

Závěrečná zpráva projektu dotačního programu 3.d. za celé období řešení 2014-2022

1. DOTAČNÍ PROGRAM

3.d. Podpora tvorby rostlinných genotypů s vysokou rezistencí k biotickým i abiotickým faktorům a diferencovanou kvalitou obilovin včetně kukuřice, malých zrnin, olejin, luskovin, brambor, píce, zelenin, léčivých, aromatických a kořeninových rostlin, chmele, révy a ovocných dřevin a ozdravování genotypů révy, chmele a ovocných plodin

Dle „Zásad, kterými se stanovovaly podmínky pro poskytování dotací pro roky 2014–2022 na základě § 1, § 2 a § 2d zákona č. 252/1997 Sb. o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „Zásady“)

1.1 **ŽADATEL:** Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

1.2.

X	aplikovaný výzkum
	experimentální vývoj

1.3. VÝZKUMNÝ PROJEKT DOTAČNÍHO PROGRAMU

3.d.1. Tvorba genotypů s vysokou rezistencí k biotickým a abiotickým faktorům a diferencovanou kvalitou obilovin včetně kukuřice, malých zrnin, olejin, luskovin, brambor, píce, zelenin, léčivých, aromatických a kořeninových rostlin, chmele, révy a ovocných dřevin.

1.4. NÁZEV ŘEŠENÉHO PROJEKTU

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.

1.5. ANOTACE ŘEŠENÍ PROJEKTU

Řešení projektu probíhalo v období 1/2014 až 12/2022. Práce byly zaměřeny na přípravu experimentálního materiálu a zhodnocení materiálu, který byl získán při řešení výzkumných projektů a během experimentálního šlechtění v minulých letech. Biotechnologické metody a postupy umožnily využít zdroje odolnosti představované především planými a primitivními druhy bramboru. Bylo využito zejména fúze protoplastů (se zařazením materiálů s přirozeně vysokým obsahem anthokyanů). Dalším využitým postupem při tvorbě materiálu bylo vyvolání mutagenese pomocí UV záření. Do klasického hybridizačního programu byly zařazeny rodičovské materiály širšího okruhu původu. Za období řešení projektu bylo v klasickém hybridizačním programu celkem získáno 77 055 semen, bylo vysazeno 23 800 semenáčů a následně vysazeno na poli 14 902 ramšových hlíz. Ve vyšších hlízových generacích bylo každoročně hodnoceno 16 až 128 kříženců. U tohoto materiálu proběhla obvyklá hodnocení v průběhu vegetace i při posklizňových rozbořech a byla izolována DNA. Izolovaná DNA hybridů byla využita pro detekci genů rezistence vůči hádátku bramborovému *G. rostochiensis* patotyp Ro1 a Ro4 (gen *H1*), *Globodera* sp. (gen *Grol*), rakovině bramboru *Synchytrium endobioticum*, rasy 1,2 a 6 (gen *SenI*), plísní bramboru *Phytophthora infestans* (gen *Rpib1b* a gen *R2*), PVY (gen *Rysto* a gen *Rychc*) a PVX (gen *Rx1*). Získané mladší generace budou dále zhodnocovány v návazném projektu. Zhodnocené materiály byly předány do genové banky *in vitro*, kde jsou k dispozici pro potřeby šlechtění a výzkumu.

1.6. CÍL ŘEŠENÉHO PROJEKTU

Vytvořit pomocí tradičních a nekonvenčních postupů genotypy bramboru s vyšší odolností vůči biotickým a abiotickým stresům, se zvláštním zaměřením na odolnost proti plísni bramboru, suchovzdornosti, virovým chorobám, aktinomycetové obecné strupovitosti bramboru, při zachování kvalitativních a kvantitativních znaků na konkurenceschopné úrovni.

1.6.1. DÍLČÍ CÍLE ŘEŠENÉHO PROJEKTU

1. Tvorba materiálů pomocí biotechnologických postupů.
2. Experimentální hybridizace s využitím různých úrovní ploidie a zdrojů rezistence.
3. Zhodnocení získaných materiálů v laboratorních a provokačních testech, v polních podmínkách a pomocí analýz DNA markerů

2. SKUTEČNOST ZA UPLYNULÉ OBDOBÍ 2014–2022

2.1. PROJEKTOVÝ TÝM

2.1.1. ORGANIZACE ÚČASTNÍCÍ SE PROJEKTU

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o. (dále VÚB)

2.1.2. ŘEŠITELSKÝ TÝM

Personálně zajišťovalo práci na projektu Oddělení genetických zdrojů se svými laboratořemi, a ve spolupráci s pracovníky Laboratorního centra. V případě potřeby se splněním stanovených úkolů pomáhaly další pracovní úseky ústavu. Ve výše uvedených úsecích se na řešení do určité míry podílelo 10 pracovníků s VŠ a 13 pracovníků se SŠ vzděláním. S ohledem na specifické podmínky ústavu se pracovníci vesměs věnovali i výzkumné činnosti, případně službám.

Hlavní řešitelé - Ing. Jaroslava Domkářová, Ph.D.

Ing. Renata Švecová

František Souček

Ing. Vendulka Horáčková, CSc.

Ing. Marie Greplová, Ph.D.

Ing. Alena Krpálková

RNDr. Jiří Ptáček, CSc.

Ing. Dagmar Šimková, Ph.D.

Ing. Martin Kmoch, Ph.D.

Ing. Bohumil Vokál, CSc.

Vladimír Kužel

Mgr. Hana Polzerová

2.2. ČASOVÝ POSTUP PRACÍ

Řešení projektu probíhalo v období 1/2014 až 12/2022. Práce byly zaměřeny na přípravu experimentálního materiálu a zhodnocení materiálu, který byl získán při řešení výzkumných projektů a experimentálního šlechtění v minulých letech. Práce se soustředily na plnění plánových cílů řešení projektu.

2.2.1. AKTIVITY USKUTEČNĚNÉ

1. Tvorba materiálů pomocí biotechnologických postupů.

A) Uplatnění somatických hybridů (SH) v tvorbě šlechtitelských materiálů

Fúze dihaploidních *S. tuberosum* se zaměřením na kombinaci výnos a vhodnost pro hranolky nebo pro lupínky.

Regeneranty z fúze protoplastů byly hodnoceny molekulární metodou RAPD. U SH z kombinace *tbr* dh 94 315 + *tbr* dh 103 324 se podařilo klasické křížení s odrůdami (Anuschka, Velox, Bohemia, Victoria, Adéla, Magda). Nejúspěšnější zde byla kombinace SH kl. 5 × Martina s pracovním názvem Jakub, kde bylo opakovaně dosahováno vysokého bodového hodnocení v chuťových zkouškách spolu s dobrým výkonem v polních podmínkách. Výběrový genotyp Jakub 10 byl v r. 2022 předán k ozdravování s předpokladem vložení do Genové banky VÚB Havlíčkův Brod v r. 2023. Do dalšího hodnocení postupují genotypy s pracovním názvem Alex [(*tbr* dh 94 315 + *tbr* dh 103 324 kl. 11) × Adéla].

B) Hodnocení ozařovaných genotypů z hlediska uplatnění v sexuální hybridizaci
Perspektivní genotypy Herby 6´/9 a Herby 6´/29 vzniklé ozařováním protoplastů ionizujícím UV-C světlem (2010) byly ve sledovaném období (2014-2022) opakovaně opylovány pylem odrůd s barevnou dužninou. U Herby 6´/9 se v roce 2016 vyskytly sektoriální chiméry v pletivu listů a mutant byl vyloučen. Křížení Herby 6´/29 × Herby poskytlo 8 bobulí s 266 semeny. Souběžně provedené křížení Herby × Valfi poskytlo 3 bobule se 104 semeny; semena byla vyseta v r. 2017. Do *in vitro* bylo vybráno 13 perspektivních genotypů. Vybrané genotypy z těchto semenných populací byly v r. 2020 nakříženy s hybridním genotypem 10.9/1. Celkem bylo získáno 486 semen, která byla vyseta postupně v letech 2021 a 2022. Kříženci [(Herby × Valfi/8) × 10.9/1] s pracovním názvem Klotylda - 12 genotypů a kříženci [(Herby 6/29 × Herby/19) × 10.9/1] s pracovním názvem Rút - 3 genotypy pokračují do dalšího hodnocení v r. 2023. Dále budou hodnoceny semenné populace z výsevu v r. 2022: [(Herby × Valfi/28) × 10.9/1] a [Herby 6/29 × Herby/23 × 10.9/1].

2. Experimentální hybridizace s využitím různých úrovní ploidie a zdrojů rezistence.

Do klasického hybridizačního programu byly zařazeny rodičovské materiály širšího okruhu původu, a to jednak hybridní tetraploidní materiály a mezidruhové hybridy, které vykazovaly v polních zkouškách rezistenci proti plísni bramboru a dále odrůdy světového sortimentu s vysokými kvalitativními parametry, v kombinaci s odolností proti hádátku bramborovému a rakovině bramboru. Hybridizace byla prováděna podle vypracovaných plánů křížení. Vlastní křížení probíhalo ve skleníku či prostorovém izolátu, metodou „holandské cihly“. Každoročně následoval výsev semenné generace a příprava ramšových hlíz pro první polní generaci. Jednotlivé vegetativně množené generace byly hodnoceny a selektovány podle dosažené úrovně hospodářských znaků a vlastností. Za období řešení projektu bylo v klasickém hybridizačním programu získáno celkem 77 055 semen, vyseto bylo 40 672 semen, z toho vysazeno 23 800 semenáčků a následně vysazeno 14 902 ramšových hlíz. Ve vyšších hlízových generacích bylo každoročně hodnoceno 16 až 128 kříženců. U tohoto materiálu proběhla obvyklá hodnocení v průběhu vegetace i při posklizňových rozborech a izolována DNA. Odolnost k plísni bramboru byla bonitována na základě reakce v přirozeném infekčním prostředí. Pozitivně vyselektovaní kříženci byli převedeni do kultury *in vitro*. Materiál, u kterého byla detekována virová infekce, byl podroben aktivnímu ozdravování v kultuře *in vitro*, jak za využití klasických eliminačních postupů, tak chemoterapie. Každoročně bylo ozdravováno 4 až 17 kříženců.

V roce 2017 byla u křížence R17.517/64 stanovena střední odolnost k suchu. V roce 2018 se podařilo s tímto genotypem získat po klasickém křížení ve skleníku s odrůdou *Solanum tuberosum* 56 semen. V roce 2019 byla všechna semena vyseta ve skleníkových podmínkách a u vzešlých rostlin byl proveden test hybridnosti pomocí metod RAPD. Testem se potvrdilo, že je tato kombinace hybridní. Všechny potvrzené materiály byly sklizeny v celkovém počtu 15 hlíz a uskladněny v optimálních podmínkách s následným rozbořem. V roce 2020 byl materiál (prac. název R19.518/102) vysazen do polních podmínek a následně u něj byly sledovány morfologické charakteristiky rostlin a hlíz s využitím „Klasifikátoru genu *Solanum* L.“ Vzhledem k srážkově nadprůměrného roku nebylo dost dobře možné u daného materiálu stanovit odolnost k suchu. I na základě rozborů hlíz po sklizni, nebyl tento materiál z důvodu nevyhovujících morfologických vlastností zařazen do další polní výsadby. V roce 2021 byl

hybrid R19.518/102 z hlediska odolnosti k suchu zařazen do klasického křížení ve skleníku s vybranou odrůdou. I když bylo křížení vedeno za stejných skleníkových podmínek jako předchozí roky, celkově byl tento rok k vytvoření bobulí slabší. Nepodařilo se s tímto hybridem nakřížit a získat žádné bobule. Podařilo se ale uchovat hlízový materiál tohoto hybridu a v roce 2022 byl opět zařazen do klasického křížení ve skleníku. Do recipročního křížení byly vybrány velmi silně kvetoucí odrůdy *Solanum tuberosum* a s hybridem R19.518/102 bylo nakříženo 16 květů od 6 kombinací. Bohužel se opět nepodařilo získat žádné bobule. V následujícím roce bude tento materiál pro své cenné vlastnosti (odolnost k suchu) převeden do Genové banky a uchováván jako kultura *in vitro*.

3. Zhodnocení získaných materiálů v laboratorních a provokačních testech, v polních podmínkách a pomocí analýz DNA markerů

U materiálů ve vyšších hlízových generacích byl během vegetace proveden morfologický popis trsu, stanovena fertilita pylu, stanovena odolnost plísní bramboru, testován výskyt virových chorob. Při mechanických rozbořech byl pak proveden morfologický popis hlíz, stanoven výnos a provedeno vizuální stanovení výskytu chorob a vad na hlízách. V laboratorních a provokačních zkouškách byla posouzena stolní hodnota hlíz, obsah škrobu, obsah sušiny, obsah bílkovin, obsah redukcí cukrů, vhodnost k výrobě smažených lupínků, odolnost hlíz proti mechanickému poškození a odolnost k abiotickému šednutí dužniny. Izolovaná DNA hybridů byla využita pro detekci genů rezistence vůči hádátku bramborovému *G. rostochiensis* patotyp Ro1 a Ro4 (gen *H1*), *Globodera* sp. (gen *Grol*), PVY (gen *Rysto* a gen *Rychc*), PVX (gen *Rx1*), rakovině bramboru *Synchytrium endobioticum* (gen *Sen 1*) a plísní bramboru *Phytophthora infestans* (gen *R2*). Odolnost k plísní bramboru byla rovněž posuzovaná na základě reakce v přirozeném infekčním prostředí. Na základě dálkového snímání s využitím multispektrální analýzy byla generace ramšů charakterizována pomocí vegetačního indexu pro odhad fotosyntetické aktivity (GNDVI), indexu vodního stresu, chlorofylového indexu, normalizovaného rozdílového indexu červených okrajů a optimalizovaného indexu vegetace očištěného o půdu. Na základě indexů získaných s využitím multispektrální analýzy bylo vybráno pět genotypů do A klonů (ramš II) pro rok 2023.

Perspektivní zhodnocené materiály byly předány do genové banky *in vitro* (kap. 3) a jsou na základě žádosti přístupné pro využití ve šlechtění a výzkumu v databázi GRINCZECH.

2.2.2. AKTIVITY NEUSKUTEČNĚNÉ

Všechny plánované aktivity byly uskutečněny

2.3. PŘEHLED ZMĚN, KTERÉ NASTALY V PRŮBĚHU ŘEŠENÍ

V průběhu řešení nenastaly oproti plánu žádné změny.

3. PŘEHLED VÝSLEDKŮ ŘEŠENÍ VÝZKUMNÉHO PROJEKTU V RÁMCI DP 3.d. 2014-2022

Zpřístupněné výsledky řešení v databázi GRINCZECH <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>

9 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2014

Genotyp 08.05/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200484

Genotyp 08.07/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200485

Genotyp 09.13/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200486

Genotyp 10.08/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200489

Genotyp 10.08/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200490

Genotyp 10.08/3 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200491

Genotyp 10.11/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200492

Genotyp 10.11/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200493

Genotyp 09.23/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200494

5 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2015

Genotyp 10.09/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200498

Genotyp 10.09/37 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200499

Genotyp 11.08/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200500

Genotyp 11.11/3 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200501

Genotyp 11.13/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200502

5 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2016

Genotyp 10.09/4 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200503

Genotyp 11.11/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200504

Genotyp 11.12/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200505

Genotyp 12.13/5 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200506

Genotyp 12.27/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200507

8 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2017

Genotyp 12.13/10 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200508

Genotyp 10.09/8 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200509

Genotyp 10.13/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200510

Genotyp 12.25/6 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200511

9 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2018

Genotyp 11.12/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200512

Genotyp 12.06/13 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200513

Genotyp 13.02/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200514

Genotyp 13.04/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200515

Genotyp 13.01/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200516

Genotyp 10.13/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200517

Genotyp 13.04/3 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200518

Genotyp 14.01/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200519

Genotyp 14.02/3 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200520

4 genotypy zařazené do genové banky *in vitro* v roce 2019

Genotyp 14.02/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200521

Genotyp 15.11/5 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200522

Genotyp 15.11/6 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200523

Genotyp 15.16/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200524

5 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2020

Genotyp 16.05/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200525

Genotyp 16.06/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200526

Genotyp 16.16/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200527

Genotyp 16.21/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200528

Genotyp 16.21/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200529

1 genotyp zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2021

Genotyp 16.03/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200536

7 genotypů zařazených do genové banky *in vitro* v roce 2022

Genotyp 17.11/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200537

Genotyp 17.20/1 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200538

Genotyp 17.20/2 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200539

Genotyp 18.02/5 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200540

Genotyp 18.14/6 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200541

Genotyp 18.14/11 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200542

Genotyp 18.14/13 je dostupný v genové bance pod ECN 07S0200543

Zaškrtnout souhlas (souhlas je podmínkou poskytnutí dotace)

X	Řešitel souhlasí se zpřístupněním a zveřejněním výsledků podporovaného programu pro veřejnost zdarma po dobu nejméně 5 let od ukončení projektu.
---	--

4. NÁKLADY NA ŘEŠENÍ PROJEKTŮ JSOU UVEDENY V DÍLČÍCH ZPRÁVÁCH ŘEŠENÉHO VÝZKUMNÉHO PROJEKTU. JEDNOTLIVÉ DÍLČÍ ZPRÁVY 2014-2022 JSOU PŘÍLOHOU TÉTO ZÁVĚREČNÉ ZPRÁVY