

# Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
Katedra genetiky a šlechtění



Hodnocení morfologických vlastností somatických hybridů (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* + *S. bulbocastanum*)

**Bakalářská práce**

Autor práce: Lucie Šubrtová

Vedoucí práce: Ing. Petr Sedlák, Ph.D.

2012

### Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Hodnocení morfologických vlastností somatických hybridů (*Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* + *S. bulbocastanum*) vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

podpis autora práce:

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu práce Ing. Petru Sedlákovi, Ph.D. za cenné připomínky a trpělivost při vzniku celé práce.

## SOUHRN

Somatická hybridizace je technika umožňující překonání přírodních bariér nekřížitelnosti rostlin různých druhů v přirozených podmínkách. Jednou z hlavních výhod fúze protoplastů je, že umožňuje přenos rezistenčních vlastností z parentální generace do generace hybridní.

Tato práce je zaměřená na morfologické posouzení a posouzení z hlediska výnosu somatických hybridů *Solanum tuberosum* + *Solanum bulbocastanum* vypěstovaných *in vitro* a následně v polním pokusu ve 2 opakováních na pozemku Praha 6, Suchdol.

Jednotlivé somatické hybridy byly následně morfologicky ohodnoceny podle klasifikátoru pro rod *Solanum* dle Vidnera a byla u nich zhodnocena variabilita výnosových prvků. Význam hodnocení je určení, zda je zvolený somatický hybrid vhodný k zařazení do dalšího šlechtitelského programu.

Výsledky ukázaly, že hodnocené morfologické vlastnosti mezi jednotlivými somatickými hybridy byly vysoce variabilní přesto, že se jednalo o hybridy vzniklé fúzí protoplastů se stejnou parentální generací. Shluková analýza rozdělila jednotlivé genotypy do 2 shluků, které mezi sebou vykazovaly téměř nulovou podobnost.

Dále byly zhodnoceny výnosotvorné prvky, které taktéž vykazovaly vysokou variabilitu, nejvíce v případě celkového počtu hlíz, kde pomocí jednofaktorové analýzy variace (ANOVA) metodou jednoduchého třídění dle Tukey bylo naměřeno nejvíce průkazných rozdílů jak na hladině významnosti 0,05, tak i na hladině významnosti 0,01. ANOVA byla vyhodnocena i pro další proměnné – celková hmotnost hlíz, počet tržních hlíz a hmotnost tržních hlíz, kde byl počet průkazných rozdílů výrazně nižší.

Výnosotvorné prvky byly převedeny na t/ha a porovnány s výsledky ministerstva zemědělství ve výsledné zprávě pro květen 2011, kde pouze 4 hybridy z 16 dosáhly průměrných hodnot.

Klíčová slova: *S. tuberosum*, *S. bulbocastanum*, somatická hybridizace, morfologické hodnocení, výnosotvorné prvky.

## SUMMARY

Somatic hybridization is a technique that allows overcoming the natural barriers of inability to cross between different kinds plants in natural conditions. One of the main advantages of protoplast fusion is that it allows the transfer of the resistance qualities of the parental generation to hybrid generation.

This work is focused on the morphological assessment and an assessment of the yield of somatic hybrids of *Solanum tuberosum* + *Solanum bulbocastanum* grown *in vitro* and then in the field trial in 2 reps in the location of Prague 6, Suchdol.

Individual somatic hybrids were assessed by morphological classifier for the genus *Solanum* by Vidner and had a variability of yield components evaluated. The importance of evaluation is to determine whether selected somatic hybrids are suitable for use in further potato breeding program.

The results showed that the evaluated morphological characteristics between the somatic hybrids were highly variable despite the fact that they were hybrids resulting from protoplast fusion of the same parental components. Cluster analysis divided the genotypes into 2 different clusters showing almost no resemblance.

There were also evaluated yield forming elements, which also showed high variability; variability was highest for total number of tubers. Variability was evaluated by single-factor analysis of variation (ANOVA) using a simple classification according to Tukey. There were detected the most of conclusive differences at significance level of 0.05, and the significance level of 0.01. ANOVA was also used for the other variables as the total weight of tubers, tuber number and weight of market tubers market, where the number was considerably less evidence of differences.

Yield forming elements were converted to t/ha and compared with the results of the Ministry of Agriculture in the final report for May 2011, where only 4 of 16 hybrids reached average values.

Key words: *S. tuberosum*, *S. bulbocastanum*, somatic hybridization, evaluation of morphological characters, evaluation of yield forming elements.

## OBSAH

SOUHRN .....	4
SUMMARY .....	5
1. ÚVOD .....	7
2. CÍLE PRÁCE .....	8
3. PŘEHLED LITERATURY .....	8
3.1. Rod: <i>Solanum</i> .....	8
3.1.1. <i>Solanum tuberosum</i> .....	9
3.1.2. <i>Solanum bulbocastanum</i> .....	10
3.2. Somatická hybridizace .....	11
3.2.1. Protoplasty rostlin .....	13
3.2.2. Izolace protoplastů .....	13
3.2.3. Fúze protoplastů.....	15
3.3. Morfologické vlastnosti.....	16
3.3.1. Nadzemní části rostliny .....	17
4. MATERIÁL A METODY .....	18
4.1. Biologický materiál .....	18
4.2. Příprava a kultivace rostlinného materiálu .....	18
4.2.1. <i>In vitro</i> kultivace rostlin .....	18
4.2.3. Výsadba rostlin do polního pokusu.....	19
4.3. Morfologické hodnocení .....	20
4.4. Zhodnocení variability .....	20
5. VÝSLEDKY.....	21
5.1. Morfologické hodnocení .....	21
5.2. Zhodnocení variability výnosotvorných prvků.....	27
6. DISKUZE .....	29
7. ZÁVĚR.....	31
8. PŘEHLED CITOVANÉ LITERATURY .....	32
9. PŘÍLOHY.....	35

# 1. ÚVOD

Brambor je plodinou, která se řadí mezi 4 nejdůležitější plodiny na světě, mimo jiné pro svou nutriční hodnotu, nenáročnost vůči různým podmínkám prostředí a vysokým hektarovým výnosům. Krom využití ve formě potraviny pro lidskou a zvířecí populaci lze brambor využít i jako výchozí surovina pro tvorbu škrobu a lihu.

Na odrůdy bramboru jsou kladeny stále větší požadavky, jako dosahovat vysokého výnosu, odolnosti vůči chorobám, vhodnost odrůd na mechanizované pracovní postupy v průběhu pěstování, skladování a další zpracování (Zadina a Jermoljev, 1976).

Moderní metodou, jak dosahovat vyšších požadavků je somatická hybridizace, která umožňuje přenos pozitivních vlastností, jako jsou hlavně rezistence vůči různým chorobám či škůdcům planých plodin, do hybridní generace, která by nemohla vzniknout přirozenou cestou z důvodu sexuálních bariér v podobě mezidruhovému nekřížitelnosti.

Přenos rezistence z planých druhů do druhů kulturních tímto způsobem je mnohem šetrnější k přírodě než dříve využívané chemické metody, které jsou navíc finančně náročné.

Choroba, která je z ekonomického hlediska největší hrozbou pro brambor, je plíseň bramboru způsobovaná patogenní oomycetou *Phytophthora infestans*. Bylo zjištěno, že planý druh pocházející z Mexika, *Solanum bulbocastanum* je jedním z významných genetických zdrojů rezistence vůči plísni bramboru, která byla posléze do kulturního *Solanum tuberosum* přenesena právě pomocí fúze protoplastů.

## 2. CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo zhodnotit a oklasifikovat morfologické vlastnosti nadzemní části rostliny a hlíz somatických hybridů *Solanum tuberosum* (2n) + *S. bulbocastanum* (2n) vytvořených na katedře genetiky a šlechtění fúzí protoplastů.

Dalším cílem bylo v návaznosti na morfologické hodnocení vyhodnotit vnitřní variabilitu mezi jednotlivými hodnocenými klony.

## 3. PŘEHLED LITERATURY

### 3.1. Rod: *Solanum*

Rod *Solanum* je rozsáhlá, vysoce variabilní skupina zahrnující 1500-2000 druhů včetně 3 celosvětově významných zemědělských plodin – rajče (*S. lycopersicum*), lilek brambor (*S. tuberosum*) a lilek (*S. melongena*). V rámci rodu *Solanum* se vyskytuje sekce *Petota*, která je z ekonomického hlediska nejdůležitější, ta se dále rozděluje do dvou podsekcí *Estolonifera* a *Potatoe*. Sekce jsou dále rozděleny do sérií případně do supersérií.

Podsekce *Estolonifera* zahrnuje 2 série, které postrádají schopnost tvořit hlízy či oddenky (Hawkes, 1994).

Podsekce *Potatoe* zahrnuje 19 sérií (*Morelliformia*, *Bulbocastana*, *Pinnatisecta*, *Polyadenia*, *Commersoniana*, *Circaeifolia*, *Lignicaulia*, *Olmosiana*, *Yungasensa*, *Megistacroloba*, *Cuneolata*, *Conicibaccata*, *Piurana*, *Ingifolia*, *Maglia*, *Tuberosa* planá, *Tuberosa* kulturní, *Acaulia*, *Longipedicellata* a *Demissa*) se schopností nést hlízy, čímž se stávají předmětem zájmu pro šlechtění. V rámci podsekcce *Potatoe* se druhy rozdělují ještě podle typu květní korunky na 2 supersérie – *Stellata* a *Rotata* (Hawkes, 1994).



### 3.1.1. *Solanum tuberosum*

Brambor je jednou z nejdůležitějších plodin na světě, jehož přesahuje v celkové produkci pouze pšenice, kukuřice a rýže (Hawkes, 1994), která produkuje vysoké výnosy nutričně hodnotné potraviny v podobě hlíz (Millam, 2006).

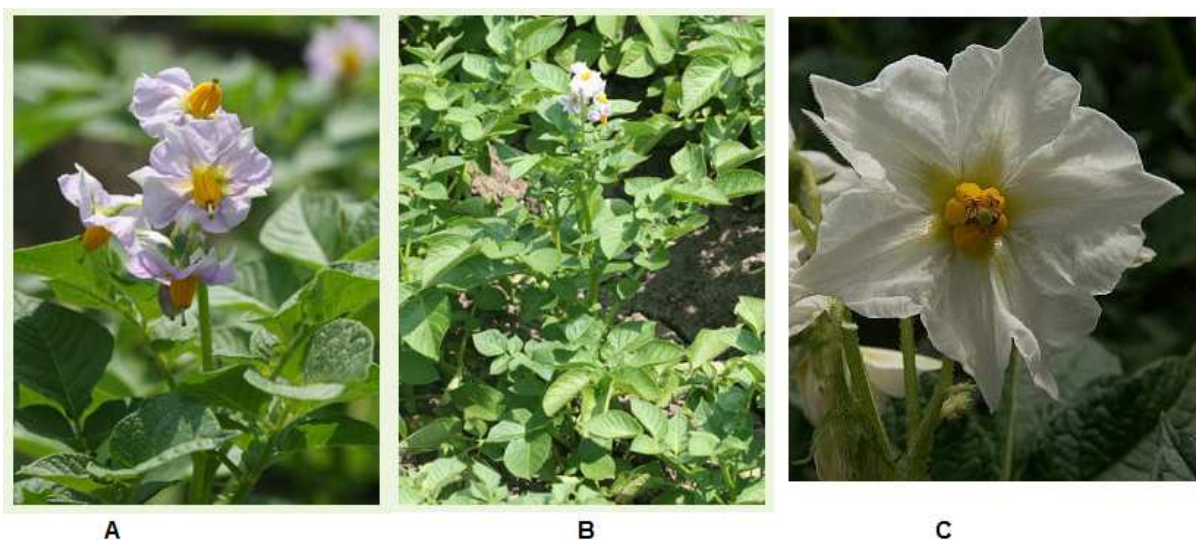
Podle nejnovější taxonomie dle Hawkese (1990) má 6 příbuzných druhů, jež se pěstují celosvětově a cca 200 příbuzných druhů divokých. Divoké druhy mají široké geografické rozšíření s širokým spektrem podmínek prostředí, ve kterém se mnohé druhy adaptovaly, tvoří tak cenný zdroj zárodečné plazmy s charakteristickými vlastnostmi, které mohou být přeneseny do kulturních druhů brambor (Spooner a Hijmans, 2001).

Lilek brambor, též brambor obecný se v klasifikaci řadí do řádu lilkotvaré (*Solanales*), čeledi lilkovité (*Solanaceae*), rodu lilek (*Solanum*), podsekce *Potatoe*, série *Tuberosa*. Vyskytuje se ve formě tetraploidní ( $2n = 4x = 48$ ) (Hawkes, 1994).

Z morfologického hlediska se jedná o rostlinu, jejíž vzdušná část složená ze stonků s listy se zelenou stopkou dosahuje 30-80 cm do výšky a až 2m do šířky. Na stoncích se tvoří květenství, květy jsou pětičetné a barva okvětních lístků je bílá, modrá nebo fialová, lišící se různou intenzitou a odstínem (Lisińska a Leszyński, 1989). Listy má lichozpeřené s 3-5 páry vejčitých až okrouhlých lístků, plody jsou kulaté, zelené bobule (Kocián, 2006). Podle typu korunky se řadí do supersérie *Rotata* (Hawkes, 1994).

Řapík má na bázi okrouhlé úkrojky podobné palistům. Lodyha i listy jsou krátce chlupaté. Plodem je zelená až žlutozelená bobule, která je 20–40 mm velká s bílými ledvinovitými semeny. Kvete od června do srpna (Jašková, 2008).

Obr. 1. *Solanum tuberosum* A- květ s nafialovělou barvou okvětních lístků, B- celá rostlina (Kocián, 2006) C- květ s bílou barvou okvětních lístků (Jašková, 2008)



Brambor je jednoletou bylinou, mateřské hlízy po vyčerpání zásob v průběhu vegetace odumírají a spolu s nimi také všechny nadzemní a podzemní orgány mimo semena a nové (dceřiné) hlízy s živými spícími pupeny (Horáčková a Domkářová, 1998)

### 3.1.2. *Solanum bulbocastanum*

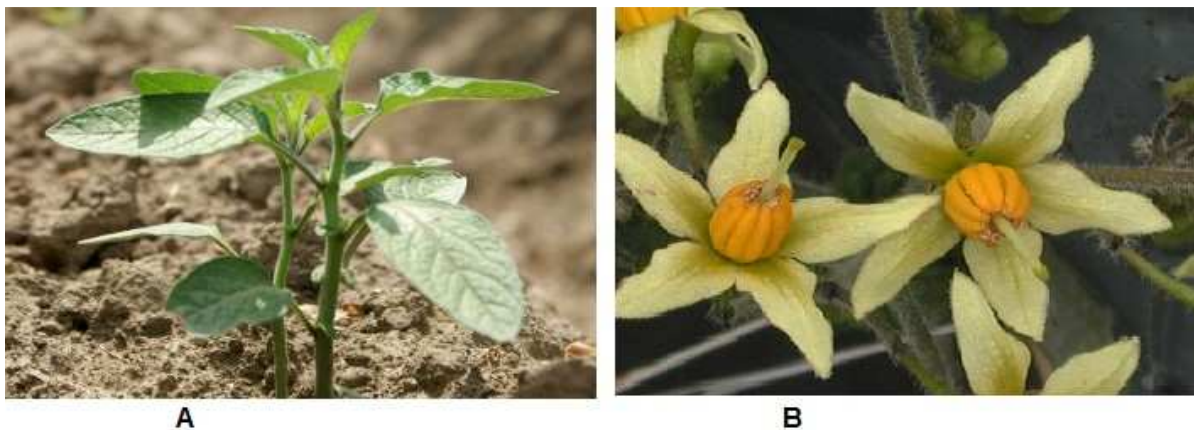
Klasifikace *S. bulbocastanum* zahrnuje řád lilkotvaré (*Solanales*), čeleď lilkovité (*Solanaceae*), rod lilek (*Solanum*), podsekcce *Potatoe*, série *Bulbocastana*, vyskytuje se v diploidní ( $2n = 24$ ) a v triploidní formě ( $3n = 36$ ) (Hawkes, 1994).

Jedná se o divoký druh, pocházející z Mexika, který vykazuje vysokou odolnost proti *Phytophthora infestans*, která způsobuje onemocnění zvané plíseň bramboru (Helgeson *et al.*, 1997). Při zkoušce rezistence oproti hlísticím (konkrétně proti *Meloidogyne incognita*), kdy bylo podrobena velké množství druhů, byla prokázána vysoká rezistence mimo jiné i u druhu *S. bulbocastanum* (Nirula *et al.*, 1969).

Z morfologické stránky patří druh *S. bulbocastanum* k jednomu z nejvíce charakteristických druhů ze sekce *Petota*, má jednoduché listy, čímž se liší od většiny divokých druhů, které mají listy zpeřené (Rodriguez, 2002). Listy jsou až 15 cm dlouhé, pokryté chloupky, květy jsou pětičetné, s nižším výskytem, bílé, nažloutlé

či nazelenalé (Alipi a Pichardo, 2009). Dorůstá do 60 cm, zřídka více. Podle typu korunky se řadí do supersérie *Stellata* (Hawkes, 1994).

Obr. 2. *Solanum bulbocastanum* A- Mladá rostlina B – květy (Lezama, 2001)



### 3.2. Somatická hybridizace

Jedná se o nepohlavní křížení, které se oproti křížení pohlavnímu vztahuje především k tvorbě hybridů somatických, nikoli germálních či pohlavních buněk (Li *et al*, 1999). Umožňuje vznik nových hybridů, kterých by klasickými šlechtitelskými postupy nebylo možné dosáhnout. To z důvodu limitace z hlediska pohlavního křížení, ke kterému ve většině případů nedochází u rostlin různých druhů a u menšiny, kdy k němu dochází, se hybridizace omezuje pouze na několik divokých, blízce příbuzných druhů kulturních plodin (Chawla, 2002). Umožňuje tedy překonání přírodních bariér nekompatibility či zavedení nových kombinací genomů organel a jaderných genomů v somatických hybridech a cybridních rostlinách (Gustafson, 1990). Cílem je přenos genů ovlivňující některé funkce například z druhů divokých do druhů kulturních, např. geny divokých rostlin pro rezistenci vůči plísňovým a virovým nákazám, odolnost proti stresu a další (Navrátilová, 2004).

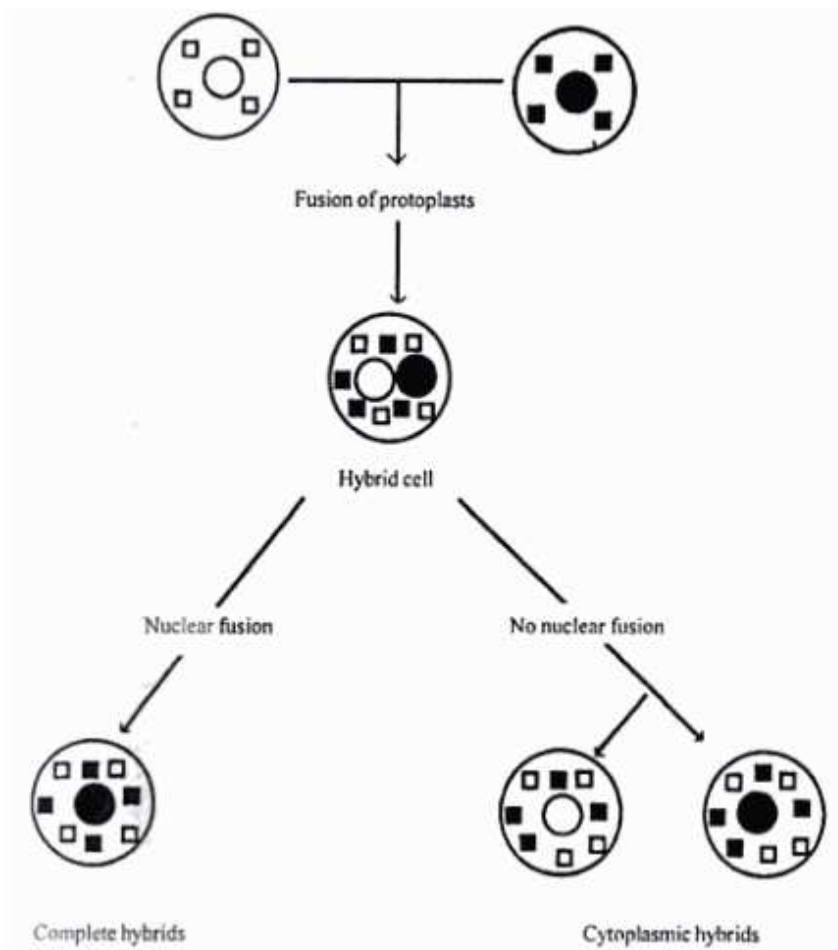
Využívá se tzv. fúze protoplastu, tedy splynutí cytoplazmy, popřípadě jader rodičovských buněk. Somatická hybridizace se rozděluje na symetrickou a asymetrickou, podle částí, které při fúzi splyvají. Při symetrické somatické hybridizaci fúzi podstupuje jak cytoplazma, tak jádra obou rodičovských buněk čímž se zvyšuje ploidie rostlin. To dává možnost vzniku sexuálních kombinací ze 2 komplexů jaderných genomů, protože při fúzi nedochází k meiotické segregaci (Wenzel, 1994). Nevýhodou u symetrické

somatické hybridizace zůstává, že rovnocenně kombinuje jaderný i mimojaderný genom, což je spojeno s větším výskytem nežádoucích vlastností planého druhu v nově získaném šlechtitelském materiálu (Greplová a kol., 2010).

Při asymetrické se jedná o splynutí obou rodičovských cytoplazem, kdežto jádro se předává pouze z jednoho protoplastu (Chawla, 2002). Toho lze dosáhnout fúzí normálního protoplastu a protoplastu bez jádra. Výslední hybridi se také nazývají tzv. cybridy. Druhou možností je fúze normálního protoplastu s protoplastem, jež má ozářené jádro, fúze se pak účastní protoplast s celým jádrem a protoplast pouze s částečným genomem. Protoplasty donora jsou nejprve ozařovány X nebo  $\gamma$  paprsky a podle míry ozáření dochází k eliminaci části genomu jádra (Xu et al., 1993). Asymetrická somatická hybridizace umožňuje omezit nežádoucí vliv jaderného genomu planého druhu, a získat tak nový šlechtitelský materiál přímo využitelný ve šlechtění (Greplová a kol., 2010).

Somatická hybridizace rostlin zahrnuje čtyři stádia: izolace a purifikace protoplastů, fúze protoplastů, selekce hybridních buněk, pěstování protoplastových kultur a regenerace a analýza regenerované rostliny. Fúze protoplastů musí být zahájena ihned po jejich izolaci, než dojde k resyntéze buněčné stěny (Navrátilová, 2004).

Obr. 3. Schematické znázornění symetrické (vlevo) a asymetrické (vpravo) somatické hybridizace (Chawla, 2002).



### 3.2.1. Protoplasty rostlin

Jedná se o převážnou část buňky obalenou cytoplazmatickou membránou. Protoplastem se nazývá bakteriální, rostlinná či buňka plísně, kde byla kompletně odstraněná buněčná stěna. Samotné odstranění buněčné membrány se děje buď cestou mechanickou či enzymatickým natrávením.

### 3.2.2. Izolace protoplastů

Existuje několik metod izolace protoplastů, jejichž úspěšnost závisí na povaze výchozího materiálu. Po jejím provedení cytoplazmatický membrána protoplastu plně odkrytá a stává se jedinou bariérou mezi vnějším prostředím a prostředím

uvnitř buňky (Chawla, 2002). Izolace protoplastů lze docílit dvěma různými způsoby, první, používanější z nich je enzymatická degradace stěny a druhý je narušení stěny mechanickými faktory.

### **3.2.2.1. Izolace mechanická**

Tato metoda je méně používaná, to z důvodu řady nevýhod jako jsou limitace pouze na buňky s velkými vakuolami, obecně nízký výnos protoplastů zapříčiněný přítomností látek vylučovaných poškozenými buňkami a pracnost a zdlouhavost celého procesu (Chawla, 2002). Mechanická izolace, prováděná řezem, je dnes téměř nepoužívaná metoda, zisk protoplastů z místa řezu je v tomto případě nedostatečný, je však považována za důležitou historickou metodu (Navrátilová, 2004).

### **3.2.2.2. Izolace enzymatická**

Princip izolace protoplastů enzymatickou cestou je celkem jednoduchá záležitost, buněčná stěna je oddělena působením polysacharido-hydrolytických enzymů, obvykle pektinázy, která rozpouští střední lamely mezi stěnami přilehlých buněk, a celulázy, jež rozkládá stěny jednotlivých buněk (Li *et al*, 1999).

Enzymatický způsob je uskutečnitelný pouze na parenchymatických buňkách s nelignifikovanou buněčnou stěnou, která je k enzymům rezistentní. Výhodnost enzymatické metody spočívá ve větším zisku protoplastu s nižším výskytem poškození a možností ovlivnění osmotického vlivu. Enzymatickou izolaci lze provést dvoustupňovou metodou či metodou jednostupňovou. Jednostupňová, častěji používaná, spočívá v mechanickém zpracování biologického materiálu do směsi enzymů (celuláza a pektináza, komerční směs). Při dvoustupňové metoda v prvním kroku dochází k uvolnění jednotlivých buněk pomocí komerčně vyráběných enzymatických přípravků (např. macerozyme, macerase) při čemž dojde k degradaci středních lamel a následnému rozpadu tkáně na jednotlivé buňky, druhý krok pak zahrnuje samotný rozpad buněčné stěny užitím celulázy. Při dvoustupňové metodě jsou protoplasty vystaveny působení enzymů po kratší dobu, než při jednostupňové metodě (Navrátilová, 2004).

### 3.2.3. Fúze protoplastů

Na základě dnešní fúzní technologie, mohou jakékoliv 2 buňky fúzi úspěšně podstoupit (Li *et al*, 1999). Zahrnuje míchání protoplastů se dvěma různými genomy, čehož je dosaženo buď metodami spontánními (např. fertilizace vajíčka), nebo indukovanými (Chawla, 2002). Spontánní fúze nemůže nastat mezi protoplasty různých druhů.

#### 3.2.3.1. Indukovaná fúze protoplastů

Fúze je možná díky fluidnímu charakteru membrány, které je dočasně narušena integrita pomocí fuzogenních faktorů různé povahy, tzv. fuzogenů. Fuzogeny při indukované fúzi zastupuje buď chemická látka nebo elektrické pole (tzv. elektrofúze).

##### 3.2.3.1.1. Indukovaná fúze protoplastů chemickou látkou

Při chemické indukované fúzi jsou nejčastěji využívány látky PEG (polyetylglykol), NaNO<sub>3</sub>, dextran a další. Při chemické fúzi se kombinuje relativně vysoká koncentrace fuzogenů s vysokým pH (9.0–10.5) a Ca<sup>2+</sup> ionty (Navrátilová, 2004).

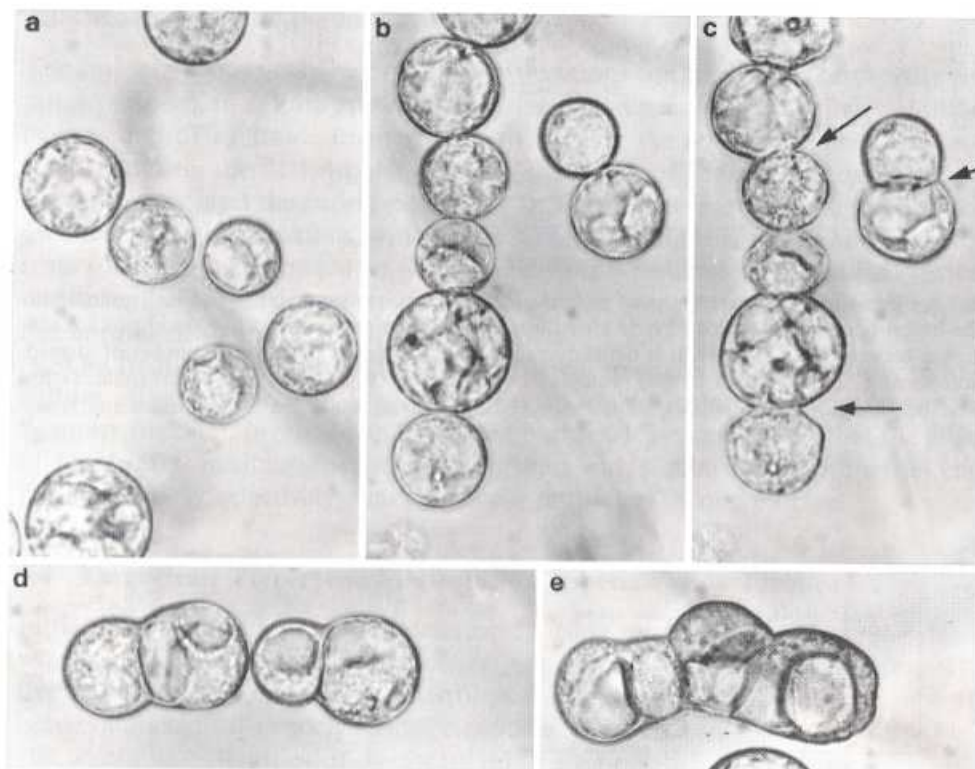
##### 3.2.3.1.2. Elektrofúze

Druhou, u rodu *Solanum*, používanější metodou je elektrofúze, fungující na základě reverzibilní elektrické poruchy buněčné membrány, která je pozorována v místě kontaktu při použití vysokého napětí řádově po dobu nano - až mikrosekund (Zimmermann a Scheurich, 1981).

Jedna z prvních fúzí byla postavena na propojení dvou protoplastů pomocí mikroelektrod, které zprostředkovaly elektrický impuls. Tato metoda byla účinná, jejím limitujícím faktorem však bylo omezení na fúzování pouze nízkého počtu buněk v jednu chvíli (Bates *et al*, 1983). K výraznému zlepšení této problematiky přispěli Zimmermann a Scheurich, kteří původní metodu vylepšily o využití elektrického pole, které umožňuje fúzovat velké množství protoplastů najednou (Obr 4.).



Obr. 4. Řazení a fúze protoplastů z kultury *Solanum tuberosum* při použití elektrického pole. Výsledkem je multifúze (Vries a Tempelaar, 1987).



Každá z metod vyžaduje izolaci kvalitních protoplastů, tzn. pozastavení životaschopných protoplastů bez buněčných zbytků. K fúzi dochází, pokud jsou protoplasty v kontaktu a prochází jimi vhodný elektrický impuls, který indikuje tvorbu dočasných pórů v membráně, tak že dochází k dočasnému zhroucení napětí mezi membránami (Navrátilová, 2004).

### 3.3. Morfologické vlastnosti

Rozbor morfologických vlastností jednotlivých druhů brambor detailně provedl Jermoljev a Zadina, druhy se od sebe odlišují typem natě, stonkem, listem, barvou květu, tvarem hlíz, barvou slupky a dužniny, hloubkou oček a světelnými klíčky.

Rozbor provedli také Vidner a kol. (1987). v klasifikátoru genus *Solanum* L. vytvořeném pro účely EVIGEZu.

EVIGEZ, čili evidence genetických zdrojů rostlin v ČR je od roku 1992 využíván v síti 12 spolupracujících institucí (lokalizovaných na 15 pracovištích), které se podílejí na



Národním programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity. Databáze se skládá ze 3 základních okruhů informací:

-Pasportní data - základní informace o genetickém zdroji

-Popisná data - charakterizace a vlastní hodnocení (podrobné hodnocení morfologických, fenologických, biologických a hospodářských znaků ve stupních 1 - 9, na základě národních klasifikátorů, které jsou v současnosti vypracovány pro 28 plodin)

-Skladová dokumentace genové banky VÚRV, v.v.i.

(Informace dostupné z <http://genbank.vurv.cz/genetic/resources/>)

### **3.3.1. Nadzemní části rostliny**

Nadzemní část se obecně nazývá trs, jeho charakter je ovlivněn tvarem a typem natě. Základní rozdělení typu natě je na stonkový a listový, kde listový se vyznačuje velkými a četnými listy, takže stonek je zakryt, u stonkového typu jsou listy naopak drobné (Jermoljev a Zadina, 1956). Mezi základními typy dále existuje několik typů přechodných, podle toho, ke kterému typu se morfologicky více přibližují. V klasifikátoru *Solanum* podle Vidnera se toto rozdělení nazývá typ trsu, rozdělení se však neliší, dále se určuje tvar trsu a to kuželovitý, deštníkovitý či zarovnaný podle celkového tvaru nadzemní části.

Stonek se liší výškou, silou, tvarem, křídlením, barvou a vzpřímením (Jermoljev a Zadina, 1956). Dalším hodnoceným komponentem se stává list, u nějž se hodnotí jak tvar, tak jeho barva, povrch, lesk a členitost, dále počet základních párů lístků, výskyt lístečků. List se tak stává důležitým aspektem hodnocení morfologických vlastností či při detekci somatických hybridů.

Květenství a květ jako takový je další důležitou částí k hodnocení. Určuje se u něj postavení článků květní stopky a její antokyanová barva, výskyt dvoukorunky, průměr a barva korunky a projev květenství.

## 4. MATERIÁL A METODY

### 4.1. Biologický materiál

Jako biologický materiál byly použity somatické hybridy vzniklé fúzí protoplastů parentální generace *Solanum tuberosum* spp. *tuberosum* (2n klon DH165) + *Solanum bulbocastanum* (PI243510 klon PIS66).

### 4.2. Příprava a kultivace rostlinného materiálu

#### 4.2.1. *In vitro* kultivace rostlin

Živná půda pro daný účel byla složena ze 3 základních složek - Murashige-Skoog medium, sacharóza a agar. Murashige-Skoog medium je komplexní směs makroelementů, mikroelementů a komplexů solí. Sacharóza dodává uhlík, který je potřebný pro transpiraci a agar má gelující schopnost.

Na digitálních vahách bylo odměřeno 4,4 g/l Murashige-Skoog media a promícháno ve 400 ml H<sub>2</sub>O odměřené do kádinky pomocí IKA big-squid froggy. Dále bylo na digitálních vahách odměřeno 7 g/l agaru, který byl smíchán s 400 ml H<sub>2</sub>O v kádince a rozvařen v mikrovlnné troubě, U roztoku Murashige-Skoog media a 400 ml H<sub>2</sub>O bylo dorovnáno pH na 5,7. Koncentraci změřena pH metrem 3310 Jenway a postupným přikapáváním malých dávek 1 M KOH docíleno požadovaného pH. V mém případě bylo použito 130 µl 1 mol KOH.

Na odměrných vahách bylo odměřeno 20 g/l sacharózy, která byla přisypána do roztoku Murashige-Skoog media, 400 ml H<sub>2</sub>O a KOH a promíchána na IKA big-squid froggy do úplného rozpuštění sacharózy. Roztok pak byl pomocí H<sub>2</sub>O doplněn na 500 ml, stejně tak roztok agaru a 400 ml H<sub>2</sub>O. Oba roztoky byly smíchány, čímž vznikne 1 l živné půdy, který byl rozlíván do připravených skleniček po 1,5 odměrce.

Skleničky byly následně vysterilizovány v autoklávu Valueclave (Tuttnauer) 20 min při 121 °C a tlaku 20 kPa.

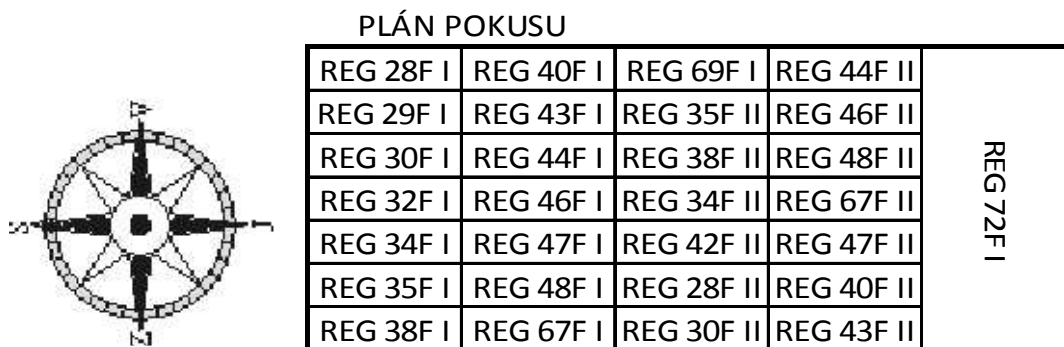
Následně byly rostliny pasážovány v laminárním boxu Gelaire TC48 Flaw laboratories za sterilních podmínek. Povrchová sterilizace pomůcek a prostoru boxu byla provedena 70% etanolem, jenž byl namíchan z technického lihu o koncentraci 82% a vody v poměru 60 ml H<sub>2</sub>O a 350 ml 82 % etanolu. Kultivace probíhala v klimatizovaném boxu MLR 35-1H (Sanyo).

Jeden měsíc staré rostliny byly z *in vitro* kultury převedeny do perlitu a během jednoho týdne otuženy při vlhkosti 90 % a laboratorní teplotě. Otužené rostliny byly vysazeny do kontejnerů o objemu 1litr a kultivovány ve skleníku po dobu 3 týdnů. Vzrostlé rostliny byly převedeny do polního pokusu začátkem května 2011.

### 4.2.3. Výsadba rostlin do polního pokusu

Do polního pokusu bylo začátkem května vysazeno 14 variant ve 2 opakováních ve znárodněných blocích. Schémata pokusu znázorněno v Obr. 5. Jedna pokusná jednotka obsahovala 10 trsů.

Obr. 5. Schematické znázornění výsadby do polního pokusu



### **4.3. Morfologické hodnocení**

Rozbor morfologických vlastností byl proveden dle klasifikátoru pro rod *Solanum* (Vidner *et al.* 1987) používaném v rámci EVIGEZu. Použitá zkrácená pracovní verze klasifikátoru je uvedena v příloze 1. V první fázi v červenci (14. 7. 2011), bylo provedeno hodnocení 25 vlastností nadzemní části biomasy. Druhá fáze následovala v říjnu (30. 10. 2011), kdy byl proveden rozbor a hodnocení morfologie hlíz. Na hlízách bylo hodnoceno 8 vlastností. Výsledky hodnocení jsou shrnuty v Tab. 1. U nadzemní biomasy bylo hodnoceno 25 vlastností, které jsou uvedené ve výsledkové tabulce. Dále byly hodnoceny vlastnosti poukazujících na jakost a výnos tržních hlíz (Tab. 2).

### **4.4. Zhodnocení variability**

Variabilita morfologických znaků byla zhodnocena programem Statistika CZ 9 (Statsoft) metodou shlukové analýzy. Podobnost srovnávaných genotypů byla kalkulována Pearsonovým korelačním koeficientem. Výsledky shlukovací analýzy byly graficky znázorněny kladogramem zkonstruovaným metodou vážených průměrů dvojic. Celková variabilita výnosových charakteristik hlíz byla zhodnocena jednofaktorovou analýzou variance (ANOVA). Podrobnější vyhodnocení rozdílů průměrů bylo provedeno metodou podle Tukey.

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1. Morfologické hodnocení

Vlastní morfologické hodnocení proběhlo u vybraných somatických hybridů *S. tuberosum* + *S. bulbocastanum*. Zjištěné údaje byly podle klasifikátoru *Solanum* zaznamenány do tabulky (Tab. 1). V případě typu trsu byl 100% výskyt listového hustého typu, variabilita nastala až v případě jeho tvaru a to rozdělení do 2 typů – kuželovitý nebo zarovnaný v poměru 10:6. Ve všech případech se jednalo o vzpřímený stonk s větvením po celé délce. Tvar listu byl uniformní u všech posuzovaných rostlin, výsledkem hybridizace je široce oválný list, se 2-3 páry základních lístků, členitost přechodná. Květenství s nevyskytující se dvoukorunkou se vyskytovaly ve dvoubarevné variaci bílo-modrá (obr. 6), v 1 případě (REG 32F) bílo-fialová. Projev květenství byl variabilní od velmi slabého po velmi hojný. Shazování poupat bylo řídké, bobule se nevyskytovaly.

Při hodnocení hlíz byla ve výsledkové tabulce (Tab. 1) zaznamenána téměř 100 % uniformita. Mírná variabilita byla zaznamenána v případě hloubky oček, kde se hodnoty pohybovaly od hluboké až po přechod mezi hlubokou a střední hloubkou oček. Barva dužniny ve většině případů byla světle žlutá, výjimečně krémová. Vyrovnanost hlíz ve velikosti se pohybovala od nevyrovnaných po středně vyrovnané.

Pro podrobnější porovnání byla provedena shluková analýza pomocí Pearsonova korelačního koeficientu metodou váženého průměru dvojic zahrnující všechny morfologické vlastnosti nejprve mezi rodičovskou generací a somatickými hybridy (Obr 10.), následně podrobnější pouze mezi hybridy (Obr 11.). Mezi hybridy došlo k viditelnému rozdělení do dvou shluků po 8 genotypech podle procentuální morfologické podobnosti. Přesto, že se jedná o genotypy vzniklé fúzí protoplastů stejných rodičů, je zde významná variabilita. Po bližším prozkoumání Tab 1. s morfologickými vlastnostmi se ukázalo, že největší podíl na tak vysoké variabilitě mají zejména znaky: tvar trsu, míra květenství a hloubka oček na hlízách, v menší míře pak vliv nese i rozdílnost ve výšce rostlin, tloušťce stonku, počtu stonků na rostlinu a velikost listu.

Obr. 6. Květ somatického hybrida *S. tuberosum* spp. + *S. bulbocastanum* s typickou dvoubarevnou kresbou

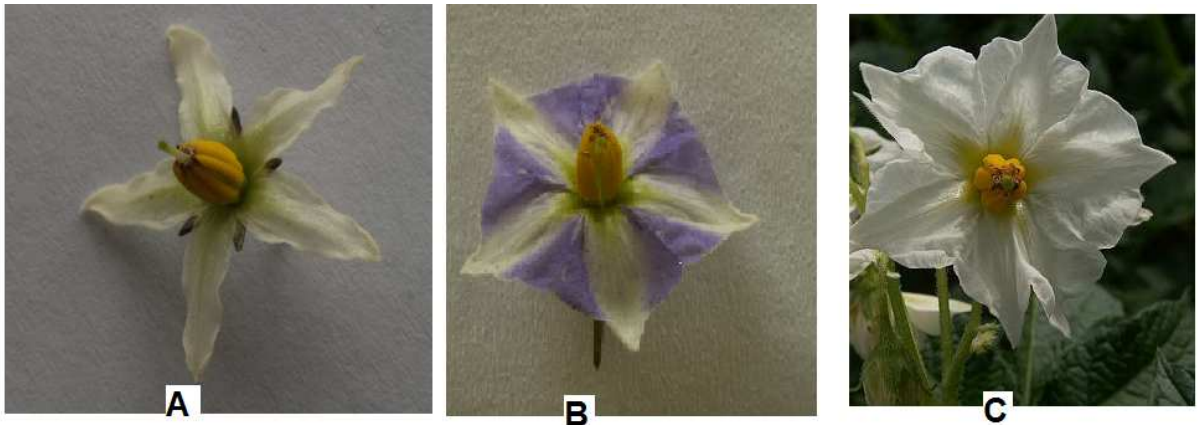


Obr. 7. Porovnání listů z leva *S. bulbocastanum*, *S. tuberosum*, somatický hybrid





Obr. 8. Porovnání tvaru korunky A - *S. bulbocastanum* – supersérie *Stellata*,  
B - Somatický hybrid C - *S. tuberosum* – supersérie *Rotata*



Obr. 9. Celá rostlina včetně stolonů



Tab. 1. Morfologické posouzení vlastností nadzemní biomasy a hlíz pomocí klasifikátoru pro rod *Solanum* (Vidner et al., 1987)

Znak	REG 28F	REG 29F	REG 30F	REG 31F	REG 34F	REG 35F	REG 38F	REG 40F	REG 42F	REG 43F	REG 46F	REG 47F	REG 48F	REG 67F	REG 69F	REG 72F	DH165	S. blb
Typ trsu	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	6	6
Tvar trsu	1	1	1	1	3	1	1	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1
Výška rostliny	3	1	2	2	3	1	1	5	4	4	3	3	3	4	1	1	2	3
Vzpřímenost stonku	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	6	9	9	9	9	9	5	9
Větvení stonku	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Tloušťka stonku	7	6	6	7	7	6	6	8	8	8	7	8	7	7	6	7	6	6
Barva stonku	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	9
Počet stonků na rostlině	2	1	1	1	3	1	1	2	3	1	3	3	1	2	1	1	3	2
Tvar listu	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	3
Počet párů základních lístků	3	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	6	1
Tvar bočních lístků	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	než
Výskyt lístečků	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	1
Členitost listu	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	než
Povrch listu	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5
Velikost listu	7	5	5	7	7	5	5	7	7	7	7	7	7	7	5	5	5	3/5
Barva listu	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	5	7
Lesk listu	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	5
Postavení článků květní stopky	3	3	3	1	3	3	3	1/3	3	3	3	3	3	3	1	3	5	5
Antokyanová barva květní stopky	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	5

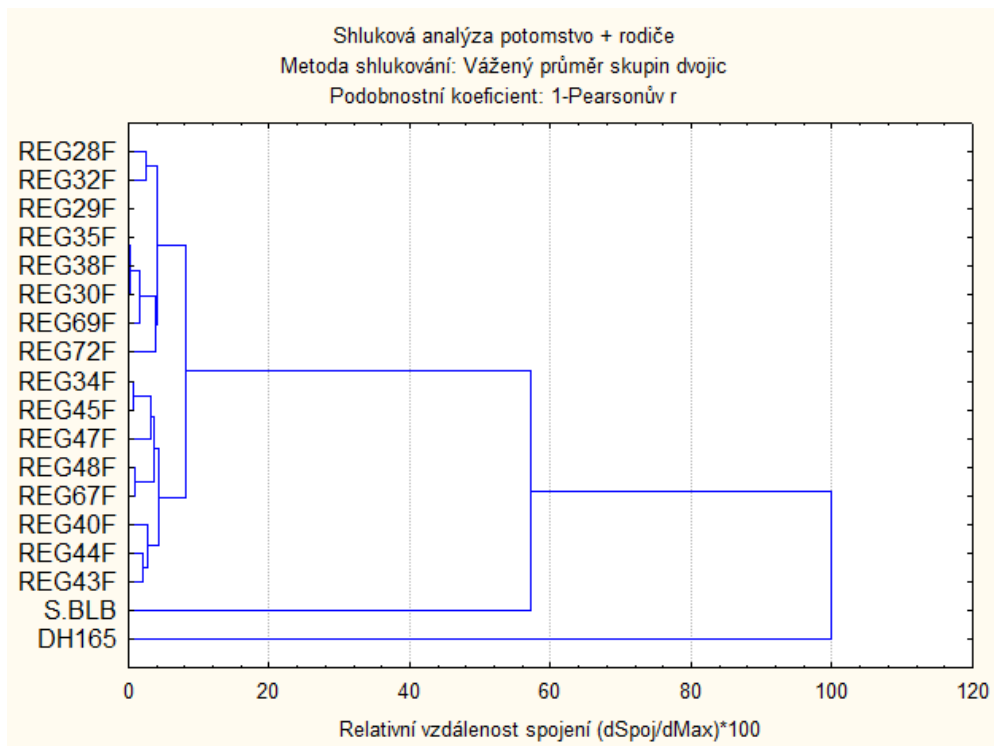


Znak	REG 28F	REG 29F	REG 30F	REG 31F	REG 34F	REG 35F	REG 38F	REG 40F	REG 42F	REG 43F	REG 46F	REG 47F	REG 48F	REG 67F	REG 69F	REG 72F	DH165	S. blb
Dvoukorunka	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	7	1
Průměr korunky	7	7	7	7	8	7	7	7	7	7	8	8	8	9	8	8	1	4
Barva korunky	1/6	1/6	1/6	1/9	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/9	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	7/8	1
Projev květenství	4	2	2	5	7	2	2	6	7	7	8	8	7	8	2	2	6	3
Shazování poupát	7	7	7	7	5	7	7	7	7	7	5	7	7	7	7	7	2	7
Bobule	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tvar hlíz	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	2	9
Zploštělost hlíz	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	9	3
Vyrovnanost hlíz	3	3	3	5	3	3	3	3	5	5	5	3	5	5	3	3	5	5
Vzhled hlíz	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	5
Hloubka oček	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	3	3	3	3	3	3-5	3	3	3	3-5	3	5
Vzhled slupky hlíz	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Barva slupky hlíz	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	8
Barva dužniny hlíz	6	6	6	6	6	6	6	6	6	5	6	5	5	5	6	6	5	7

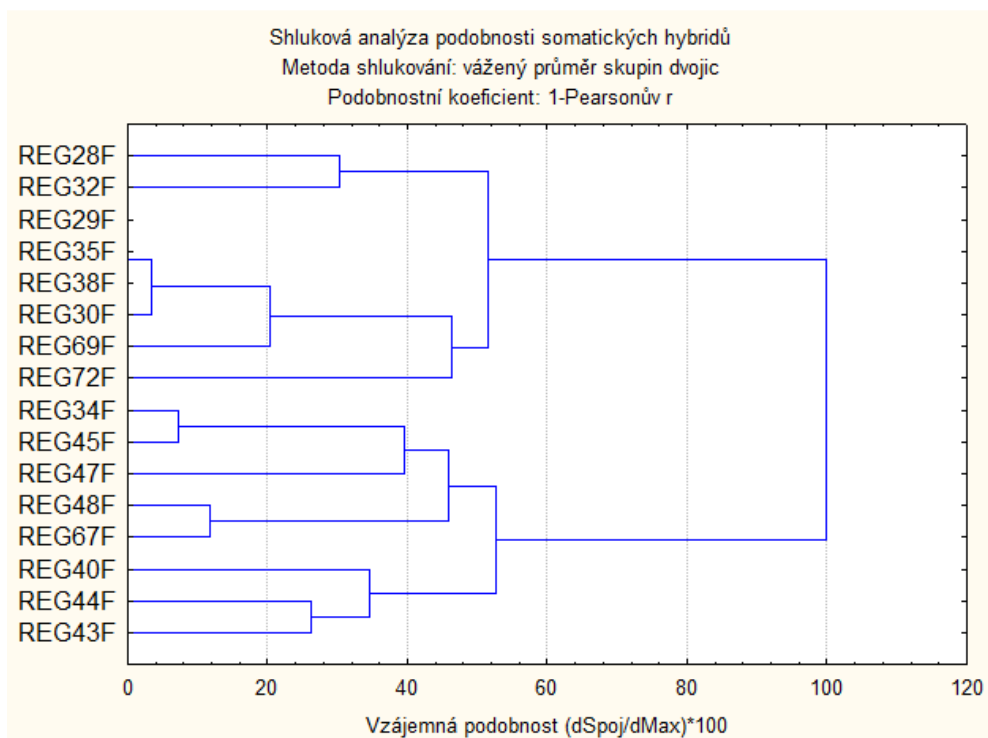
Legenda: DH165 - *Solanum tuberosum*, S. blb - *Solanum bulbocastanum*

1/6 – Bílo-modrá, 1/9 – Bílo-fialová

Obr. 10: Výsledky shlukové analýzy – porovnání somatických hybridů s rodiči



Obr. 11: Výsledek shlukové analýzy – porovnání morfologických vlastností somatických hybridů



## 5.2. Zhodnocení variability výnosotvorných prvků

Celková variabilita výnosových charakteristik hlíz byla zhodnocena jednofaktorovou analýzou variance (ANOVA) metodou jednoduchého třídění dle Tukey. Výsledky jsou uvedeny v příloze 2. Proměnné zahrnuté v analýze byly průměry hodnot zjištěné předcházejícím morfologickým hodnocením. ANOVA byla použita pro 4 nezávislé proměnné a to – celková hmotnost hlíz, celkový počet hlíz, hmotnost tržních hlíz a počet tržních hlíz (příloha 2), závislou proměnou ve všech případech zastával genotyp. Jednotlivé genotypy a jejich celkové hodnoty jsou uvedeny v příloze 3., ze které vychází souhrnná výsledková tabulka 4.

Nejvíce průkazných rozdílů bylo naměřeno v případě celkového počtu hlíz (příloha 2.1), kde byly velmi významné rozdíly jak na hladině významnosti 0,05 i 0,01. Variabilitu potvrzuje i souhrnná tabulka 4, kde jsou zvýrazněné odlehlé hodnoty genotypů REG28F, REG38F a REG69F, které rozdíly ve výsledku podmiňují. Naproti tomu, vykazuje z celkového hlediska nejnižší nesourodost oproti ostatním parametrům.

Nižší variabilita bez odlehlých hodnot byla zaznamenána ve zbylých třech měřeních. V případě ANOVy pro celkovou hmotnost bylo na hladině významnosti 0,05 naměřeno celkem 10 průkazných rozdílů, z toho pak 1 vysoce významný rozdíl na hladině významnosti 0,1 v případě genotypů (REG34F a REG72F). Analýza pro počet tržních hlíz na hladině významnosti 0,05 prokázala 5 rozdílů, na hladině významnosti 0,1 byl vysoce významný rozdíl ve stejném případě jako v předchozím bodě (REG34F a REG72F). Nejnižší počet rozdílů byl vyhodnocen v analýze pro hmotnost tržních hlíz, kde byly pouze 4 průkazné rozdíly na hladině významnosti 0,05. V rámci sourodosti celku byly však v případě hmotnosti tržních hlíz rozdíly nejvyšší.

V případě výnosu přepočítaného na t/ha (Tab. 2.) se hodnoty v průměru pohybovaly kolem 19 t/ha v případě celkové hmotnosti, 16 t/ha v případě hmotnosti tržních hlíz. Soubor byl však hodnotami vysoce nesourodý a tak se aritmetický průměr nedá považovat za objektivní hledisko hodnocení.

Tab. 2. Základní charakteristiky výnosových vlastností somatických hybridů.

	Celkový počet hlíz (ks)	Celková hmotnost hlíz (kg)	Počet tržních hlíz (ks)	Hmotnost tržních hlíz (kg)	Výnos celkový na ha (t/ha)	Výnos tržních hlíz na ha (t/ha)
Reg28F	181,5	5,025	85	3,675	22,11	16,17
Reg29F	106	1,95	54	1,55	8,58	6,82
Reg30F	140	2,65	61,5	1,925	11,66	8,47
Reg32F	166	3,50	102	2,95	15,4	12,98
Reg34F	169,5	6,6	116	6	29,04	26,4
Reg35F	135	2,375	57,5	1,7	10,45	7,48
Reg38F	75,5	1,475	43	1,325	6,49	5,83
Reg40F	140	4,075	75	3,425	17,93	15,07
Reg42F	146	2,90	36	1,55	12,76	6,82
Reg43F	147,5	5,25	85	4,625	23,1	20,35
Reg44F	142,5	6,425	92,5	5,95	28,27	26,18
Reg46F	151	6,2	99,5	5,65	27,28	24,86
Reg47F	143,5	5,525	85,5	4,975	24,31	21,89
Reg48F	123	4,6	74,5	4,05	20,27	17,82
Reg67F	142,5	5,9	89	5,35	25,96	23,54
Reg69F	82	3,40	52	3,20	14,96	14,08
Aritmetický průměr	136,97	4,24	75,50	3,62	18,66	15,92
Směrodatná odchylka	27,79	1,63	22,11	1,63	7,16	7,15
Variační koeficient	20,29%	38,36%	29,29%	44,93%	38,35%	44,93%

## 6. DISKUZE

Pro efektivní hybridizaci je důležité mít k dispozici velké množství výchozího materiálu, který můžeme v případě potřeby využít. Z toho důvodu se zakládají genové banky s genovými zdroji. Existence genových bank umožňuje především zachování variability bramboru. Aby mohly být nové odrůdy zahrnuty do zdrojů genové banky, musí projít důkladnou analýzou, jejíž součástí je mimo jiné i hodnocení morfologických vlastností a výkonnostních prvků.

V rámci pozorování žádný ze somatických hybridů nevykazoval napadení plísní bramboru, geny pro rezistenci tedy byly přeneseny z parentálního *S. bulbocastanum*. Na nulový výskyt plísně brambory nese vliv i fakt, že šlo o pozdní materiál, který je podle Koubkové (2009) obecně méně náchylný na toto onemocnění. Naopak celá populace byla ve velké míře napadána mandelinkou bramborovou.

Somatičtí hybridy při porovnání morfologických vlastností nadzemní části biomasy s parentální generací *S. tuberosum* spp. *tuberosum* a *S. bulbocastanum* (Tab. 1) u kvalitativních a kvantitativních znaků vykázaly středové hodnoty mezi oběma donory. Obzvláště zřejmě se to ukázalo na listu, který v případě *S. tuberosum* je lichozpeřený až se 6 jařmy, kdežto o *S. bulbocastanum* jednoduchý, v případě hybridů dosahuje 2 -3 párů základních lístků (Obr. 7). Dalším znakem poukazujícím na somatický hybridismus je barva korunky, která je v případě parentální generace jednobarevná, v případě hybridů dvoubarevná, jde tedy o znak oligogenní, protože se na něm podílí kombinace genů z parentální generace. Tvarem korunky připomíná *S. tuberosum* s typem *Rotata*, střed je však vybarven do tvaru koruny typu *Stellata* (Hawkes, 1994), jejímž příkladem je *S. bulbocastanum*, podílí se na něm tedy zase kombinace všech rodičovských genů jako v případě jejího zbarvení, konečný tvar spadá do skupiny *Rotata* a lze tak usuzovat, že geny pro typ *Rotata* jsou dominantního charakteru (Obr. 8).

Hlízy se mezi sebou po morfologické stránce nijak výrazně nelišily, v porovnání s parentální generací (Tab. 1.). Zcela uniformní tvar hlíz je hodnotou na středě mezi hodnotami rodičovskými, geny tedy byly přeneseny rovnoměrně, stejně tak barva dužniny. U zploštělosti hlíz vykazují hybridní hlízy podobnost pouze parentálnímu *S. bulbocastanum*, lze tedy usoudit, že geny pro vyšší zploštělost jsou dominantní nad plností. U hloubky oček jsou výsledky spíše nakloněné k hodnotám rodičovského *S. tuberosum*, hodnot stejných se *S. bulbocastanum* nedosahují.

Celkové zhodnocení morfologických vlastností shlukovou analýzou (Obr. 11.) potvrdilo vysokou variabilitu mezi somatickými hybridy i přes to, že hodnocené genotypy byly odvozené fúzí somatických buněk dvou konkrétních rodičovských genotypů. Jedná se tedy o somaklonální variabilitu.

Podle situační a výhledové zprávy od ministerstva zemědělství z května 2011 byl průměrný hektarový výnos u brambor konzumních ostatních 23,04 t/ha. Tuto hodnotu přesáhly v hmotnosti tržních hlíz 4 hybridy z 16 hodnocených. V celkové hmotnosti dosáhlo průměru 6 hybridů. Nejlépe si vedl REG34F, FEG44F a REG46F, kteří dosáhly výkonem nad 24 t/ha hmotnosti tržních hlíz (Tab. 2.). Vliv na výsledné hodnoty má především způsob rozmnožování, jelikož se jednalo o kultivaci *in vitro*, tedy generativně. Kulturní druhy rodu *Solanum* jsou rozmnožovány pouze vegetativně hlízami a rovněž vegetativní cestou mohou být udržovány (Horáčková a Domkářová, 1998). Pokus byl pouze jednoletý a tak nelze posoudit, jak by si vedla další generace získaná vegetativní cestou.

Otázkou zůstává jak využít genetický potenciál somatických hybridů v dalším šlechtitelském procesu. Hodnocené genotypy totiž nevytvářely bobule. Toto naznačuje jistou genetickou nestabilitu a tedy omezenou možnost využití pro křížení v mateřské pozici. Vzhledem k tomu, že nebyla hodnocena fertilita pylu a zatím nebyly provedeny zkoušky křížitelnosti s odrůdami bramboru a jiných blízkých druhů, nelze na tuto otázku odpovědět spolehlivě.

## 7. ZÁVĚR

Somatickou hybridizací *S. tuberosum* a *S. bulbocastanum* bylo získáno 16 somatických hybridů se širokou škálou variability mezi jednotlivými hodnocenými vlastnostmi. Ve shlukové analýze byly genotypy rozděleny do 2 shluků, které vykazovaly značnou odlišnost. Variabilita byla zaznamenána i v případě výnosotvorných prvků. Rozsah variability naznačuje jistou úroveň geneticky podmíněné somaklonální variability.

Použití *S. bulbocastanum* jako jednoho z parentální generace se ukázalo jako vhodné z hlediska zvýšení rezistence vůči *Phytophthora infestans*.

Ze zjištěného vyplývá problematická využitelnost somatických hybridů v dalším šlechtění i přes jejich vysokou odolnost k *P. infestans*. Somatické hybridy totiž nevytvářely žádné bobule, což naznačuje jistou genetickou nestabilitu omezující křížení.

## 8. PŘEHLED CITOVANÉ LITERATURY

Alipi, A. H., Pichardo J. M., Lezama, T. *Solanum bulbocastanum* Dunal [online], 14. 9. 2005, 13. 8. 2009 [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: <<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/solanum-bulbocastanum/fichas/ficha.htm#1. Nombres>>

Bates, G. W., Gaynor, J. J., Shekhawat, N. S. 1983. Fusion of Plant Protoplasts by Electric Fields, *Plant physiol journal*, 72 (4) , p. 1110-1113.

Faberová, I. Evidence genetických zdrojů rostlin v ČR [online], 9. 1. 2012, [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: <<http://genbank.vurv.cz/genetic/resources/default.htm>>

Greplová, M., Greplová, E., Polzerová, H., Domkářová, J. 2010. Metodické postupy využitelné ve šlechtitelství II, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, Havlíčkův Brod, 28 s.

Gustafson, J. P. 1990. Gene manipulation in plant improvement II, Plenum press, New York, p. 437.

Hawkes J. G. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships, in Bradshaw, J. E., Mackay, G. R. (ed.), *Potato genetics*, CAB international, Cambridge, p.3-42

Helgeson, J. P., Pohlman, J. D., Austin, S., Haberlach, G. T., Wielgus, S. M., Ronis, D., Zambolim, L., Tooley, P., McGrath, J. M., James, R. V., Stevenson, W. R. 1998. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source of resistance to late blight, *Theoretical and Applied Genetics*, 96, p. 738-742.

Horáčková, V., Domkářová, J. 1998. Konzervace „*in vitro*“, její uplatnění u kolekce, Sborník referátů ze semináře RGZR, Praha, 60-66 s. Také dostupné z <[http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/brambory/clanky\\_brambory/konzervace\\_in\\_vitro.pdf](http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/brambory/clanky_brambory/konzervace_in_vitro.pdf)>

Chawla, H. S., 2002. Introduction to plant biotechnology, Science publishers, USA, p. 528.



Jašková, V. SOLANUM TUBEROSUM L. – lilek brambor / řuřok zemákový [online], Botany.cz, 14. 12. 2008, [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: <<http://botany.cz/cs/solanum-tuberosum/>>

Jermoljev, E., Zadina, J. 1956. Hodnocení bramborů v moderním šlechtění, Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 120 s.

Kocián, P. Lilek brambor [online], květena ČR, 24. 6. 2006, [cit. 2012-04-08]. Dostupné z: <<http://www.kvetenacr.cz/detail.asp?IDdetail=457>>

Koubková, D. 2009. Pozdní brambory odolnější vůči plísni bramborové, Top agrar, 7, s. 5.

Li, Y. G., Stoutjestijk, P. A., Larkin, P. J. 1999. Somatic hybridisation in plant improvement in Morphogenesis, in Soh, W. Y., Bhojwany, S. S. (eds.), Plant tissue cultures, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 363-418.

Lisińska, G., Leszczyński, W. 1989. Potato science and technology, Springer, England, p. 409.

Millam, S. 2006. Potato (*Solanum tuberosum* L.), in Wang, K. (ed.), Agrobacterium protocols second edition: volume 2, Humana press, New Jersey, p. 25-95. Dostupný také z <[http://www.certified-easy.com/aa.php?isbn=ISBN:1588298434&name=Agrobacterium Protocols](http://www.certified-easy.com/aa.php?isbn=ISBN:1588298434&name=Agrobacterium%20Protocols)>

Navrátilová, B. 2004. Protoplast cultures and protoplast fusion focused on Brassicaceae, Horticultuar science, 31(4), Prague, p. 140-157.

Nirula, K. K., Khushu, C. L., Raj, B. T. 1969. Resistance in tuber-bearing *Solanum* species to root knot nematode, *Meloidogyne inkognita*, American Journal Of Potato Research, 46 (7), p. 251-253.

Rodriguez, A., Spooner, D. M. 2001. Subspecies boundaries of the wild potatoes *Solanum bulbocastanum* and *S. cardiophyllum* based on morfological and nuclear RFLP data, Acta Botanica Mexicana, 61, p. 9-25.

Spooner, D. M., Hijmans, R. J. 2001. Potato systematics and germplasm collecting, 1989-2000, American Journal Of Potato Research, 78 (4), p. 237-268.

- Vidner, J., Dobiáš, K., Konrád, J., Dědič, P., Bareš, I., Sehnalová, J. 1987. Klasifikátor genus *Solanum* L. Výzkumný a šlechtitelský ústav bramborářský Havlíčkův Brod, Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně, Praha, 45 s.
- Vries, S. E., Tempelaar, M. J. 1936. Electrofusion and analysis of potato static hybrids, in Bajaj, Y. P. S. (ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry 3: Potato*, Springer-Verlag, Berlin, p. 211-222.
- Wenzel, G. 1994. Tissue culture, in Bradshaw, J. E., Mackay, G. R. (ed.), *Potato genetics*, CAB International, Cambridge, p. 173-195.
- Xu, Y. S., Murto, M., Dunckley, R., Jones, M. G. K., Pehu, E. 1993. Production of asymmetric hybrids between *Solanum tuberosum* and irradiated *S. brevidens*. *Theoretical and Applied Genetics*, 85, 729 – 734.
- Zadina, J., Jermoljev, E. 1976. Šlechtění bramboru, Academia, Praha, 359 s.
- Zimmerman, U., Scheurich, P. 1981. High frequency fusion of plant protoplast by electric fields, *Planta*, 151, p. 26-32.
- Žižka, J. 2011. Situační a výhledová zpráva brambory květen 2011. Ministerstvo zemědělství ČR, 47 s.

## 9. PŘÍLOHY

Příloha 1. Klasifikátor pro rod *Solanum* (Vidner et al., 1987) pro hodnocené parametry

Znak	Hodnocení	Stupnice	Znak	Hodnocení	Stupnice	Znak	Hodnocení	Stupnice	Znak	Hodnocení	Stupnice	
Typ trsu	Stonkový řídký	2	Barva stonku	Slabě načervenalá	1	Tvar bočních listků (délka : šířka)	Čárkovitě	>5,0	Průměr korunky	Čárkovitě	1	
	Stonkový	3		Modrořiaľová	2		Úzce kopinaté	5,1-4,1		Dvoukorunka	Nevyškytuje se	1
	Stonkový hustý	4		Červenohnědá	3		Kopinaté	4,0-3,1			Vyškytuje se nepravidelně	5
	Přechodný	5		Červená	4		Široce kopinaté	3,0-2,1			Vyškytuje se pravidelně	9
	Listový řídký	6		Modrořiaľově žíhaná	5		Široce oválné	2,0-1,9			Velmi malý	<8mm
	Listový	7		Tmavozelená	6		Oválné	1,8-1,7			Malý	8-11
	Listový hustý	8		Zelená	7		Široce oválné	1,6-1,5			Střední	12-15
Tvar trsu	Kuželovitý	1	Světle zelená	8	Eliptické	1,4-1,2		Velký	16-19			
	Deštníkovitý	2	Zeleně žíhaná	9	Okrouhlé	<1,2		Velmi velký	20-23			
	Zarovnaný	3	Velmi nízký	1	Výskyt lističek				24-27			
Výška rostliny	Velmi nízká	1	Nízký	2,0-3,0	2	Pravidelné	Nepravidelné	1		28-31		
	Nízká	2	Střední	3,1-4,0	3	Číenitost listu	Uzavřený	2		32-35		
	Střední	3	Vysoký	4,1-5,0	4	Povrch listu	Přechodný	1	Bílá	>35		
	Velmi vysoká	4	Velmi vysoký	5,1-6,0	5		Otevřený	2	Růžová			
		5	Okrouhlý	6,1-7,0	6		Plochy	3	Světle červenofiaľová			
		6		7,1-8,0	7		Vlnitý	4	Červenofiaľová			
		7		8,1-9,0	8		Silně vlnitý až kadeřavý	5	Temně fiaľová			
		8		>9,1	9		Šedozeľená	7	Modrá			
		9			1		Hnědozeľená	1	Světle fiaľová			
		1			3		Světle zeľená	3	Šedořiaľová			
Vzprímenost stonku	Polo vzprímený	5	Dlouze oválný	5		Barva listu	Světle zeľená	5	Tmavořiaľová			
	Vzprímený	9	Podlouhý	7			Zeľená	7	Nekvete			
	Na spodu stonku	2	Čárkovitý - úzký	9			Tmavozelená	9	Velmi slabé			
Větvění stonku	Uprostřed stonku	4	Velmi malý	1			Matný	1	Slabé			
	Na vrcholu stonku	6	Malý	3		Lesk listu	Slabě lesklý	5	Slabě až střední			
	Na celém stonku	8	Střední	5			Lesklý	9	Střední			
Tloušťka stonku	Velmi tenký	1	Velký	7			V horní 1/4	1	Středně hojně			
		2	Velmi velký	9		Postavení článků květní stopky	V horní 1/3	3	Hojně			
	Tenký	3	List nedělený	1			Ve středu	5	Velmi hojně			
		4	1 pár	2			V dolní 1/3	7	Extrémně hojně			
	Střední	5	2 páry	3			V dolní 1/4	9	Časté			
		6	3 páry	4		Anthokyano vá barva květní stopky	Chybí	1	Střední			
	Tlustý	7	4 páry	5			Slabá	3	Řidké			
		8	5 párů	6			Střední	5	Chybí			
	Velmi tlustý	9	6 párů	7			Silná	7	Ojedinelé			
		7 párů	8			Velmi silná	9	Malý	<10			

Znak	Hodnocení	Stupnice	Znak	Hodnocení	Stupnice	Znak	Hodnocení	Stupnice	
<b>Tvar hlíz</b>	Dlouhý	1	<b>Hloubka oček</b>	Velmi hluboké	1	<b>Barva slupky</b>	Tmavošedá	1	
	Ledvina, roblíček	2		Hluboké	3		Sedá	2	
	Dlouze oválný – oválný	3		Střední	5		Světle šedá	3	
	Oválný, dlouze oválný	4		Mělké	7		Světle červená	4	
	Oválný	5		Velmi mělké	9		Červená	5	
<b>Zploštělost hlíz</b>	Kulovitooválný, okrouhlooválný	6	<b>Vzhled slupky</b>	Rozpraskaná	1		<b>Rozdělení barvy slupky</b>	Růžová	6
	Okrouhlý	7		Rozbrázděná	2			Prechodné	5
	Okrouhlokulovitý	8		Korkovitá	3			Plošné	9
	Kulovitý	9		Drsná	4			<b>Barva dužniny (v rámci rodu)</b>	Anthokyanová – plošná
	Velmi zploštělá	1		Mírně drsná	5	Anthokyanová – neplošná			2
	Středně zploštělá	3		Síťkovaná	6	Tmavožlutá			3
	Slabě zploštělá	5		<b>Barva dužniny (Solanium tuberosum)</b>	Hladka	9		Žlutá	4
	Ojedinele zploštělá	7			Bílá	1		Světle žlutá	5
	Plná	9			Slabě nažloutlá	3		Křemová	6
<b>Vzhled hlíz</b>	Nevzhledné	1	<b>Barva dužniny (v rámci rodu)</b>	Sytě žlutá	9	Bílá	7		
	Méně vzhledné	3		<b>Barva dužniny (v rámci rodu)</b>					
	Středně vzhledné	5							
	Vzhledné	7							
	Velmi vzhledné	9							

## Příloha 2. Výsledky ANOVA

### 2.1. Analýza rozptylu pro proměnnou celkový počet hlíz

Č. buňky	Tukeyův HSD test: Počet hlíz																		
	Prom7	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	
1	181.50	106.00	140.00	166.00	169.50	135.00	75.500	146.00	140.00	147.50	142.50	142.50	151.00	143.50	123.00	142.50	82.000	66.000	66.000
2	0,005272	0,341357	0,627402	0,999018	0,999954	0,204214	0,000271	0,566140	0,341357	0,627402	0,428654	0,428654	0,765115	0,466413	0,048372	0,428654	0,000394	0,000213	0,000213
3	0,341357	0,627402	0,903621	0,800809	0,817744	0,765115	0,022250	0,392290	0,627402	0,341357	0,525450	0,525450	0,239947	0,485812	0,997345	0,525450	0,944034	0,392290	0,392290
4	0,999018	0,339921	0,903621	1,000000	1,000000	0,746469	0,000868	0,987183	0,903621	0,993799	0,952008	0,952008	0,999323	0,965539	0,294861	0,952008	0,001817	0,000377	0,000377
5	0,999954	0,025353	0,800809	0,800809	0,800809	0,606965	0,000617	0,952008	0,800809	0,971171	0,878226	0,993799	0,903621	0,903621	0,204214	0,878226	0,001207	0,000308	0,000308
6	0,204214	0,817744	1,000000	0,746469	0,606965	0,606965	0,042568	0,999985	1,000000	0,999924	1,000000	0,999924	0,998606	1,000000	0,999954	1,000000	0,096089	0,012332	0,012332
7	0,000271	0,765115	0,022250	0,000868	0,000617	0,042568	0,010124	0,010124	0,022250	0,008316	0,016035	0,005272	0,014064	0,014064	0,182857	0,016035	1,000000	0,999998	0,999998
8	0,566140	0,392290	1,000000	0,987183	0,952008	0,999985	0,010124	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,959167	1,000000	0,023752	0,002966	0,002966
9	0,341357	0,627402	1,000000	0,903621	0,800809	1,000000	0,022250	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999985	1,000000	0,997345	1,000000	0,051549	0,006405	0,006405
10	0,627402	0,341357	1,000000	0,993799	0,971171	0,999924	0,008316	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,935225	1,000000	0,019523	0,002461	0,002461
11	0,428654	0,525450	1,000000	0,952008	0,878226	1,000000	0,016035	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,989817	1,000000	0,037435	0,004633	0,004633
12	0,765115	0,239947	0,999985	0,999323	0,993799	0,998606	0,005272	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,849518	1,000000	0,012332	0,001613	0,001613
13	0,466413	0,485812	1,000000	0,965539	0,903621	1,000000	0,014064	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,989817	0,984060	0,984060	1,000000	0,032880	0,004073	0,004073
14	0,428654	0,997345	0,997345	0,997345	0,294861	0,204214	0,999954	0,182857	0,959167	0,997345	0,935225	0,989817	0,849518	0,984060	0,984060	0,989817	0,357858	0,058506	0,058506
15	0,428654	0,525450	1,000000	0,952008	0,878226	1,000000	0,016035	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,989817	1,000000	0,037435	0,004633	0,004633
16	0,000394	0,944034	0,051549	0,001817	0,001207	0,096089	1,000000	0,023752	0,051549	0,019523	0,037435	0,037435	0,012332	0,032880	0,357858	0,037435	0,998606	0,998606	0,998606
17	0,000213	0,392290	0,006405	0,000377	0,000308	0,012332	0,999998	0,002966	0,006405	0,002461	0,004633	0,004633	0,001613	0,004073	0,058506	0,004633	0,998606	0,998606	0,998606

## 2.2. Analýza rozptylu pro proměnnou celková hmotnost hlíz

Č. buňky	Tukeyův HSD test; Hmotnost hlíz																
	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}
Prom7	5,0250	1,9500	2,6500	3,5000	6,6000	2,3750	1,4750	2,9000	4,0750	5,2500	6,4250	6,2000	5,5250	4,6000	5,9000	3,4000	1,4000
Reg28F		0,321732	0,686969	0,981274	0,975439	0,533715	0,161144	0,814277	0,999874	1,000000	0,991292	0,998517	1,000000	1,000000	0,999955	0,968379	0,143131
Reg29F			0,999998	0,978504	0,024744	1,000000	1,000000	0,999874	0,814277	0,235000	0,033807	0,050204	0,154903	0,533715	0,084012	0,987971	1,000000
Reg30F				0,999969	0,084012	1,000000	0,998517	1,000000	0,989736	0,561685	0,112354	0,161144	0,414856	0,886015	0,252557	0,999994	0,997145
Reg32F				0,975439	0,024744	0,311144	0,999085	0,857454	1,000000	1,000000	0,390145	0,506330	0,857454	0,999289	0,673248	1,000000	0,825580
Reg34F				0,533715	1,000000	0,084012	0,052436	0,10543	0,126926	0,603596	1,000000	1,000000	0,999453	0,867356	0,999998	0,271196	0,009211
Reg35F				0,161144	1,000000	1,000000	0,999085	0,052436	0,999936	1,000000	0,955208	0,103487	0,290688	0,766086	0,167537	0,999686	0,999827
Reg38F				0,814277	0,999874	1,000000	0,857454	0,010543	0,999936	0,989736	0,561685	0,112354	0,070911	0,300795	0,036932	0,894753	1,000000
Reg42F				0,999874	0,814277	0,989736	1,000000	0,126926	1,000000	0,989736	0,167537	0,235000	0,547808	0,955208	0,354919	1,000000	0,983759
Reg40F				1,000000	0,235000	0,561685	0,944569	0,993833	0,414856	0,561685	0,998517	0,700571	0,814277	0,987971	1,000000	0,925656	0,999999
Reg43F				0,991292	0,033807	0,112354	0,390145	1,000000	0,070911	0,070911	0,998517	0,999874	1,000000	0,999936	0,925656	1,000000	0,343625
Reg44F				0,998517	0,050204	0,161144	0,506330	1,000000	0,103487	0,103487	0,167537	0,700571	1,000000	0,999999	0,972071	1,000000	0,453077
Reg46F				1,000000	0,154903	0,414856	0,857454	0,999453	0,290688	0,070911	0,021638	0,021638	0,235000	0,814277	0,999874	1,000000	0,453077
Reg47F				1,000000	0,533715	0,886015	0,999289	0,867356	0,766086	0,300795	0,021638	0,021638	0,547808	0,987971	1,000000	0,814277	0,062361
Reg48F				0,999955	0,084012	0,252557	0,673248	0,999998	0,167537	0,036932	0,354919	0,925656	1,000000	0,999999	0,925656	0,972071	0,999910
Reg67F				0,968379	0,987971	0,999994	1,000000	0,271196	0,999686	0,894753	1,000000	0,999999	0,918540	0,343625	0,453077	0,814277	0,998137
Reg69F				1,000000	0,997145	0,825580	0,009211	0,999827	1,000000	0,983759	0,519971	0,099293	0,012622	0,012622	0,018916	0,032323	0,867356
Reg72F				0,143131	1,000000	0,997145	0,825580	0,009211	0,999827	1,000000	0,983759	0,519971	0,099293	0,012622	0,018916	0,032323	0,867356



### 2.3. Analýza rozptylu pro průměrnou počet tržních hlíz

Č. buňky	Tukeyův HSD test; Počet tržních hlíz																		
	Prom7	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}	
1	85,000	54,000	61,500	102,00	116,00	57,500	43,000	36,000	75,000	85,000	92,500	99,500	85,500	74,500	89,000	52,000	30,000		
2	0,883553	0,883553	0,985264	0,999464	0,883553	0,947725	0,533046	0,314050	0,999999	1,000000	1,000000	0,999921	1,000000	0,999999	1,000000	0,833037	0,181837		
3	0,985264	1,000000	1,000000	0,341413	0,089292	1,000000	0,999998	0,998974	0,994838	0,998974	0,883553	0,656502	0,416280	0,871818	0,995938	0,773917	1,000000	0,982302	
4	0,999464	0,341413	0,585946	0,999949	0,190793	1,000000	0,998612	0,970683	0,999968	0,985264	0,883553	0,673955	0,962302	0,999980	0,947725	1,000000	0,999980	0,947725	1,000000
5	0,883553	0,089292	0,190793	0,999949		0,999949	0,448394	0,128419	0,026668	0,12070	0,568319	0,894656	0,999621	0,894656	0,550772	0,954343	0,072138	0,006118	
6	0,947725	1,000000	1,000000	0,448394	0,128419		0,999921	0,993510	0,999254	0,947725	0,773917	0,533046	0,940485	0,999464	0,871818	1,000000	0,947725		
7	0,533046	0,999998	0,998612	0,122027	0,026668	0,999921		1,000000	0,859476	0,533046	0,300941	0,157038	0,515718	0,871818	0,400681	1,000000	0,999980		
8	0,314050	0,998974	0,970683	0,058064	0,012070	0,993510	1,000000		0,638934	0,314050	0,157038	0,076115	0,300941	0,656502	0,219829	0,999736	1,000000		
9	0,999999	0,994838	0,999968	0,954343	0,568319	0,999254	0,859476	0,638934		0,999999	0,999254	0,978903	0,999999	1,000000	0,999949	0,987832	0,432190		
10	1,000000	0,883553	0,985264	0,999464	0,883553	0,947725	0,533046	0,314050	0,999999	0,999254	1,000000	0,999921	1,000000	0,999999	1,000000	0,833037	0,181837		
11	1,000000	0,656502	0,883553	1,000000	0,985264	0,773917	0,300941	0,157038	0,999254	0,999254	1,000000	0,999921	1,000000	0,999974	1,000000	0,585946	0,084685		
12	0,999921	0,416280	0,673955	1,000000	0,999621	0,533046	0,157038	0,076115	0,978903	0,999921	1,000000	0,999921	0,999949	0,975038	0,999999	0,355652	0,039482		
13	1,000000	0,871818	0,982302	0,999621	0,894656	0,940485	0,515718	0,300941	0,999999	1,000000	1,000000	0,999949	0,999998	0,999998	1,000000	0,818992	0,173232		
14	0,999999	0,995938	0,999980	0,947725	0,550772	0,999464	0,871818	0,656502	1,000000	0,999999	0,998974	0,975038	0,999998	0,999998	0,999921	0,990043	0,448394		
15	1,000000	0,773917	0,947725	0,999980	0,954343	0,871818	0,400681	0,219829	0,999949	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,999999	0,708349	0,122027			
16	0,833037	1,000000	1,000000	0,288217	0,072138	1,000000	1,000000	0,999736	0,987832	0,833037	0,833037	0,585946	0,355652	0,818992	0,990043	0,708349	0,991927		
17	0,181837	0,982302	0,871818	0,029843	0,006118	0,947725	0,999980	1,000000	0,432190	0,181837	0,084685	0,039482	0,173232	0,448394	0,122027	0,991927			

## 2.4. Analýza rozptylu pro proměnnou hmotnost tržních hlíz

Č. buňky	Tukeyův HSD test; Počet tržních hlíz																
	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}	{11}	{12}	{13}	{14}	{15}	{16}	{17}
Prom7	85,000	54,000	61,500	102,00	116,00	57,500	43,000	36,000	75,000	85,000	92,500	99,500	85,500	74,500	89,000	52,000	30,000
Reg28F	0,883553	0,883553	0,985264	0,999464	0,883553	0,947725	0,533046	0,314050	0,999999	1,000000	1,000000	0,999921	1,000000	0,999999	1,000000	0,833037	0,181837
Reg29F	0,883553	1,000000	0,341413	0,089292	1,000000	0,999998	0,998974	0,994838	0,994838	0,883553	0,656502	0,416280	0,871818	0,995938	0,773917	1,000000	0,982302
Reg30F	0,985264	1,000000	0,585946	0,190793	1,000000	0,998612	0,970683	0,999968	0,985264	0,883553	0,673955	0,982302	0,999980	0,947725	1,000000	0,871818	
Reg32F	0,999464	0,341413	0,585946	0,999949	0,999949	0,448394	0,122027	0,058064	0,954343	0,999464	1,000000	1,000000	0,999621	0,947725	0,999980	0,288217	0,029843
Reg34F	0,883553	0,089292	0,190793	0,999949	0,999949	0,128419	0,999921	0,993510	0,999254	0,947725	0,773917	0,533046	0,894656	0,550772	0,954343	0,072138	0,006118
Reg35F	0,947725	1,000000	1,000000	0,448394	0,128419	0,999921	0,999921	0,993510	0,999254	0,947725	0,773917	0,533046	0,940485	0,999464	0,871818	1,000000	0,947725
Reg38F	0,533046	0,999998	0,998612	0,122027	0,026668	0,999921	0,999921	1,000000	0,859476	0,533046	0,300941	0,157038	0,515718	0,871818	0,400681	1,000000	0,999980
Reg42F	0,314050	0,998974	0,970683	0,058064	0,012070	0,993510	1,000000	0,993510	0,638934	0,314050	0,157038	0,076115	0,300941	0,656502	0,219829	0,999736	1,000000
Reg40F	0,999999	0,994838	0,999968	0,954343	0,568319	0,999254	0,859476	0,638934	0,999999	0,999254	0,978903	0,978903	0,999999	1,000000	0,999949	0,987832	0,432190
Reg43F	1,000000	0,883553	0,985264	0,999464	0,883553	0,947725	0,533046	0,314050	0,999999	0,999999	1,000000	0,999921	1,000000	0,999999	1,000000	0,833037	0,181837
Reg44F	1,000000	0,656502	0,883553	1,000000	0,985264	0,773917	0,300941	0,157038	0,999254	1,000000	1,000000	1,000000	1,000000	0,999974	1,000000	0,585946	0,084685
Reg46F	0,999921	0,416280	0,673955	1,000000	0,999621	0,533046	0,157038	0,076115	0,978903	0,999921	1,000000	0,999949	0,999949	0,975038	0,999999	0,355652	0,039482
Reg47F	1,000000	0,871818	0,982302	0,999621	0,894656	0,940485	0,515718	0,300941	0,999999	1,000000	1,000000	0,999949	0,999998	0,999998	1,000000	0,818992	0,173232
Reg48F	0,999999	0,995938	0,999980	0,947725	0,550772	0,999464	0,871818	0,656502	1,000000	0,999999	0,998974	0,975038	0,999998	0,999998	0,999921	0,990043	0,448394
Reg67F	1,000000	0,773917	0,947725	0,999980	0,954343	0,871818	0,400681	0,219829	0,999949	1,000000	1,000000	0,999999	1,000000	0,999921	0,999921	0,708349	0,122027
Reg69F	0,833037	1,000000	1,000000	0,288217	0,072138	1,000000	1,000000	0,999736	0,987832	0,833037	0,585946	0,355652	0,818992	0,990043	0,708349	0,991927	
Reg72F	0,181837	0,982302	0,871818	0,029843	0,006118	0,947725	0,999980	1,000000	0,432190	0,181837	0,084685	0,039482	0,173232	0,448394	0,122027	0,991927	



### Příloha 3

Tabulka všech použitých genotypů 12x ve 2 opakováních, 4x (REG 29, REG 69, REG 42 a REG 32) bez opakování s procentuálním vyhodnocením

Genotyp	Počet hlíz	Hmotnost celková (Kg)	Počet hlíz tržní velikosti (3-6cm)	Hmotnost hlíz tržní velikosti (Kg)	Počet hlíz nad 6cm	Hmotnost hlíz nad 6cm (Kg)	procento hlíz tržní produkce	procento hmotnosti hlíz tržní produkce
Reg28F I	177	5,20	100	4,35			56,50	83,65
Reg30F I	117	2,10	57	1,65			48,72	78,57
Reg34F I	186	7,75	140	7,25			75,27	93,55
Reg35F I	126	2,25	60	1,70			47,62	75,56
Reg38F I	92	1,70	50	1,60			54,35	94,12
Reg40F I	153	4,55	78	3,80			50,98	83,52
Reg43F I	160	6,90	110	6,40	4	0,80	68,75	92,75
Reg44F I	146	5,75	97	5,30			66,44	92,17
Reg46F I	147	6,10	108	5,65			73,47	92,62
Reg47F I	153	6,65	101	6,20	2	0,40	66,01	93,23
Reg48F I	136	5,10	85	4,70			62,50	92,16
Reg67F I	141	7,60	110	7,20	5	1,00	78,01	94,74
Reg28F II	186	4,85	70	3,00	2		37,63	61,86
Reg30F II	163	3,20	66	2,20			40,49	68,75
Reg34F II	153	5,45	92	4,75	1		60,13	87,16
Reg35F II	144	2,50	55	1,70			38,19	68,00
Reg38F II	59	1,25	36	1,05			61,02	84,00
Reg40F II	127	3,60	72	3,05	2		56,69	84,72
Reg43F II	135	3,60	60	2,85			44,44	79,17
Reg44F II	139	7,10	88	6,60			63,31	92,96
Reg46F II	155	6,30	91	5,65	3		58,71	89,68
Reg47F II	134	4,40	70	3,75	7		52,24	85,23
Reg48F II	110	4,10	64	3,40			58,18	82,93
Reg67F II	144	4,20	68	3,50	4		47,22	83,33
Reg29F	106	1,95	54	1,55			50,94	79,49
Reg32F	166	3,50	102	2,95			61,45	84,29
Reg69F	82	3,40	52	3,20	3		63,41	94,12
Reg42F	146	2,90	36	1,55	2		24,66	53,45