a particular time or in a particular part.

transposable elements; mutations; heredity; corn

*Kontakt:*

Ing. Marie GREPLOVÁ, Ph.D.

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

Dobrovského 2366

580 01 Havlíčkův Brod

Česká republika

tel.: +420 569 466 218

e-mail: [greplova@vubhb.cz](mailto:greplova@vubhb.cz)

## ANTOKYANY A JEJICH POTENCIÁL

Romana HAMPEJSOVÁ, Marie GREPLOVÁ, Jaroslava DOMKÁŘOVÁ

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

Peru je domovem bohaté genetické diverzity brambor, včetně těch barevných. Tato země je považována za jejich kolébku a dodnes se zde pěstuje široká škála planých druhů i odrůd s různými barvami slupky i dužiny a rozmanitých tvarů. Barevné brambory, jako například fialové nebo modré, jsou v Peru běžně k vidění a tvoří významnou součást tradiční stravy a kultury (CIP). Brambory s atraktivní barvou dužniny jsou stále více v zájmu vědců a šlechtitelů, kteří usilují také o dosažení hlíz vyrovnanějších tvarů (kulaté, oválné) s jemnou hladkou slupkou pro náročné evropské spotřebitele (GOFFART *et al.*, 2022). Šlechtění barevných brambor je přínosné i pro zemědělství, zejména pro udržení a rozvoj biodiverzity. Dále mohou být barevné brambory odolné vůči stresovým podmínkám způsobeným suchem, patogeny (ZHE a GOLAM, 2023), těžkými kovy, zasolením nebo nízkými teplotami (NAING a KIM, 2021).

Výrazné barvy hlíz jsou způsobeny vysokým obsahem antokyanů (LACHMAN *et al.*, 2005). Z anatomicko-fyziologického hlediska jsou antokyaniny ve vodě rozpustné pigmenty ze skupiny flavonoidů patřící mezi polyfenoly. Nejčastěji je nalezneme ve vakuolách rostlinných buněk, zejména v epidermis a subepidermálních vrstvách, kde mohou způsobovat zbarvení listů, stonků, plodů a květů (LANDI *et al.*, 2015). Mohou být produkovány v celé rostlině, od kořenů po květy, v závislosti na genetických faktorech a vnějších podmínkách. Antokyaniny mají v rostlinách několik významných funkcí – absorpce škodlivého UV záření, účinná antioxidační aktivita (neutralizace volných radikálů a ochrana před oxidačním stresem) (NAING a KIM, 2021), ochrana proti herbivorům a patogenům (repelentní a antimikrobiální účinky). Zbarvení květů a plodů láká opylovače a býložravce, napomáhající šíření semen. Jejich koncentrace v rostlině se může zvyšovat v přítomnosti mykorrhizní symbiózy v kořenech rostlin (LINGUA *et al.*, 2013).

Antokyaniny nalezneme již v kalusových kulturách, což je nediferencovaná rostlinná tkáň vznikající ve sterilních *in vitro* podmínkách na tuhém nebo kapalném živném médiu. Tato tkáň je schopna produkovat různé sekundární metabolity (včetně antokyanů) v závislosti na již vypracovaných protokolech (LILA, 2004). Hlavní faktory ovlivňující produkci antokyanů jsou světelné podmínky, teplota a typ živného média (ABOU EL-DIS *et al.*, 2021; SIMOES *et al.*, 2009) a genotyp výchozí tkáně. *In vitro* kalusové kultury mohou být poten-

ciálním zdrojem těchto pigmentů pro průmyslové využití, například v potravinářství nebo farmaceutickém průmyslu (SIMOES *et al.*, 2009).

Pro srovnání, koncentrace antokyanů v bramborách s barevnou slupkou či dužninou je poměrně vysoká ve srovnání s různými druhy ovoce a zeleniny: (mg antokyanů/100 g čerstvé hmotnosti) brambory s červenou slupkou obsahují 20–38 mg, brambory s fialovou slupkou 17–20 mg, brambory s růžovou až červenou dužninou 11–174 mg 3-glukosid kyanidinu, odrůdy brambor s barevnou slupkou 6,15–57,35 mg kyanidinu, červená cibule 25 mg, švestka 2–25 mg, malina 10–60 mg, jahody 15–25 mg, červené zelí 25 mg (BROWN *et al.*, 2005; REYES *et al.*, 2005; HAMOUZ *et al.*, 2011).

Antokyany mají mnoho zdravotních benefitů a zvyšují nutriční hodnotu brambor (LACHMAN *et al.*, 2005). Pro lidské zdraví jsou významné jejich antioxidační vlastnosti, které pomáhají chránit buňky před poškozením volnými radikály. Studie naznačují, že mohou snižovat riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění, některých typů rakoviny a zánětů (SPEER *et al.*, 2020; GONÇALVES *et al.*, 2021). A samozřejmě jsou barevné hlízy atraktivní pro spotřebitele po estetické stránce.

Tato barviva jsou významná i ve stravě zvířat. Posilují jejich imunitní systém (MRKVI-COVÁ *et al.*, 2016) a některé studie naznačují, že antokyany mají pozitivní vliv na mozkové funkce a mohou zpomalovat stárnutí mozku zvířat. Mohou snižovat i záněty v tělech, což je výhodné pro velkochovy zvířat, dále zlepšují zdraví srdce snižováním krevního tlaku a zlepšují průtok krve (CHANGXING *et al.*, 2018).

Barevné brambory, díky svému obsahu antokyanů, představují cennou plodinu jak z hlediska výživy, tak i z hlediska agronomických vlastností a kulturního dědictví. Antokyany nejenže přispívají k estetickým a chuťovým vlastnostem těchto brambor, ale také poskytují významné zdravotní přínosy. Studium těchto pigmentů a jejich využití v různých oblastech je tedy klíčové pro lidskou výživu a další rozvoj zemědělství a potravinářského zpracování.

## PODĚKOVÁNÍ

Krátké sdělení bylo zpracováno v rámci institucionální podpory MZE-RO1624.

## LITERATURA

- ABOU EL-DIS, G. R. – LANDYSH ZAVDET OVNA, K. – NIKOLAEVICH, A. A. – ABDELMAKSOOD AB-DELAZEEZ, W. M. – ARNOLDOVNA, T. O. (2021): Influence of light on the accumulation of anthocyanins in callus culture of *Vaccinium corymbosum* L. cv. Sunt Blue Giant. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 8: 100058. <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2021.100058>.
- BROWN, C. H. – CULLEY, D. – PACIFI, B. – YANG, C.-P. – DURST, R. – WROLSTAD, R. (2005): Variation of anthocyanin and carotenoid contents and associated antioxidant values in potato breeding lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(2): 174-180. <https://doi.org/10.21273/JASHS.130.2.174>.
- CIP, International Potato Center, online, <https://cipotato.org/potato/native-potato-varieties/>, 10.7.2024.
- CHANGXING, L. – CHENLING, M. – ALAGAWANY, M. – JIANHUA, L. (2018): Health benefits and potential applications of anthocyanins in poultry feed industry. *World's Poultry Science Journal*, 74(2): 251–264. doi:10.1017/S0043933918000053.
- GOFFART, J. P. – HAVERKORT, A. – STOREY, M. (2022): Potato production in Northwestern Europe (Germany, France, the Netherlands, United Kingdom, Belgium): Characteristics, issues, challenges and opportunities. *Potato Research*, 65: 503–547. <https://doi.org/10.1007/s11540-021-09535-8>.
- GONÇALVES, A. C. – NUNES, A. R. – FALCÃO, A. – ALVES, G. – SILVA, L. R. (2021): Dietary effects of anthocyanins in human health: A Comprehensive review. *Pharmaceuticals*, 14(7): 690. <https://doi.org/10.3390/ph14070690>.
- HAMOUZ, K., – LACHMAN, J. – PAZDERŮ, K. – TOMÁŠEK, J. – HEJTMÁNKOVÁ, K. – PIVEC, V. (2011): Differences in anthocyanin content and antioxidant activity of potato tubers with different flesh colour. *Plant Soil Environment*, 57(10): 478–485.
- LACHMAN, J. – HAMOUZ, K. – ORSÁK, M. (2005): Červeně a modře zbarvené brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. *Chemické listy*, 99: 475–482.
- LANDI, M. – TATTINI, M. – GOULD, K. S. (2015): Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. *Environmental and Experimental Botany*, 119: 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.012>.
- LILA, M. A. (2004): Anthocyanins and human health: An *in vitro* investigative approach. *J Biomed Biotechnol*, (5): 306–313. doi: 10.1155/S111072430440401X.
- LINGUA, G. – BONA, E. – MANASSERO, P. – MARSANO, F. – TODESCHINI, V. – CANTAMESSA, S. – COPETTA, A. – D'AGOSTINO, G. – GAMALERO, E. – BERTA, G. (2013): Arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting Pseudomonads increases anthocyanin concentration in strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* var. Selva) in conditions of reduced fertilization. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 16207–16225. <https://doi.org/10.3390/ijms140816207>.
- MRKVICOVÁ, E. – PAVLATA, L. – KARÁSEK, F. – ŠŤASTNÍK, O. – DOLEŽALOVÁ, E. – TROJAN, V. – VYHNÁNEK, T. – HRIVNA, L. – HOLEKSOVÁ, V. – MAREŠ, J. – BRABEC, T. – HORKÝ, P. – RUTTKAY-NEDECKÝ, B. – ADAM, V. – KIZEK, R. (2016): The influence of feeding purple wheat with higher content of anthocyanins on antioxidant status and selected enzyme activity of animals. *Acta Vet Brno*, 85(4): 371–376. <https://doi.org/10.2754/avb201685040371>.
- NAING, A. H. – KIM, C. K. (2021): Abiotic stress-induced anthocyanins in plants: Their role in tolerance to abiotic stresses. *Physiologia Plantarum*, 172: 1711–1723. <https://doi.org/10.1111/ppl.13373>.

- REYES, L. F. – MILLER JR, J. C. – CISNEROS-ZEVALLOS, L. (2005): Antioxidant capacity, anthocyanins and total phenolics in purple and red-fleshed potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes. *American Journal of Potato Research*, 82: 271–277.
- SIMÕES, C. – BIZARRI, C. H. B. – CORDEIRO, L. S. – CASTRO, T. C. – COUTADA, L. C. M. – SILVA, A. J. R. – ALBARELLO, N. – MANSUR, E. (2009): Anthocyanin production in callus cultures of *Cleome rosea*: Modulation by culture conditions and characterization of pigments by means of HPLC-DAD/ESIMS. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(10): 895–903. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.06.005>.
- SPEER, H. – D’CUNHA, N. M. – ALEXOPOULOS, N. I. – MCKUNE, A. J. – NAUMOVSKI, N. (2020): Anthocyanins and human health-A Focus on oxidative stress, inflammation and disease. *Antioxidants*, 9(5): 366. <https://doi.org/10.3390/antiox9050366>.
- ZHE, L. – GOLAM, J. A. (2023): Plant stress response and adaptation via anthocyanins: A review. *Plant Stress*, 10: 100230. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100230>.

*Kontakt:*

Mgr. Romana HAMPEJSOVÁ  
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.  
Dobrovského 2366  
580 01 Havlíčkův Brod  
Česká republika  
tel.: +420 569 466 241, 569 466 239  
e-mail: hampejsova@vubhb.cz