

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra genetiky a šlechtění



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Genetická analýza mimojaderné DNA u odrůd bramboru
ve vztahu k fenotypu
Diplomová práce**

**Bc. Tereza Anna Javůrková
Biotechnologie a šlechtění rostlin**

Ing. Vladimíra Sedláková, Ph.D.

© 2025 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Genetická analýza mimojaderné DNA u odrůd bramboru ve vztahu k fenotypu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob. Prohlašuji, že jsem nástroje umělé inteligence využila výhradně k jazykové a stylistické úpravě textu, a to v souladu s metodickým doporučením České zemědělské univerzity v Praze. Veškeré myšlenky, odborný obsah i zpracování výsledků jsou mojí vlastní prací a nástroje umělé inteligence k jejich tvorbě využity nebyly.

V Praze dne 20.04.2025

Poděkování

Ráda bych touto cestou vyjádřila upřímné poděkování Ing. Vladimíře Sedlákové, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, cenné rady, vstřícnost a trpělivost, kterou mi po celou dobu poskytovala.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Daniele Čílové a Ing. Martině Melounové, Ph.D. za jejich pomoc a dohled při práci v laboratoři. Mé poděkování patří také celé Katedře genetiky a šlechtění.

Genetická analýza mimojaderné DNA u odrůd bramboru ve vztahu k fenotypu

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá podrobnou genetickou analýzou odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.). V teoretické části je popsána botanická charakteristika druhu lilek brambor, který náleží do čeledi *Solanaceae*. Dále jsou popsány klíčové oblasti cytogenetiky a využití brambor v zemědělství a potravinářství.

Další kapitoly se zaměřují na mimojadernou DNA, která se nachází v semiautonomních organelách, jako jsou mitochondrie a plastidy. Tato část obsahuje přehled struktury a funkce mitochondriální a plastidové DNA, včetně jejich role v dědičnosti a vlivu na fenotypové vlastnosti rostlin.

V poslední kapitole teoretické části jsou popsány metody molekulární biologie použité v experimentální části práce. Jedná se zejména o podrobný popis techniky PCR a metody využívající restriční endonukleázy, konkrétně enzym BamHI, pro analýzu fragmentů DNA.

Praktická část práce se zaměřuje na optimalizaci multiplex PCR reakce, po které následovala amplifikace vzorků. Následně byly vzorky štěpeny restriční endonukleázou BamHI. Na základě výsledků z molekulární analýzy byly u jednotlivých odrůd identifikovány haplotypy cytoplazmy. Vybrané odrůdy bramboru byly hodnoceny pomocí klasifikátorů z databáze GRIN v několika charakteristických znacích, které byly identifikovány jako potenciálně související s genotypem. Celkem bylo analyzováno 421 odrůd, přičemž molekulární analýzy byly provedeny na souboru 185 až 223 odrůd.

Získaná data byla převedena do binární matice a statisticky vyhodnocena v programu Statistica. Následná analýza byla provedena pomocí softwaru DARwin 06, který umožnil jak statistické, tak grafické zpracování dat. Dále byla provedena analýza hlavních komponent pro zjištění vlivu cytoplazmatické DNA v celém souboru napříč všemi vlastnostmi.

Výsledky ukázaly že některé fenotypové vlastnosti (tvar hlízy, typ hlízy, barva dužiny hlízy, délka vegetačního období odrůdy) jsou závislé na mimojaderné DNA s hladinou významnosti $\alpha = 0,05$, které byly graficky znázorněny v dendorgramech.

Klíčová slova: odrůdy bramboru; mimojaderná DNA; multiplex PCR; haplotypy cytoplazmy; fenotypy hlíz

Genetic analysis of extranuclear DNA in potato varieties in relation to phenotype

Summary

This thesis focuses on a detailed genetic analysis of potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. In the theoretical part, the botanical characteristics of the potato eggplant species, which belongs to the family Solanaceae, are described. In addition, the key areas of cytogenetics and the use of potatoes in agriculture and food are described.

Other chapters focus on the extranuclear DNA found in semiautonomous organelles such as mitochondria and plastids. This section reviews the structure and function of mitochondrial and plastid DNA, including their role in inheritance and their influence on plant phenotypic traits. The last chapter of the theoretical part describes the molecular biology methods used in the experimental part of the thesis. This includes a detailed description of the PCR technique, including the optimization of the PCR reaction, and methods using restriction endonucleases, specifically the enzyme BamHI, for the analysis of DNA fragments. Furthermore, electrophoresis techniques for the separation and visualization of DNA fragments are presented.

The practical part of the work focuses on the optimization of the multiplex PCR reaction, followed by amplification of the samples. Subsequently, the samples were cleaved with the restriction endonuclease BamHI. Based on the results from the molecular analysis, cytoplasmic haplotypes were identified for individual accessions. Selected potato cultivars were evaluated using classifiers from the GRIN database for several traits identified as potentially related to the genotype. A total of 239 varieties were analysed, and molecular analyses were performed on a set of 185 to 224 varieties.

The data obtained were converted into a binary matrix and statistically evaluated using the Statistica software.

The analysis was performed using DARWIN software, which allowed both statistical and graphical processing of the data. Subsequently, principal component analysis was performed to determine the influence of cytoplasmic DNA across all features. The results showed that some phenotypic traits (tuber shape, tuber type, tuber flesh color, and length of the variety's vegetation period) are dependent on extrachromosomal DNA at a significance level of $\alpha = 0.05$, as illustrated in the dendrograms.

Keywords: potato varieties, extranuclear DNA, multiplex PCR, cytoplasmic haplotypes, tuber phenotypes

Obsah

1 Úvod	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Solanaceae	10
3.1.1 Zástupci	10
3.1.2 Vlastnosti	10
3.1.3 Význam	11
3.2 Solanum tuberosum	11
3.2.1 Botanická charakteristika	12
3.2.2 Historie	13
3.2.3 Nutriční charakteristika	14
3.2.4 Cytogenetika	16
3.2.5 Potravinářské využití	17
3.2.5.1 Varné typy a odrůdy	18
3.2.5.2 Pěstování v České republice, odrůdy	18
3.3 Šlechtění	19
3.3.1 Samčí cytoplazmatická sterilita	19
3.3.1.1 Typy samčí sterility a jejich genetické základy	19
3.3.1.2 Vliv cytoplazmatických genomů na agronomické vlastnosti	20
3.4 Cytoplazmatická DNA	20
3.4.1 Semiautonomní organely	21
3.4.1.1 Plastidy	21
3.4.1.2 Mitochondrie	23
3.5 PCR	25
3.6 Restrikční analýzy	26
4 Metodika	26
4.1 Materiál	26
4.2 DNA izolace	27
4.3 PCR amplifikace DNA vzorků	27
4.3.1 Primery	28
4.3.2 Singleplex PCR reakce	28
4.3.3 Multiplex PCR reakce	29
4.4 Štěpení pomocí <i>Bam</i>HI	29
4.5 Elektroforéza a vizualizace	30
4.6 Fenotypizace odrůd	31
4.7 Statistika	32

4.7.1	Statistica.....	32
4.7.2	DARwin 6.....	33
4.7.3	PCA.....	34
5	Výsledky.....	34
5.1	Fenotypizace	34
5.2	Druhy cytoplazmy	35
5.3	Statistika.....	36
5.3.1	PCA.....	36
5.3.2	Kruskal-Wallisův test	36
6	Diskuze.....	42
6.1	Metodika	42
6.2	Výsledky	43
6.2.1	Statistika.....	43
6.2.2	Analýza hlavních komponent	43
6.2.3	Dendrogramy	44
6.3	Závěr.....	44
7	Závěr	46
8	Literatura.....	47
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	58
10	Samostatné přílohy	I

1 Úvod

Brambor (*Solanum tuberosum* L.) patří mezi podstatné zemědělské plodiny současnosti. Je ceněn nejen pro svou výživovou hodnotu a univerzální využití v potravinářství, ale také jako významná surovina pro výrobu škrobu, lihu a krmiv (Sampaio et al. 2020). V České republice má pěstování brambor dlouhou tradici a tato plodina stále zůstává důležitou součástí rostlinné výroby (Žižka 2023).

V minulosti se většina šlechtitelské a genetické pozornosti soustředila především na jadernou DNA, ale dnes je již jisté, že nezanedbatelnou roli hraje i mimojaderná – tedy plastidová a mitochondriální. Tato tzv. cytoplazmatická DNA je děděna zpravidla po mateřské linii a zajišťuje některé základní buněčné funkce, například fotosyntézu nebo buněčné dýchání (Camus et al. 2022). I když představuje pouze malou část celkové genetické informace rostliny, její význam je nesporně důležitý, a to nejen z hlediska fyziologie rostliny, ale také v souvislosti s některými dědičnými znaky, které se mohou projevit na úrovni fenotypu (Martínez Zapater et al. 1992).

U bramboru bylo popsáno několik odlišných typů cytoplazmy, které se liší podle svého původu. Některé pocházejí z kulturních forem, jiné z divokých druhů rodu *Solanum* (Hosaka & Sanetomo 2009).

V rámci šlechtění brambor se historicky využívalo cíleného křížení odlišných odrůd, často s různými typy cytoplazmatických genomů. Jedinci se stejným typem cytoplazmy mohou sdílet určité agronomické znaky, jako je například vyšší obsah škrobu, pozdní zralost nebo zvýšená odolnost vůči chorobám (Sanetomo & Gebhardt 2015). Jedním z hlavních cílů šlechtění bývá zvýšení odolnosti vůči biotickému stresu a zároveň tvorba linií se samčí sterilitou, což je důležité při hybridním šlechtění (Sanetomo & Hosaka 2011).

Cílem této práce je zjistit, jaké typy cytoplazmy se vyskytují u vybraného souboru odrůd bramboru, a zda lze jejich přítomnost spojit s konkrétními znaky hlíz. K tomu byly využity metody molekulární biologie, především PCR a restrikční analýza, následně byly výsledky porovnány s fenotypovými daty dostupnými z mezinárodní databáze GRIN. Statistické zpracování proběhlo v programu DARwin 6, který umožňuje nejen vizualizaci genetických vztahů, ale i hledání možných asociací mezi genotypem a znakem a v programu Statistica, kdy byla data zpracována neparametrickým Kruskal-Wallis testem a post-hoc testem Dunnové. V této práci byla jednou z použitých metod analýza hlavních komponent (PCA), která slouží k vyhodnocení vztahů mezi vzorky na základě více současně sledovaných znaků.

Tato práce tak navazuje na dosavadní poznatky o vlivu cytoplazmatické DNA u bramboru a snaží se přispět nejen z pohledu základního výzkumu, ale i s možným přesahem do praktického šlechtění.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Vědecká hypotéza:

V českém a evropském sortimentu odrůd bramboru lze detekovat různé haplotypy cytoplazmy (T, D, W). Přítomnost těchto haplotypů je možné asociovat s vybranými fenotypovými charakteristikami hlíz bramboru.

Cíle práce:

Cílem práce je genetická analýza mimojaderné DNA (plastidové a mitochondriální) u vybraného sortimentu odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.) s různým potravinářským využitím pomocí standardních PCR markerů. Dílčím cílem práce je analýza získaných molekulárních dat a následná asociace mezi haplotypem cytoplazmy a vybranými fenotypovými charakteristikami hlíz bramboru.

3 Literární rešerše

3.1 Solanaceae

Čeleď *Solanaceae* (lilkovité) je jednou z nejvýznamnějších skupin krytosemenných rostlin, zahrnující více než 96 rodů a 23 000 druhů (Davenport 2004). Tyto rostliny se vyskytují po celém světě v různorodých ekosystémech, od pouští po deštné pralesy. Jedná se o jednoleté byliny až vytrvalé stromy. Díky své rozmanitosti, širokému využití a vědeckému významu je tato čeleď klíčovým objektem zájmu v zemědělství a v biologickém výzkumu (Martínez et al. 2017).

Rostliny lilkovitých se vyznačují specifickými biologickými vlastnostmi, jako jsou nápadné květy s pěti srostlými kališními a korunními lístky, bobulovité nebo tobolkovité plody a často přítomnost toxických alkaloidů. Mezi nejvýznamnější druhy patří například brambory, které díky svým jedlým hlízám slouží jako zásobárny živin (Knapp et al. 2004; Cárdenas et al. 2015).

3.1.1 Zástupci

Čeleď lilkovité jsou charakteristické svou důležitou ekologickou a hospodářskou hodnotou. Zahrnují jednoleté, dvoulété i vytrvalé druhy s různými růstovými formami, jako jsou byliny, keře nebo stromy, které mohou být vzpřímené či popínavé (Knapp et al. 2004; Morris & Taylor 2017). Mezi nejznámější zástupce patří:

- *Solanum lycopersicum* (rajče)
- *Solanum tuberosum* (brambor)
- *Solanum melongena* (lilek)
- *Nicotiana tabacum* (tabák)
- *Capsicum annuum* (paprika)
- *Petunia spp.* (petúnie)

Čeleď *Solanaceae* zahrnuje druhy, které jsou důležitými potravinovými plodinami, okrasnými rostlinami a zdroji léčivých látek, jako je například tabák (*Nicotiana tabacum*), rulík (*Atropa belladonna*), blín (*Hyoscyamus*) nebo durman (*Datura*). Díky této rozmanitosti se lilkovité řadí mezi nejceněnější a nejrozmanitější čeledi mezi zemědělskými a zahradními plodinami (Lian et al. 2022).

3.1.2 Vlastnosti

Zástupci lilkovitých jsou charakterizováni květy s pěti srostlými kališními a korunními lístky, pěti tyčinkami a svrchním semeníkem, který je tvořen dvěma srostlými plodolisty. Semeník je umístěn šikmo na bazálním disku pletiva. Čnělka je jednoduchá a nese dvoulaločnou bliznu. Květy jsou často nápadné a obvykle opylovány hmyzem.

Listy lilkovitých jsou jednoduché nebo složené, obvykle střídavé, často s výraznou žilnatinou.

Plody této čeledi zahrnují bobule nebo tobolky, přičemž některé druhy produkují jedlé plody, zatímco jiné obsahují toxické alkaloidy.

Kořeny jsou často bohaté na zásobní látky a mohou tvořit hlízy, což je typické například pro brambory (*Solanum tuberosum* L.) (Knapp et al. 2004; Lian et al. 2022).

Solanaceae lze nalézt po celém světě, avšak největší diverzita je v Latinské Americe, kde můžeme nalézt až 40 endemických druhů. V oblasti mírného pásma se nachází přibližně 50 druhů. Rod *Solanum*, jeden z největších rodů této čeledi, zahrnuje téměř polovinu všech druhů lilkovitých, včetně všech divokých druhů brambor, které se vyskytují v západní polokouli (Martínez et al. 2017).

3.1.3 Význam

Čeď *Solanaceae* poskytuje velké množství různorodých využití. Produkty jsou využívány jako léčiva, potraviny ale i pro zábavu. Tato čeď zahrnuje jedlé druhy, jako jsou brambory, rajčata a lilek. Mezi léčivé rostliny patří rulík zlomocný, durman, tabák a blín, které jsou zdrojem léčivých látek, jako jsou atropin, hyoscin, nikotin a jiné alkaloidy. *Solanaceae* zahrnuje také druhy významné v zahradnictví, například petúnie, a brugmansie. Druhy jako rajče, brambor, tabák a petúnie jsou důležitými modely pro výzkum rostlinné biologie. Slouží k efektivnímu studiu vývoje rostlin, zrání plodů a obranných reakcí (Morris & Taylor 2017).

3.2 *Solanum tuberosum*

Brambory (*Solanum tuberosum*, L), jejichž botanický název je lilek brambor nebo brambor obecný, jsou jednoleté byliny z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*) (Slavík 2000). Patří mezi nejvýznamnější potravinové plodiny na světě. Co do spotřeby jsou celosvětově na třetím místě, hned za rýží a pšenicí (Siqueira et al. 2023). Původem z jihoamerických And byly brambory domestikovány přibližně před 8 000–10 000 lety v jižním Peru, kde byly vybrány z divokých druhů (Hardigan et al., 2017; Spooner et al., 2005). Proces domestikace zahrnoval výběr hlíz s nižším obsahem glykoalkaloidů, menší hořkostí a lepšími nutričními vlastnostmi (Bradshaw et al., 2006).

Charles Darwin v roce 1839 pozoroval divoké brambory na ostrově Guayateca v chilském souostroví, které popsal jako malé, oválné hlízy připomínající pěstované odrůdy. O sto let později narazil peruánský botanik Carlos Ochoa na tyto brambory znovu a zjistil, že kdysi byly pěstované, ale postupně zplaněly. Jeho objev potvrzuje mimořádnou schopnost brambor přizpůsobit se změnám v prostředí a genetickým vlivům (Darwin 1959; Spooner et al. 2005).



Obrázek 1 Vzrostlá rostlina *Solanum tuberosum* (Kui et al. 2022).

Hierarchie klasifikace (Slavík 2000):

- **Říše:** Plantae (rostliny)
- **Oddělení:** *Magnoliophyta* (krytosemenné)
- **Třída:** *Magnoliopsida* (dvouděložné)
- **Čeleď:** *Solanaceae* (lilkovité)
- **Rod:** *Solanum* (lilek)
- **Druh:** *Solanum tuberosum* (lilek brambor, brambor obecný)

3.2.1 Botanická charakteristika

Solanum tuberosum L., známý jako lilek brambor, patří do čeledi *Solanaceae* (lilkovité). Brambor vytváří bylinný, dutý a často hranatý stonek s výškou 30–150 cm, v závislosti

na odrůdě a podmínkách pěstování (Struik & Wiersema 2012). Stonek je obvykle přímý a může být zbarven do fialova díky přítomnosti antokyanů. Pod zemí vytváří stolony, z nichž se tvoří zásobní hlízy (Ezekiel et al., 2013).

Listy jsou střídavé, lichozpeřené, složené ze 7–9 lístků různých velikostí. Povrch listu je lehce chlupatý, barva tmavě zelená až šedozelená (McCauley & Evert 1988).

Květenství je vrcholičnaté, tvořené 3–15 květy. Květy jsou pětičetné, s nálevkovitou korunou a barvou od bílé po fialovou. Brambory jsou částečně samosprašné, ale mnohé odrůdy jsou sterilní. U fertálních variant vznikají plody, jedovaté zelené bobule (Spoonner & Knapp 2013).

Lilek brambor má mělký, vláknitý kořenový systém. Zásobní hlízy vznikají z podzemních stolonů a využívají se v reprodukci i v potravinářském využití. Hlízy mají rozmanité tvary, velikosti a barvy slupky a dužniny (Woolfe 1987; Machida-Hirano 2015).

3.2.2 Historie

Historie brambor sahá až do doby tisíce let před naším letopočtem, konkrétně mezi roky 10 000 až 4 500 př. n. l. Genetické a archeologické důkazy naznačují, že původ brambor (*Solanum tuberosum* L.) je v jihoamerických Andách, zejména v oblasti dnešního Peru a Bolívie (Grun 1990; Ames & Spoonner 2008).

Brambory mají v tamním jídelníčku nezastupitelné místo. Po staletí byly nejrůzněji zpracovávány a také hrály důležitou roli v andské kultuře. Archeologové objevili keramické výrobky a obřadní artefakty tvarované do podoby brambor, což svědčí o jejich hlubokém kulturním významu (Jackson, 2021; Pearsall, 2008). Mezi tyto nálezy patří například močická keramika, artefakty Inků a kultura Mapučů (Barreau et al. 2019; Jackson 2021).

Krajové odrůdy brambor pocházejí ze dvou hlavních oblastí Jižní Ameriky. Andská oblast, kde byl historicky pěstován poddruh *Solanum tuberosum* ssp. *andigenum* v horských oblastech od jižního Peru po severní Argentinu. Původně byly tyto brambory pěstovány civilizací Qualuyo severně od jezera Titicaca na speciálních zavlažovacích polích nazývaných waru-warú (Centre et al. 1998). Druhou oblastí je jižní Chile. Pro tuto oblast je charakteristický poddruh *Solanum tuberosum* ssp. *Chilotanum*, který se pěstoval od jižního Chile po sever Argentiny (Ríos et al. 2007; Bradshaw 2021).

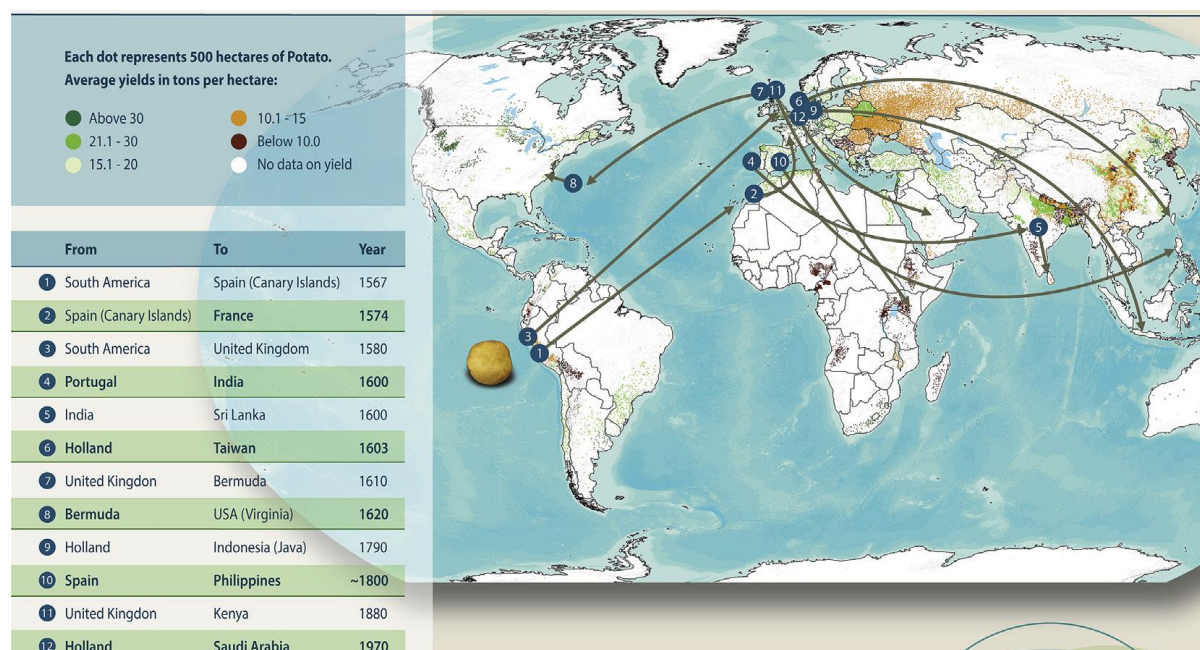
Jižní Amerika je dodnes jediným regionem na světě, kde se komerčně pěstují obě hlavní skupiny (poddruhy) brambor. *Andigenum* se vyskytuje v Andách (Venezuela, Kolumbie, Ekvádor, Peru, Bolívie) a *Chilotanum* se pěstuje v jihoamerických zemích sdružených v organizaci SAC (Brazílie, Paraguay, Uruguay, Argentina, Chile). Tyto oblasti se liší nejen pěstovanými odrůdami, ale také klimatickými podmínkami, způsoby hospodaření a úrovní technologií, což společně ovlivňuje výnosy (Caldiz 2023).

Brambory se dostaly do Evropy dvěma hlavními cestami:

1. Španělská cesta – Španělští dobyvatelé přivezli brambory do Evropy kolem roku 1570 po dobytí Inků. Předpokládá se, že první evropské pěstování brambor se uskutečnilo na Kanárských ostrovech v letech 1567–1574, jak dokazují lodní deníky přepravující zásoby (Hawkes & Francisco-Ortega 1993)

2. Britská cesta – Brambory se dostaly do Velké Británie mezi lety 1588 a 1593, pravděpodobně díky siru Walteru Raleighovi, který je přivezl z jeho irských panství.

První zmínky o pěstování brambor ve Francii pocházejí z konce 16. století, zejména z oblastí Franche-Comté, Vogézy v Lotrinsku a Alsaska. Význam brambor dramaticky vzrostl koncem 18. století (Ames & Spooner 2008).



Obrázek 2 Šíření brambor z centra jejich původu do celého světa (Haan & Rodriguez 2016).

V 19. století se brambory staly základní potravinou v celé Evropě, zejména mezi chudšími vrstvami obyvatelstva. Nahradily tradiční plodiny jako tuřín nebo proso a jejich pěstování se stalo jedním ze základních pilířů evropského zemědělství (Nunn & Qian 2011).

Zvláštní roli sehrály brambory v Irsku, kde se staly téměř jediným zdrojem potravy pro velkou část obyvatel. Závislost na bramborách vedla k Velkému irskému hladomoru (1845-1852), způsobenému houbovou chorobou *Phytophthora infestans*. Nedostatek účinných agrotechnických metod vedl ke katastrofálnímu poklesu produkce, což mělo za následek smrt přibližně jednoho milionu lidí a masovou emigraci (Yoshida et al. 2013; Goss et al. 2014).

3.2.3 Nutriční charakteristika

Brambory slouží jako významný zdroj potravy pro lidi, krmivo pro zvířata a také jako surovina pro potravinářský průmysl, například pro výrobu hranolků, chipsů a sušených brambor, nebo pro škrobářenský průmysl (Zaheer & Akhtar 2016). Mezi hlavní výhody této plodiny patří vysoké výnosy během krátké vegetační doby, vysoký obsah jedlé sušiny a její výživová hodnota jako základní potraviny. Syrová brambora (100 g) obsahuje přibližně 80 kcal (U.S. Department of Agriculture 2025). Vařením se část vitamínu C ztrácí, ale pečené brambory mají díky vyššímu obsahu sušiny o 25 % více živin než syrové nebo vařené (Tolessa & Shunka Tolessa 2018).

Brambory jsou nutričně bohatou potravinou s vysokým obsahem škrobu kolem 15-17 % (16,1 g/100 g čerstvé hmoty) (Tolessa & Shunka Tolessa 2018; Singh et al. 2023), bílkovin (2 až 2,5 g/100 g čerstvé hmoty), vitamínu C (17-20 mg/100 g čerstvé hmoty) (Navarre et al. 2016), draslíku (400-500 mg/100 g čerstvé hmoty) (Zaheer & Akhtar 2016)

a esenciálních aminokyselin (Choi et al. 2016). Kromě nutričních hodnot obsahují brambory také bioaktivní látky, jako jsou fenolové kyseliny a flavonoidy, například antokyany (Ru et al. 2019). Chlorogenová kyselina tvoří výrazný podíl fenolových kyselin v bramborách, přičemž podíl 35–80 % je v závislosti na odrůdě a podmínkách pěstování. Tyto polyfenoly mají schopnost chránit DNA před oxidačním poškozením, snižovat absorpci glukózy ve střevě, potlačovat tvorbu tukových buněk, snižovat krevní tlak a inhibovat proliferaci rakovinných buněk (Ghasemzadeh & Ghasemzadeh 2011; Choi et al. 2016). Některé hodnoty (např. obsah vitamínu C nebo draslíku) se mohou mírně lišit v závislosti na odrůdě, půdě a podmínkách skladování (Jayanty et al. 2019).

Rezistentní škrob vznikající při ochlazení vařených brambor má prebiotické vlastnosti a podporuje zdraví střevní mikroflóry (Slavin 2013). Rezistentní škrob (RS) z brambor působí jako prebiotikum, podporuje růst prospěšných bakterií (např. *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*). Zvyšuje produkci krátkořetězcových mastných kyselin (SCFA), zejména butyrátu, který je klíčový pro zdraví střevní sliznice, zároveň pomáhá regulovat hladinu glukózy v krvi a snižovat zánět (Sawicka & Das Gupta 2018; Klingbeil et al. 2019).

Brambory obsahují asi 2 g vlákniny na 100 g, a to hlavně ve slupce. Doporučuje se konzumovat brambory i se slupkou, pokud je to možné. Ochladlé vařené brambory mají vyšší obsah RS než čerstvě uvařené (Zhao et al. 2018).

Brambory jsou jednou z nejvýznamnějších potravinářských plodin na světě, kde zaujímají čtvrté místo hned za pšenicí, rýží a kukuřicí. V roce 2023 byla jejich celosvětová plocha pěstování přibližně 21,37 milionů hektarů a produkce dosáhla 476,57 milionů tun. Mezi největší producenty patřily Čína (93,5 milionů tun), Indie (60,1 milionů tun), Ukrajina (21,4 milionů tun), Spojené státy americké (19,9 milionů tun), Rusko (19 milionů tun) a Německo (11,6 milionů tun) (FAO 2025). Brambory lze pěstovat v různých klimatických podmínkách. Průměrný globální výnos činí 3320,5 tun na hektar, ale mezi jednotlivými zeměmi existují velké rozdíly (FAO 2025).

Jedlou částí rostliny je hlíza, což je přeměněný podzemní stonek. Hlízy většiny pěstovaných odrůd jsou velké, chutné a rostou blízko. Hlízy planých druhů mohou být velmi malé, hořké a jedovaté kvůli vyššímu obsahu glykoalkaloidů. Tyto chemické látky slouží v přírodě jako ochrana proti škůdcům, ale představují výzvu pro šlechtitele, kteří musí zajistit, aby byl jejich obsah v nových odrůdách výrazně snížen (Singh et al. 2020).

Glykoalkaloidy jsou látky přirozené v bramborech, ale mohou být nebezpečné. Německý spolkový úřad pro hodnocení rizik ([BfR](#)) připomíná, že nadměrná konzumace glykoalkaloidů (zejména α -solaninu a α -chaconinu) může být toxická. Konzumace brambor s vysokým obsahem glykoalkaloidů může způsobit nevolnost, bolesti břicha, zvracení a průjem, v těžkých případech až poruchy vědomí a dýchání (Singh et al. 2020). Za obecně platnou a bezpečnou hranici je považována koncentrace glykoalkaloidů 200 mg/kg čerstvé hmotnosti brambor (Uluwaduge 2018). Pro minimalizaci zdravotního rizika, je spotřebitelům doporučeno dodržovat správné skladovací a kuchyňské postupy, jako je: odstranění zelených částí a klíčků, vyřazení starých, scvrklých a silně naklíčených brambor, nedoporučuje se konzumace bramborové slupky u dětí, nepoužívat vodu z vaření brambor, pravidelná výměna oleje při smažení bramborových produktů a nekonzumovat brambory s hořkou chutí (Jensen et al. 2009; Bundesinstitut für Risikobewertung 2018). Barevné odrůdy brambor (např. fialové nebo červené) mohou obsahovat více glykoalkaloidů než běžné žluté odrůdy

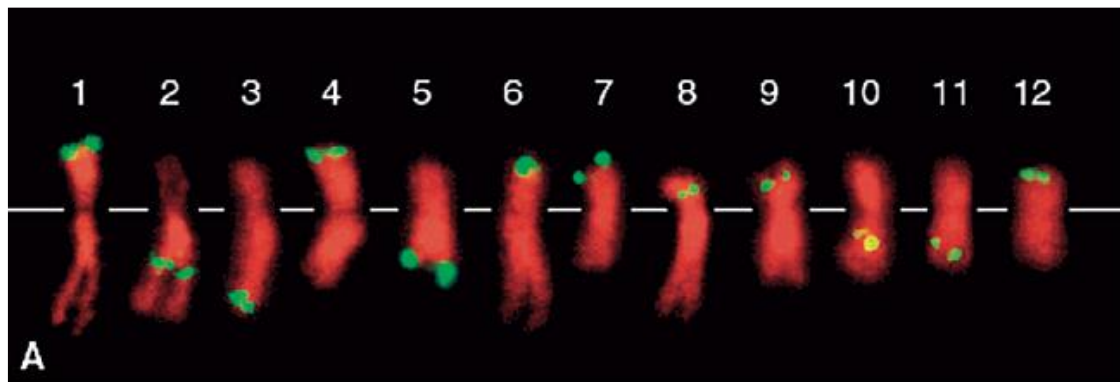
a plané druhy brambor. Některé nově vyšlechtěné odrůdy mají vyšší obsah glykoalkaloidů, což je důležitý faktor pro šlechtitele, zvláště na odolnost vůči škůdcům a chorobám (Diane Turner 2012; D'amelia et al. 2022).

Hlízy brambor se skládají z několika vrstev tkáně, přičemž vnější část, periderm nebo slupka, slouží jako ochranná bariéra proti škůdcům, dehydrataci a vnějším vlivům. Pod slupkou se nachází buňky bohaté na pektinové polysacharidy, ale bez obsahu škrobu, zatímco vnitřní vrstvy tvoří buňky s různou koncentrací škrobu (Singh et al. 2021). Obsah škrobu je klíčovým parametrem při výrobě smažených produktů, jako jsou hranolky nebo chipsy, a jeho složení závisí na faktorech, jako je složení půdy, načasování sklizně a podmínky skladování (Bush & Mccann 1999; Ross et al. 2011).

3.2.4 Cytogenetika

Brambor (*Solanum tuberosum* L.) je autotetraploidní druh s celkovou velikostí genomu přibližně 716,2 Mb. Jeho karyotyp zahrnuje 12 chromozomů, což odpovídá základní chromozomové sadě $n = 12$ (Gavrilenko 2007), ale velká většina odrůd bramboru je $2n = 4x = 48$ (van Lieshout et al. 2020; Kui et al. 2022). Genom obsahuje 39,021 kódujících genů (Yates et al. 2022).

Sekvenování genomu bramboru bylo provedeno kombinací Oxford Nanopore MiniION a Illumina NovaSeq, což umožnilo dosažení vysokého pokrytí a přesnosti při sestavení genomové sekvence. Genom bramboru se vyznačuje relativně nízkým obsahem CG párů (~35 %). Tento faktor je důležitý při optimalizaci podmínek PCR a dalších molekulárně – genetických analýz (van Lieshout et al. 2020).



Obrázek 3 Karyotyp *Solanum tuberosum*, $n=12$, vizualizace všech chromozomů bramboru metodou FISH za použití BAC sond (Dong et al. 2000).

Tabulka 1 Sekvence *Solanum tuberosum* (van Lieshout et al. 2020).

CHROMOZOM	VELIKOST BP	CG %
1	59 557 243	34,5
2	42 706 079	34,5
3	63 701 590	34,5
4	72 008 707	35
5	58 542 029	35
6	65 489 876	35
7	41 124 029	34,5
8	67 850 527	34
9	70 978 473	35
10	49 170 357	35
11	57 022 023	35
12	68 020 514	35

3.2.5 Potravinářské využití

Celosvětově existuje více než 4 500 odrůd brambor, i když jen malá část je intenzivně pěstována pro lidskou spotřebu (International Potato Center. 2025). Odrůdy se liší tvarem hlíz, velikostí a barvou slupky i dužiny, což je dáno jejich genetickým složením (Singh & Kaur 2009). Specifické kultivary, jako jsou Popular, Velur a Opal, byly vyšlechtěny tak, aby splňovaly požadavky průmyslu pro výrobu hranolků, s důrazem na správné vyvážení škrobu a sacharidů, na druhé straně například odrůdy Arabela, Fabia a Respect byly vyšlechtěny speciálně pro škrobářenský průmysl (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský 2022).

V podmínkách České republiky začíná sklizeň brambor v červnu a červenci, kdy jsou sklízены především velmi rané a rané odrůdy určené k přímé spotřebě. Tyto odrůdy se vyznačují kratší vegetační dobou a nižšími nároky na délku vegetační sezóny. Hlavní sklizňové období připadá na měsíce září a říjen, kdy jsou sklízены středně pozdní a pozdní odrůdy brambor. Tyto odrůdy jsou určeny zejména pro skladování a následnou celoroční spotřebu, případně pro průmyslové zpracování nebo výrobu škrobu. Vývoj sklizňových termínů a výnosů je každoročně ovlivňován klimatickými podmínkami, zejména jarními a letními teplotami a srážkovým režimem, které mají přímý vliv na průběh vegetace a zralost porostů (Žižka 2022).

Skladují se pro celoroční využití. Správné skladovací podmínky jsou důležité pro zachování kvality. Optimální teplota skladování je mezi 8–12 °C. Při nižších teplotách dochází k tzv. "studenému slazení", kdy se škrob přeměňuje na cukry jako ochranný mechanismus proti mrazu. To vede k nežádoucím sladkým hlízám. Tyto cukry mohou při smažení vytvářet karcinogenní látku akrylamid (Olsson et al. 2004).

Brambory jsou jednou ze stěžejních zemědělských komodit, nejen v České republice a v Evropě, ale po celém světě. Díky jejich všestrannému využití v potravinářském průmyslu patří mezi základní složky lidské výživy. Brambory se využívají v široké škále potravinářských produktů, včetně bramborových lupínků, hranolků, instantních kaší a bramborového škrobu.

Produkce bramborového škrobu zůstává významnou součástí českého zemědělství, přičemž v roce 2023 bylo pro tento účel zpracováno více než 150 tisíc tun brambor (Žižka 2023).

3.2.5.1 Varné typy a odrůdy

Výběr odrůdy je zásadní v potravinářském průmyslu. Mezi hlavní odrůdy pěstované v České republice v různých letech patří:

- **2002:** Asterix (*varný typ B-C, polopozdní*), Agria (*varný typ B, polopozdní*), Marabel (*varný typ B, raná*)
- **2010:** Laura (*varný typ B-C, poloraná*), Red Scarlett (*varný typ B, raná*), Eurostar (*varný typ A-B, poloraná*)
- **2015:** Princess (*varný typ A, raná*), Gala (*varný typ B, raná*), Belana (*varný typ A, raná*)
- **2022:** Annabelle (*varný typ A, velmi raná*), Fabiola (*varný typ B, poloraná*), Rosalind (*varný typ B, poloraná*)
- **2023:** Red Fantasy (*varný typ B, poloraná*), Viktorie (*varný typ B, poloraná*), Lilly (*varný typ A, raná*)

Tyto odrůdy jsou vybírány s ohledem na jejich varné typy, které určují jejich vhodnost pro různé zpracování. Například odrůdy varného typu A jsou pevné, lojovité a nerozvaňují se, což je činí ideálními pro přípravu salátů. Varný typ B představuje univerzální odrůdy vhodné pro přílohy a vaření, zatímco typ C je vhodný pro přípravu kaší a těst (Žižka 2023).

Morfologické znaky, jako je tvar hlíz, barva slupky a dužniny, jsou zásadní při výběru odrůd pro konkrétní potravinářské využití. Například odrůdy s červenou slupkou jsou často preferovány pro estetické účely v gastronomii, zatímco žlutomasé odrůdy jsou oblíbené pro jejich chuťové vlastnosti (Žižka 2002, 2022).

Stolní kvalita brambor zahrnuje jakostní parametry, jako velikost hlíz, absence vad a chorob, chuť a konzistence po uvaření. Tyto vlastnosti jsou důležité nejen z hlediska přímé konzumace, ale také pro jejich další zpracování v potravinářském průmyslu (Žižka 2022, 2023).

Evropský trh klade stále větší důraz na udržitelné pěstování a vysokou kvalitu stolních brambor, což se odráží i ve výběru odrůd. Důležitým kritériem je také skladovatelnost a odolnost vůči mechanickému poškození. Transport a skladování mají zásadní význam při zachování jakosti brambor až ke konečnému spotřebiteli (Žižka 2002, 2010, 2022, 2023).

3.2.5.2 Pěstování v České republice, odrůdy

V období mezi lety 2002 a 2023 došlo v České republice k výraznému poklesu osázených ploch brambor. Zatímco v roce 2002 činila celková plocha brambor 46 914 ha, v roce 2023 se snížila na 26 889 ha. Navzdory tomuto poklesu se průměrný hektarový výnos zvýšil z 24,98 t/ha na 28,90 t/ha, což svědčí o zlepšení agrotechnických postupů a využívání odolnějších odrůd (Žižka 2002, 2021).

Brambory jsou v ČR využívány různými způsoby. Největší podíl zaujímá přímý konzum, kdy bylo v roce 2023 určeno pro potravinářské využití přibližně 620 tisíc tun brambor. Další významnou část produkce tvoří brambory pro výrobu škrobu, které dosáhly objemu 151,1 tisíc tun. Pro sadbu bylo využito 67 tisíc tun brambor, zatímco odpad a skladové ztráty představovaly 138,9 tisíc tun.

Spotřeba brambor na osobu v České republice se dlouhodobě pohybuje mezi 65–70 kg na obyvatele za rok. V roce 2022 dosáhla hodnoty 69,2 kg/osobu/rok, což naznačuje stabilní zájem o tuto komoditu na domácím trhu.

Ačkoli celková pěstební plocha brambor v ČR klesá, díky modernizaci a vyšší efektivitě produkce se daří udržet dostatečnou úroveň sklizně pro pokrytí domácí poptávky i průmyslového využití. Důležitou roli hrají nejen šlechtění nových odrůd, ale také zlepšené skladovací technologie a investice do mechanizace a zavlažování (Žižka 2002, 2010, 2021, 2022; Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský 2022).

3.3 Šlechtění

Brambory (*Solanum tuberosum* L.) patří do sekce Petota, která je součástí rodu *Solanum*. Sekce Petota zahrnuje přibližně 200 druhů divokých i domestikovaných brambor (Spooner et al. 2001). Peru a Bolívie jsou považovány za centrum domestikace a genetické diverzity brambor (Ovchinnikova et al. 2011). Tito divocí příbuzní představují neocenitelný genetický zdroj, zejména pro šlechtitelské programy zaměřené na zlepšení odolnosti proti mrazu a chorobám. Například *Solanum acaule*, *S. albicans* a *S. commersonii* vykazují výjimečnou odolnost proti mrazu, zatímco jiné divoké druhy byly zkoumány pro odolnost proti virové chorobě brambor (PVY) (Hijmans & Spooner 2001).

Ochrana divokých druhů brambor je zásadní, protože mnohé z nich jsou ohrožené nebo vzácné. Největší diverzita se nachází v Peru (93 druhů) a Bolívii (39 druhů). Tyto genetické zdroje jsou důležité při adaptaci brambor na faktory, jako jsou klimatické změny a nové choroby (Garzón 2007).

3.3.1 Samčí cytoplazmatická sterilita

Samčí sterilita je přirozený jev, při kterém rostliny nejsou schopny produkovat životaschopný pyl. Existují tři hlavní typy samčí sterility – genetická, cytoplazmatická a cytoplazmaticko-jaderná. Každý typ má své využití v agronomii a genetickém výzkumu a hraje roli ve šlechtění plodin, zejména při produkci hybridního osiva.

3.3.1.1 Typy samčí sterility a jejich genetické základy

Existují tři hlavní typy samčí sterility. Genetická (jaderná) sterilita je způsobená mutacemi v jaderné DNA, obvykle se dědí recesivně a ovlivňuje tvorbu pylových zrn nebo vývoj tyčinek (Sanetomo & Gebhardt 2015). Cytoplazmatická samčí sterilita (CMS) vyplývá z mutací v mitochondriální nebo chloroplastové DNA a je děděna pouze po mateřské linii. Tento typ sterility je široce využíván v hybridním šlechtění mnoha plodin, včetně čiroku, kukuřice nebo slunečnice (Sood et al. 2021). Třetí typ je kombinací předchozích. cytoplazmaticko-jaderná sterilita, která vzniká interakcí mezi cytoplazmatickými a jadernými faktory, což může být využito ve šlechtitelských programech, například umožňuje lepší regulaci sterility a fertility ve šlechtitelských programech. Zatímco cytoplazmatický faktor určuje sterilitu, jaderné geny (geny obnovy fertility, Rf) mohou obnovit plodnost hybridního potomstva. (Goryunova et al. 2023).

U brambor (*Solanum tuberosum*) ovlivňují výskyt samčí sterility různé typy cytoplazmy (T-, W-, D-, A–a P-genom), přičemž typ T je u moderních evropských odrůd brambor nejdominantnější. Studie ukázaly, že cytoplazmy odvozené od *Solanum demissum* (D-typ) a *S. stoloniferum* (W-typ) často způsobují úplnou samčí sterilitu (Sanetomo & Gebhardt 2015). Zajímavé je, že zatímco některé odrůdy s D-typem cytoplazmy jsou odolné proti plísni bramborové, jiné tuto rezistenci nemají, což naznačuje složitou interakci mezi cytoplazmatickými a jadernými geny (Sood et al. 2021).

3.3.1.2 Vliv cytoplazmatických genomů na agronomické vlastnosti

Výhoda využití samčí sterility spočívá v její schopnosti eliminovat samoopylení, což vede k tvorbě hybridních rostlin s vyšší vitalitou a lepšími agronomickými vlastnostmi. Hybridní rostliny často vykazují heterózní efekt, tedy lepší růst, vyšší výnosy nebo odolnost vůči stresu (Li et al. 2022).

Současný výzkum se zaměřuje na identifikaci specifických genetických markerů a vývoj nových sterilních linií, které by umožnily šlechtitelům efektivně řídit proces hybridizace (Zhao et al. 2023). Moderní technologie, například CRISPR/Cas9, umožňuje přesnou editaci konkrétních genů pro vytváření sterilních rostlin podle potřeby a umožňuje nové možnosti pro zlepšování plodin (Bhattacharya et al. 2024). Výzkumy ukazují, že cílené zásahy do mitochondriálních genů mohou vést k umělé tvorbě CMS linií, což by mohlo zefektivnit produkci hybridního osiva (Flood et al. 2020), a i když má samčí sterilita ve šlechtění rostlin velký význam, její využití není vždy bez problémů. Některé sterilní linie mohou být citlivé na změny prostředí, což omezuje jejich spolehlivost. Vědci hledají způsoby, jak tuto vlastnost stabilizovat a zajistit, aby byla v praxi co nejlépe využitelná a uveditelná na trh (David et al. 2022).

Pokroky v genetickém inženýrství, včetně využití technologie CRISPR/Cas9, otevírají nové možnosti pro cílenou modifikaci cytoplazmatických genomů a vývoj sterilních linií, které budou stabilnější v různých podmínkách (Bhattacharya et al. 2024).

Studie ukázaly, že různé cytoplazmatické typy mohou ovlivňovat nejen fertilitu, ale i agronomické vlastnosti rostlin. Například W/γ-typ cytoplazmy byl spojen s vyšším obsahem škrobu v hlízách a pozdní zralostí rostlin (Sanetomo & Gebhardt 2015). T-typ cytoplazmy, typický pro moderní evropské brambory, je spojen s vyšší produkcí hlíz a lepší adaptací na evropské klimatické podmínky (Goryunova et al. 2023).

Novější výzkumy v oblasti sekvenování plastidových genomů navíc odhalily, že různé typy cytoplazmatických genomů mohou mít evolučně odlišný původ a mohou mít vliv na důležité vlastnosti, jako je odolnost vůči stresu a výnosnost (Wicke et al. 2011).

3.4 Cytoplazmatická DNA

Již ve 20. století vznikla teorie, že organely obsahující vlastní genetickou informaci, která se nenachází v jádře, vznikly určitou formou symbiózy a následným splynutím dvou odlišných organismů. Tento jev byl následně pojmenován jako symbiogeneze (Martin 2017).

Margulis a Dolan (2000) definují symbiogenezi jako „vznik nového orgánu, metabolické dráhy, chování, tkáně nebo jiné charakteristiky v důsledku dlouhodobé dědičné

symbiózy, včetně procesu, při kterém se organely eukaryotické buňky vyvinuly ze starobylých bakteriálních symbiontů.“. Endosymbióza je způsob života, při kterém jeden prokaryotický organismus žije uvnitř jiného, například v případě vzniku plastidů se jedná o fotosyntetizující sinice žijící uvnitř aerobních protistů (Mergaert 2018).

Symbiogeneze je dnes považována za proces, který vedl ke vzniku mitochondrií a chloroplastů. Mitochondrie jsou přítomné v buňkách aerobních protist, rostlin i živočichů, zatímco chloroplasty se vyskytují jen v buňkách řas a rostlin. Tyto organely byly původně volně žijící bakterie, které před zhruba 2 miliardami let vstoupily do prvních eukaryotických organismů pomocí fagocytózy. Tato symbióza se stala trvalou a dědičnou, což způsobilo přeměnu těchto samostatných bakterií na organely. Předkové, ze kterých mitochondrie a chloroplasty vznikly, dodnes existují jako samostatné organismy (Gray & Ford 1982; Gray 2011; Martin 2017).

Chloroplasty se vyvinuly z cyanobakterií a mitochondrie z proteobakterií. Techniky molekulárního sekvenování genů navíc ukázaly případy laterálního přenosu genů mezi organelami a jádrem v obou směrech. Po symbiogenetickém získání došlo k výrazné ztrátě genů v DNA mitochondrií a chloroplastů (Kim & Archibald 2009; Greiner et al. 2011). Mitochondrie i chloroplasty mají vlastní DNA podobnou bakteriální DNA, což podporuje jejich endosymbiotický původ (Witzany 2006).

3.4.1 Semiautonómni organely

3.4.1.1 Plastidy

Plastidy jsou organely, které se nacházejí ve všech rostlinách, u některých řas a prvoků. Jsou nezbytné ve fotosyntéze, v syntéze lipidů a aminokyselin a skladování škrobu a olejů (Wise & Hooper 2007).

Plastidy obsahují dvouřetězcovou kruhovou molekulu DNA, podobnou kruhovému chromozomu prokaryotických buněk, a pigmenty určující barvu buňky, které se uplatňují při fotosyntéze (Kaundal et al. 2013). Plastidy se dělí na chloroplasty, chromoplasty, gerontoplasty a leucoplasty, pod které spadají amyloplasty, elaioplasty, proteinoplasty a tannosomy. Speciální skupinou plastidů jsou muroplasty, které se nacházejí v glaukofytech (skupina sladkovodních mikroskopických řas) a rhodoplasty, které mají specifické zbarvení, sytě červené, a vyskytují se u ruduch (Wise & Hooper 2007). Nejvíce prozkoumaným typem plastidů je chloroplast, zastávající funkci prapředka plastidů, a to fotosyntézu. Během evoluce se činnost plastidů stále více spojovala s buněčným metabolismem, funkcemi a vývojovými procesy rostlin, vedoucí ke vzniku nových typů nefotosyntetických plastidů (Keeling 2004).

Chloroplasty jsou tvořeny dvojitým membránovým obalem a tylakoidy, kde probíhá fotosyntéza (Gronnier et al. 2019). Obsahují vlastní malý genom, označovaný jako plastidový genom nebo plastom, který je oproti jadernému genomu relativně malý a vysoce konzervovaný (Wicke et al. 2011). U suchozemských rostlin se délka chloroplastové DNA pohybuje mezi 120–160 kb (Park et al. 2021).

Chloroplasty pocházejí z prastarého cyanobakteriálního endosymbionta a zachovaly si řadu původních funkcí, včetně fotosyntézy, metabolismu lipidů a syntézy škrobu i aminokyselin (Ball et al. 2013).

Většina genů původního endosymbionta byla v průběhu evoluce přesunuta do jádra hostitelské buňky. Charakteristickým rysem chloroplastového genomu jsou invertované repetice, dvě identické sekvence DNA dlouhé 20–50 kb uspořádané v opačném pořadí, které zahrnují geny pro rRNA a některé tRNA. Tyto repetice rozdělují genom na dvě unikátní oblasti: velkou (LSC) a malou (SSC) (Gray & Ford 1982; Sharma et al. 2019).

V rostlinných buňkách se chloroplastová DNA (cpDNA) dědí obvykle mateřskou linií. Počet kopií cpDNA se liší v závislosti na typu buňky a jejím vývojovém stádiu a na funkci plastidu. Například v rychle rostoucích listech obsahuje každý chloroplast 20–40 kopií plastidového genomu, zatímco amyloplasty v hlízách brambor nebo chromoplasty v plodech rajčat nesou pouze několik kopií. V chloroplastech fotosynteticky aktivních buněk je vyšší, což umožňuje efektivní syntézu proteinů nezbytných pro fotosyntézu, zatímco v zásobních plastidech, jako jsou amyloplasty nebo chromoplasty, je počet kopií nižší, odpovídající jejich specializovaným funkcím. Všechny typy plastidů sdílejí stejnou genetickou informaci, liší se však specializací na specifické metabolické funkce (Cooper 2000; Wayne 2009; Wicke et al. 2011).

Chloroplastová DNA je cenným nástrojem pro studium genetické variability rostlin díky své konzervativní evoluční povaze. Poskytuje důležité informace o genetické diverzitě, evolučních vztazích mezi druhy a genetické divergenci (Zimmermann et al. 2019; Li et al. 2020). Relativně malá velikost a kruhová struktura cpDNA usnadňují sekvenování a mapování genů, což je významné nejen pro základní výzkum, ale i pro aplikace ve šlechtění a biotechnologiích (Fosket 1994; Daniell et al. 2002; Rajapakse 2003; Belcher et al. 2015; Mishra et al. 2022).

Plastidový genom bramboru je kruhová molekula DNA o délce přibližně 155–160 kb. Stejně jako u většiny vyšších rostlin je uspořádan do čtyřdílné struktury, která zahrnuje velkou jedinečnou sekvenci (LSC) o délce 85 991 bp, malou jedinečnou sekvenci (SSC) o délce 18 374 bp a dvě identické invertované repetitivní oblasti (IRa a IRb) o délce 25 592 bp každá (Yan et al. 2023; Hossain et al. 2023; Park 2024; Frank et al. 2024; Occhialini et al. 2024).

Genom bramboru obsahuje 127 genů, z nichž 82 kóduje proteiny, především pro fotosyntézu a metabolické procesy. Dále zahrnuje 8 genů pro ribozomální RNA (rRNA) a 37 genů pro transferovou RNA (tRNA). Celková struktura a organizace genů jsou podobné jako u jiných plastidových genomů rostlin (Yan et al. 2023; Park 2024).

V roce 2024 byl kompletně sekvenován plastidový genom maďarské bramborové odrůdy White Lady, který má délku 155 549 bp. Jeho genový obsah i organizace odpovídají plastidovým genomům ostatních bramborových odrůd a druhů rodu *Solanum* (Frank et al. 2024).

Plastidové genomy většiny rostlin mají velikost v rozmezí 72–220 kb a obsahují přibližně 130 genů. U bramboru jsou tyto hodnoty v rámci očekávaného rozmezí. Plastidový genom hraje klíčovou roli v regulaci fotosyntézy, syntéze proteinů a metabolismu rostliny. Jeho podrobné studium přispívá k vývoji geneticky modifikovaných rostlin s lepšími agronomickými vlastnostmi, například vyšší odolností vůči stresu nebo škůdcům (Zhang et al. 2025; Alp Furan et al. 2025; Nikmah et al. 2025).

Probíhá v nich proces oxidativní fosforylace, což je proces, při němž se uvolňuje chemická energie obsažená v organických sloučeninách (např. glukóza) a přeměňuje se na ATP. Tato funkce je zásadní pro životní procesy buněk a celého organismu (Millerd et al. 1951). Význam mitochondrií není pouze výroba energie. V těchto organelách probíhají také jiné buněčné procesy a plní buněčné funkce, jako je například regulace apoptózy, kontrola buněčného cyklu a β oxidace mastných kyselin (Alberts et al. 2005).

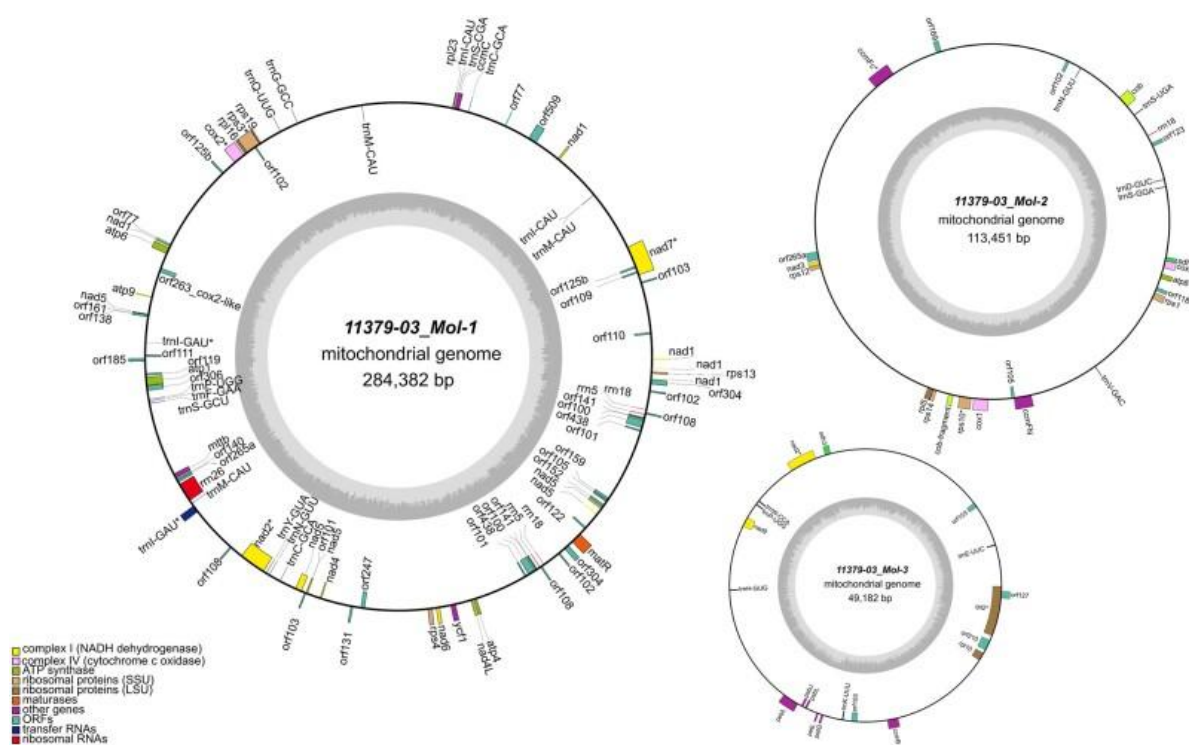
Mitochondrie mají svůj vlastní genetický materiál v podobě DNA zvané mtDNA. MtDNA obsahuje geny, které zajišťují funkci mitochondrií a energetický metabolismus (Alberts et al. 2002) a ovlivňuje procesy jako dýchání a produkci energie (Møller et al. 2021). Mitochondriální DNA (mtDNA) rostlin je 10 až 600krát rozsáhlejší než mtDNA savců, a obsahuje přibližně o polovinu více genů (Liu et al. 1995). Genetický kód v mtDNA rostlin zůstává standardní, vykazuje nízkou míru odlišností v důsledku bodových mutací, ale naopak vykazuje vysokou rekombinační aktivitu. Rekombinace v mtDNA vede k vytváření nových čtecích rámců, což může mít za následek samčí sterilitu. Mitochondrie rostlin disponují rozsáhlým proteomem obsahujícím 2000 až 3000 různých proteinů, mezi nimiž se nachází mnoho unikátních proteinů, jako jsou 200 až 300 proteinů s opakujícím se pentatricopeptidovým motivem (PPR) (Fauron et al. 2004; Gualberto et al. 2014). Pro porovnání, mitochondriální genom okurek je až desetkrát větší než chloroplastový (160 kb) (Park et al. 2021).

Uvnitř buňky, ať už živočišné nebo rostlinné, jsou mitochondrie obklopeny cytosolem obsahujícím poměrně vysokou koncentraci solných kationtů (Taiz et al. 2015) 50-100 mM K^+ , 1-5 mM Mg^{2+} a 1-2 mM celkového Ca^{2+} , přičemž většinou je Ca^{2+} vázán (Alberts et al. 2005; Taiz et al. 2015).

Rostlinné mitochondrie mohou oxidovat externě přidaný NADH a NADPH (Bonner & Voss 1961), malát (Millerd et al. 1951) a glycin vysokou rychlostí (Kisaki et al. 1971). Takto efektivní oxidace těchto substrátů nebyla u savčích mitochondrií dosud pozorována (Alberts et al. 2005; Taiz et al. 2015).

Rostlinné mitochondrie se vyznačují značnou variabilitou ve velikosti, struktuře i funkcích. Kromě klasického dýchacího řetězce obsahují také alternativní dráhy, které ovlivňují energetický metabolismus buňky. U některých druhů, například u *Arum spadices*, byla prokázána vysoká kyanid-citlivá respirace spojená s cytochromovou dráhou. U *Arum spadices* je vysoká kyanid-citlivá respirace mitochondrií úzce spjata s termogenezí, která podporuje volatilizaci těkavých látek a přitahování opylovačů. Tento metabolický mechanismus představuje adaptaci na specifickou reprodukční strategii rostliny (James & Eliot 2010; James et al. 1955).

Mitochondriální genom bramboru (*Solanum tuberosum* L.) je složitější než plastidový genom. Jeho velikost se pohybuje kolem 49 171 bp do 297 014 bp a je vysoce variabilní kvůli přítomnosti přeskupených sekvencí a mobilních elementů. Kóduje okolo 80 jedinečných genů, zahrnujících 34 protein-kódujících genů, 24 hypotetických otevřených čtecích rámců (ORF), 19 genů pro tRNA a 3 geny pro rRNA (Cho et al. 2017; Lian et al. 2024).



Obrázek 5 Mitochondriální genom bramboru (*Solanum tuberosum*) (Achakkagari et al. 2021).

Mitochondriální genom bramboru má neobvyklou multipartitní strukturu, která je důsledkem rekombinačních událostí a reorganizace genomu. Přítomnost nezávislých subgenomů naznačuje, že mitochondriální DNA bramboru může být dynamická a podléhat častým změnám (Cho et al. 2017; Achakkagari et al. 2021).

3.5 PCR

Polymerázová řetězová reakce (PCR, z anglického *polymerase chain reaction*) představuje laboratorní techniku amplifikace nukleových kyselin, která umožňuje selektivní namnožení krátkých úseků DNA in vitro (Lorenz 2012, Ramesh et al. 1992). Tato metoda byla poprvé představena Karym B. Mullisem a kolegy v roce 1985 a následně oceněna Nobelovou cenou za chemii (Mullis 1990). Od svého zavedení se PCR stala nepostradatelným nástrojem v molekulární biologii, genetice, biotechnologiích, lékařské diagnostice i forenzních vědách.

Základem metody je cyklické střídání teplot, které umožňuje denaturaci dvoušroubovice DNA (při 94–95 °C), následné navázání oligonukleotidových primerů na cílové sekvence, annealing, a obvykle se provádí při teplotě 50–65 °C. Optimální teplota annealingu závisí na délce a G/C obsahu primerů, obvykle se volí teplota přibližně o 3–5 °C nižší, než je jejich teplota tání (T_m). Následuje syntéza nového řetězce DNA pomocí DNA polymerázy zvaná elongace, prováděna při teplotě 72 °C a polymeráza prodlužuje nový řetězec ve směru 5' → 3' od nasedlého primeru, přičemž vznikají nové dvouřetězcové molekuly identické s výchozím úsekem DNA. Tímto způsobem dochází k exponenciálnímu nárůstu počtu kopií specifického úseku DNA během 25–40 cyklů, které je závislé na eficienci dané polymerázy (Green & Sambrook 2019, Ghannam & Varacallo 2023, Ramesh et al. 1992).

Po PCR amplifikaci se obvykle provádí agarózová gelová elektroforéza s barvením ethidium bromidem, který se váže na DNA a umožňuje její vizualizaci pod UV světlem. Tímto

způsobem lze zkontrolovat velikost a přítomnost amplifikačního produktu. Pokud je potřeba ověřit specifitu reakce například při podezření na primer dimery nebo jiné nespecifické produkty využívá se metoda Southern blot. Ta spočívá v přenosu DNA z gelu na membránu, kde se následně hybridizuje se specifickou sondou komplementární k cílové sekvenci. Tento krok slouží k potvrzení, že amplifikovaný fragment skutečně odpovídá požadované DNA a výrazně zvyšuje spolehlivost výsledků (Ramesh et al. 1992).

PCR umožňuje cílenou amplifikaci i z velmi malého množství výchozí DNA, a proto se stala zlatým standardem v řadě diagnostických aplikací (Ramesh et al. 1992). Uplatňuje se při detekci bakteriálních a virových infekcí (např. HIV, SARS-CoV-2, *Mycobacterium tuberculosis*), genetickém screeningu a prenatalní diagnostice, při identifikaci mutací, polymorfismů a genetických markerů, a rovněž při detekci transgenních organismů. V oblasti rostlinné biotechnologie je PCR využívána například při určování cytoplazmatických typů, autentifikaci odrůd a analýze přítomnosti genů rezistence (Mackay et al. 2002, Ghannam & Varacallo 2023, Ramesh et al. 1992).

Díky své jednoduchosti, specifičnosti, rychlosti a vysoké citlivosti zůstává PCR základní technikou moderní molekulární biologie a tvoří výchozí platformu pro další techniky, jako jsou kvantitativní PCR (qPCR), reverzně transkripční PCR (RT-PCR), digitální PCR (dPCR) a různé varianty multiplexních a real-time analýz (Mackay et al. 2002, Ghannam & Varacallo 2023).

3.6 Restrikční analýzy

Restrikční analýza představuje základní molekulárně-biologickou metodu využívanou k rozlišení DNA fragmentů na základě přítomnosti specifických restrikčních míst. V rostlinné genetice, zejména při studiu mimojaderné DNA (chloroplastové a mitochondriální), nachází tato metoda uplatnění při klasifikaci cytoplazmatických typů (Palmer et al. 1985). Pomocí restrikčních endonukleáz dochází ke štěpení dvouvláknové DNA v definovaných sekvencích, přičemž výsledné fragmenty se liší délkou v závislosti na polymorfismech sekvence (Jarcho 2001).

Významné uplatnění nachází restrikční analýza také u rodu *Solanum*, kde se využívá k identifikaci a klasifikaci cytoplazmatických typů bramboru (např. T-, D-, M-, W-, P–a A-typ). Sanetomo a Hosaka (2011, 2012, 2015) popsali charakteristické vzorce chloroplastové a mitochondriální DNA u těchto typů a vyvinuli rychlou PCR metodu, která vychází z předchozích výsledků restrikčních analýz.

4 Metodika

4.1 Materiál

Rostlinný materiál byl získán ve spolupráci s VÚB Havlíčkův Brod, s.r.o. Byly odebrány listové čepele jednotlivých odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.) z polních pokusů na pokusné stanici Valečov (+49° 38' 39.35", +15° 29' 50.01") v letech 2010, 2022 a 2023.

4.2 DNA izolace

DNA byla izolována pomocí sady DNeasy Plant Mini Kit od značky QIAGEN (Německo). Z listů jednotlivých odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.) byl do 1,5 ml polypropylénových zkumavek navážen vzorek o hmotnosti přibližně 100 mg čerstvé hmoty.

Zmrazené vzorky byly poté pomocí tekutého dusíku rozdrceny ve zkumavkách pomocí skleněných tyčinek na jemný prášek. Poté bylo přidáno pipetou (Ependorf, Německo) 400 µl pufru AP1 (lyzační pufr) a 4 µl RNázy A. Vzorky byly důkladně vortexovány a inkubovány 30 minut při teplotě 65 °C. Po inkubaci bylo přidáno 130 µl pufru P3 (srážecí pufr) a vzorky byly důkladně promíchány, následně umístěny na 5 minut do mrazícího boxu.

Lyzát byl centrifugován po dobu 5 minut při 14 000 otáčkách za minutu. Poté byl lyzát bez sedimentu převeden na filtrovací QIAshredder spinovou kolonu (fialová barva kolony) umístěnou do nové 2 ml zkumavky. Lyzát byl přes kolonu filtrován pomocí centrifugace 2 min při 14 000 otáčkách za minutu. QIA spinová kolona byla odstraněna a k filtrátu bylo přidáno 1,5 ml pufru AW1 (promývací pufr) a směs byla důkladně promíchána pipetou. 650 µl této směsi bylo přeneseno na DNeasy Mini spinovou kolonku (bílá barva kolony) umístěnou v 2 ml sběrné zkumavce a centrifugováno při 8 000 otáčkách za minutu po dobu 1 minuty. DNA se zachytí na filtru kolony. Filtrát byl zlikvidován a spinová kolonka byla vrácena do sběrné zkumavky. Tento krok byl opakován se zbývajícím směsí.

Na spinovou kolonku bylo přidáno 500 µl pufru AW2 (promývací pufr) a centrifugováno při 8 000 otáčkách za minutu po dobu 1 minuty. Kapalina, která prošla kolonou byla zlikvidována a spinová kolonka byla vrácena do sběrné zkumavky. Tento krok byl opakován ještě jednou s dalšími 500 µl pufru AW2. Následně byla provedena suchá centrifugace při 14 000 otáčkách za minutu po dobu 2 minut, aby se odstranil zbylý pufr AW2.

Spinová kolonka byla přenesena do nové 1,5 ml mikrozkušavky a na membránu spinové kolony bylo přidáno 50 µl pufru AE (eluční pufr). Po inkubaci při pokojové teplotě (15–25 °C) po dobu 5 minut byla směs centrifugována při 8 000 otáčkách za minutu po dobu 1 minuty pro eluci DNA. Tento krok byl ještě jednou opakován. Výsledný objem roztoku vyizolované DNA byl 100 µl. Koncentrace a čistota DNA byly měřeny pomocí nanofotometru (IMPLEN, Německo) s LID faktorem 10. Získané vzorky DNA byly naředěny na konečnou koncentraci 5 ng/µl.

4.3 PCR amplifikace DNA vzorků

Vzorky byly amplifikovány pomocí PCR reakce (polymerázová řetězová reakce) v termocykleru Thermal Cycler C1000 (Bio-Rad, USA). Pro optimalizaci diagnostiky jednotlivých druhů cytoplazmatické DNA bylo nejprve provedeno pět singleplex PCR reakcí pro každý pár primerů zvlášť. Pro zefektivnění analýzy byla následně provedena jedna komplexní multiplex PCR reakce dle autorů (Hosaka & Sanetomo 2012).

Reakční PCR směs byla pipetována do 0,2 ml polypropylénových PCR zkumavek. Vzorky byly vloženy do termocykleru Thermal Cycler C1000 (Bio-Rad, USA) pro samotnou

amplifikaci. Amplifikace, tedy denaturace, annealing a elongace byla provedena ve 30 cyklech. Nastavení cyklu, tedy teplotní a časový profil PCR reakce, se nachází v Tabulce 2.

Tabulka 2 Teplotní a časový profil PCR reakce.

Fáze	Teplota	Čas
Predenaturace	10 min	95 °C
Denaturace	30 s	94 °C
Annealing	30 s	60 °C
Elongace	1 min	72 °C
Konečná elongace	5 min	72 °C

4.3.1 Primery

Sekvence jednotlivých primerů použitých v této práci jsou zobrazeny od 5' ke 3' konci, vždy ve dvojici kódující „forward” primer a antikódující „reverse” primer a jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3 Sekvence primerů ve směru 5' - 3' pro PCR reakci.

F	R	AUTOR
T GGAGGGGTTTTCTTGGTTG	AAGTTTACTCACGGCAATCG	(Hosaka 2002)
S GGTTCGAATCCTTCCGTC	GATTCTTTCGCATCTCGATTC	(Bryan G.J. et al. 1999)
SAC TTGGAGTTGTTGCGAATGAG	GTTCCCTAGCCACGATTCTG	(Hosaka & Sanetomo 2012)
D CGGGAGGTGGTGTACTTTCT	ACGGCTGACTGTGTGTTGA	(Sanetomo & Hosaka 2011)
A AACTTTTTGAACTCTATTCCTTAATTG	ACGCTTCATTAGCCCATACC	(Hosaka & Sanetomo 2012)

4.3.2 Singleplex PCR reakce

Singleplex PCR reakce byla prováděna vždy pro konkrétní pár primerů z Tabulky 4. Složení této reakce o objemu 20 µl a koncentrace jednotlivých komponent jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 Složení reakční směsi pro singleplex PCR reakci s pipetovacími koncentracemi pro objem 20 µl roztoku.

SINGLEPLEX	Koncentrace zásobního roztoku	Pipetováno do 20 µl reakce	Finální koncentrace v 20 µl PCR reakci
DNA	5 ng	2 µl	10 ng
MIX QIAGEN	2x	10 µl	1x
PRIMER F (10 µM)	10 µM	0,6 µl	0,3 µM
PRIMER R (10 µM)	10 µM	0,6 µl	0,3 µM
ddH₂O	-	6,8 µl	-

4.3.3 Multiplex PCR reakce

Multiplex PCR reakce obsahovala všechny páry primerů uvedené v Tabulce 5. Nejprve byl připraven směsný roztok všech primerů označených jako „primer mix“. Složení tohoto mixu a koncentrace jednotlivých primerů jsou uvedeny v Tabulce 5. Složení multiplex reakce o objemu 20 µl je uvedeno v Tabulce 6.

Tabulka 5 Složení a koncentrace mixu primerů pro MULTIPLEX PCR.

Primer mix	Koncentrace zásobního roztoku	Pipetováno µl	Finální koncentrace ve 100 µl mixu	Finální koncentrace primeru na jednu reakční směs PCR
TF	10 µM	2	0,2 µM	0,027 µM
TR	10 µM	2	0,2 µM	0,027 µM
SF	10 µM	3	0,3 µM	0,04 µM
SR	10 µM	3	0,3 µM	0,04 µM
SAC F	10 µM	2	0,2 µM	0,027 µM
SAC R	10 µM	2	0,2 µM	0,027 µM
DF	10 µM	3	0,3 µM	0,04 µM
DR	10 µM	3	0,3 µM	0,04 µM
AF	10 µM	4	0,4 µM	0,05 µM
AR	10 µM	4	0,4 µM	0,05 µM
H ₂ O	10 µM	72	-	-

Tabulka 6 Složení reakční směsi pro MULTIPLEX PCR reakci o objemu 20 µl.

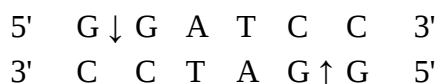
MULTIPLEX	
DNA	10 ng
MIX QIAGEN	1x
PRIMER MIX	2 µl
H ₂ O	6 µl

4.4 Štěpení pomocí *Bam*HI

Po amplifikaci byly vzorky štěpeny pomocí restriční endonukleázy [Bam](#)HI (10 U/µL) v termocykleru při 37 °C po dobu 3 hodin. Do reakce o celkovém objemu 12 µl byly přidány jednotlivé komponenty o koncentracích viz Tabulka 8.

Restrikční endonukláza *Bam*HI štěpí DNA v palindromické sekvenci uvedeně v Tabulce 7. Tento enzym byl získán z bakterie *Bacillus amyloliquefaciens* H. *Bam*HI. V této práci bylo použito balení od firmy ThermoFisher (USA), které obsahuje 4 000 jednotek, přičemž jedna jednotka je definována jako množství *Bam*HI potřebné pro štěpení 1 µg fragmentů lambda DNA-Bsp120I za 1 hodinu při 37 °C v 50 µl doporučeného reakčního pufru (Thermo Fisher Scientific Inc. 2012).

Tabulka 7. Složení restrikční endonukleázy *Bam*HI.



Tabulka 8. Štěpící reakce o celkovém objemu 12 µl pomocí enzymu *Bam*HI při 37 °C 3 h.

	Zásobní roztok	Koncentrace zásobního roztoku	Finální koncentrace směsi
PCR produkt	5 µl	-	-
Enzym <i>Bam</i>HI	0,4 µl	10 jednotek/µl	0,33 jednotek/µl
Pufr	1,2 µl	10x	1x
ddH₂O	5,4 µl	-	-

4.5 Elektroforéza a vizualizace

Pro vizualizaci výsledků PCR amplifikace a následného štěpení produktů byla provedena horizontální gelová elektroforéza v elektroforetické cele (BioRad, Německo). Gelová elektroforéza funguje na principu fyzikálních sil. DNA je záporně nabitá molekula, která díky fosfátovým skupinám putuje v nosiči, gelu, směrem ke kladně nabitě anodě. Fragmenty se v gelu pohybují různou rychlostí v závislosti na své délce (Houssier et al. 1974). Polysacharid obsažený v gelu, nazývaný agaróza, vytváří síť nekovalentních vodíkových můstků a hydrofobních vazeb mezi dlouhými řetězci. Těmito prostorovými strukturami se fragmenty DNA o různé délce pohybují směrem k anodě. Hustota gelu se přizpůsobuje velikosti analyzovaných fragmentů (Bhattacharya & Mandal 1997; Green & Sambrook 2019). Fragmenty měly v tomto případě délku 0,2–3 kb.

Pro přípravu 1,5 % agarózového gelu bylo naváženo 3 g agarózy a odměřeno 200 ml 1x TBE pufru. Roztok byl zahříván v mikrovlnné troubě, aby se agaróza dostatečně rozpustila. Poté bylo přidáno 12 µl detekčního barviva ethidiumbromidu (EtBr). S EtBr je nutné pracovat opatrně, protože se jedná o vysoce karcinogenní, teratogenní a mutagenní látku (Houssier et al. 1974; Sabnis 2010).

Připravený roztok byl nalit do formy (vaničky), do které byl vložen „hřebínek“ vytvářející jamky pro následné nanášení vzorků DNA. Po ztuhnutí byl gel vložen do elektroforetické cely naplněné 1x TBE pufrem s EtBr. TBE pufr obsahuje TRIS (4-chlorfenyl) methanol), EDTA (kyselinu ethylendiaminotetraoctovou) a kyselinu boritou (Sanderson et al. 2014; Dionisio et al. 2018).

Do připravených jamek bylo nanášeno 10 µl vzorků. Pro určení délky fragmentů byl použit hmotnostní standard GeneRuler 100 bp DNA Ladder (ThermoFisher, USA), který obsahuje fragmenty DNA o definované velikosti, bromfenolovou modř pro vizualizaci

a glycerol, který zajišťuje, aby vzorky zůstaly ve spodní části jamek. Díky přítomnosti barviva bylo možné sledovat postup vzorků během elektroforézy a tím zpřesnit práci (Bártová et al. 2005).

Elektroforetická cela byla připojena ke zdroji, a separace probíhala při napětí 90 V a proudu přibližně 90 mA, dokud se vzorky viditelně neposunuly do dvou třetin gelu. Po ukončení elektroforézy byla detekce fragmentů provedena pomocí UV záření na přístroji Gel Doc (BioRad, Německo) a promítnut na počítači (BenQ, Tchaj-wan).

4.6 Fenotypizace odrůd

Vyhledávání a analýza všech jedenácti hodnocených vlastností u 350 odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.) byla provedena prostřednictvím databázového systému GRIN Czech (<https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>) (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2025). Tento systém poskytuje komplexní informace o genetických zdrojích rostlin uchovávaných v České republice, včetně podrobné charakterizace jednotlivých odrůd.

Details for: 0750102090, *Solanum tuberosum* L., 'Jitka'

Summary Passport Taxonomy Other Pedigree IPR Observation

Observations

Phenotype Data

Show/hide columns Show 5 rows Excel

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 59 total entries)

Search: 028

Category	Descriptor	Description	Value	Study	Inventory	Availability
MORPHOLOGY	028 Tuber - shape	6 - spherical-oval	2008	Potato Research Institute Havlickuv Brod Ltd. (2)		

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 59 total entries)

Previous 1 Next

Obrázek 6 Vyhledávání v internetové databázi GRIN: ukázka pro znaku tvar hlízy u odrůdy Jitka.

Details for: 07S0101171, *Solanum tuberosum* L., 'Karin'

Summary Passport Taxonomy Other Pedigree IPR **Observation**

Observations

Phenotype Data

Show/hide columns Show 5 rows Excel

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 33 total entries) Search: 028

Category	Descriptor	Description	Value	Study	Inventory	Availability
MORPHOLOGY	028 Tuber - shape	2 - kidney long	1982	Potato Research Institute Havlickuv Brod Ltd.		

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 33 total entries) Previous 1 Next

Obrázek 7 Vyhledávání v internetové databázi GRIN: ukázka pro znak tvar hlízy u odrůdy Karin.

Jednotlivé vlastnosti, které byly následně využity ve statistickém šetření, jsou uvedeny v tabulce 9. Podrobný popis a bonitace deskriptorů v příloze 1.

Tabulka 9 Název a popis jednotlivých vlastností.

Kód	Název vlastnosti	Popis
28	Tvar hlízy	Celkový tvar hlízy (kulovitá, oválná, dlouhá)
29	Zploštělost hlízy	Jak moc je hlíza plošší oproti kulovitému tvaru
30	Pravidelnost tvaru hlízy	Rovnoměrnost a pravidelnost tvaru hlízy
31	Velikost hlízy	Velikost hlíz v kategoriích
32	Pravidelnost velikosti hlíz	Konzistence velikosti hlíz v rámci odrůdy
33	Typ hlízy	Kombinace tvaru, velikosti a proporcí hlízy
34	Hloubka oček	Hloubka oček na povrchu hlízy
35	Typ slupky hlízy	Textura slupky (hladká, drsná, síťovaná)
36	Barva slupky hlízy	Barevné variace slupky (žlutá, červená, fialová)
39	Barva dužiny hlízy	Barva vnitřní dužiny hlízy (bílá, žlutá, oranžová, fialová, ...)
45	Délka vegetačního období odrůdy	Klasifikace podle doby zrání (rané, polorané, pozdní, ...)

4.7 Statistika

4.7.1 Statistica

Data byla vyhodnocena pomocí statistického programu Statistica (StatSoft, Dell USA). Byl použit neparametrický test Kruskal-Wallisův test (Obr 8) a na něj navazující post hoc Dunnův test (Dinno 2015, Piwowarczyk 2012). Průkaznost výsledků byla testována k hladině významnosti 0,05.

Kruskal-Wallisův test je rozšířením Mann-Whitneyova testu pro více než dvě nezávislé skupiny. Umožňuje porovnat mediány mezi skupinami bez předpokladu normality dat. Testová statistika H , znázorněná na obrázku 8, se vypočítává podle následujícího vzorce:

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \left(\frac{T_1^2}{n_1} + \frac{T_2^2}{n_2} + \dots + \frac{T_k^2}{n_k} \right) - 3(n+1)$$

Obrázek 8 Vzorec pro výpočet hodnoty H Kruskal-Wallisova testu, kdy n je celkový počet pozorování, k je počet skupin, n_i je počet prvků ve skupině i a T_i je součet pořadí pozorování ve skupině i (Riffenburg R. 2006).

Pokud byl Kruskal-Wallisův test průkazný, byla provedena následná párová porovnání pomocí Dunnové testu. Tento test umožňuje zjistit, mezi kterými dvojicemi skupin existuje statisticky významný rozdíl. Výpočet testové statistiky z_i pro každé porovnání dvou skupin A a B je dán vzorcem (Obr. 9):

$$Z_i = \frac{W_A - W_B}{\sigma_i}$$

Obrázek 9 Vzorec pro výpočet z_i pro Dunnové test, kde W_A , W_B představují průměrné součty pořadí skupin A a B a σ_i je směrodatná odchylka rozdílu pořadí (Dinno 2015).

$$\sigma_i = \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} - \frac{\sum_{s=1}^r (\tau_s^3 - \tau_s)}{12(N-1)}} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B}}$$

Obrázek 10 Vzorec pro výpočet směrodatné odchylky, kdy N je celková počet pozorování a n_A a n_B jsou velikosti skupin A a B (Dinno 2015).

Tato metoda využívá výsledky z Kruskal-Wallisova testu, hlavně pořadí pozorování, a aplikuje z-testovou statistiku na rozdíly mezi skupinami. V případě výskytu více porovnání byly p – hodnoty ověřeny metodou Bonferroniho nebo Holm–Šidák (Dinno 2015).

4.7.2 DARwin 6

Pro zpřesnění statistických výsledků a jejich vizualizaci byla analýza provedena v programu DARwin 6 (Perrier & Jacquemoud-Collet 2006), kde byly vypočteny indexy nepodobnosti (Dissimilarity Indices – Modalities) podle metody Rogers & Tanimoto (Obr. 9) (Rogers & Tanimoto 1960). Tyto indexy kvantifikují míru rozdílnosti mezi jednotlivými odrůdami na základě přítomnosti či nepřítomnosti znaků. Výpočet nepodobnosti mezi dvěma odrůdami i a j je definován rovnicí:

$$d_{ij} = \frac{2u}{m + 2u}$$

Obrázek 11 Vzorec pro výpočet indexu nepodobnosti podle metody Rogers Tanimoto, u představuje počet neshod (přítomnost znaku pouze u jedné z odrůd) a m je počet shod (přítomnost nebo nepřítomnost znaku u obou odrůd zároveň) (Perrier et al. 2003).

Na základě této matice nepodobnosti byl následně zkonstruován dendrogram znázorňující genetickou příbuznost mezi analyzovanými odrůdami. Pro jeho sestavení byla využita metoda ordinal neighbour joining (ONJ), která je modifikací klasického algoritmu neighbour joining (NJ). Metoda ONJ byla vyvinuta speciálně pro práci s ordinálními daty a poskytuje robustní nástroj pro vizualizaci vztahů mezi velkým počtem genotypů (Saitou & Nei 1987; Gascuel & Steel 2006).

Principem ONJ je postupné spojování „nejbližších sousedů“ na základě výpočtu minimálních vzdáleností, přičemž výstupem je uspořádaný strom, který zachovává hierarchii podobnosti mezi jednotlivými jednotkami. Tato metoda je vhodná, pokud jsou data ve formě

nespojité kategorií nebo ordinálních hodnot, což odpovídá charakteru použitých dat v této práci (Saitou & Nei 1987; Gascuel & Steel 2006).

Jednotlivé výstupy se nachází v sekci výsledky (Obr. 17, 18, 19 a 20), podrobné a přibližné segmenty dendrogramů jsou k nalezení v samostatných přílohách.

4.7.3 PCA

Analýza hlavních komponent (PCA) umožňuje převést vícerozměrná data do menšího počtu tzv. hlavních komponent, které zachycují největší část variability (Jolliffe 2002; Ringnér 2008). Tím usnadňuje vizualizaci a odhalování vzorců v datech, jako je podobnost či odlišnost mezi jednotlivými odrůdami. V kontextu této studie byla PCA využita ke zjištění, zda jednotlivé typy cytoplazmy (D, T, W) mají vliv na souhrnný fenotyp odrůd bramboru (Aversano et al. 2009). Pokud by se odrůdy s různým cytoplazmatickým typem v prostoru hlavních komponent odlišovaly, mohlo by to naznačovat, že cytoplazma spolupůsobí při utváření fenotypových vlastností.

Matematicky lze hlavní komponenty vyjádřit jako lineární kombinaci původních, standardizovaných proměnných. Výpočet hodnot hlavních komponent je znázorněn na obrázku 12.

$$PC_k = Z \cdot v_k$$

Obrázek 12 Rovnice pro výpočet hlavních komponent, kde Z je matice standardizovaných dat (například agronomických znaků), v_k je vlastní vektor určující směr k-té hlavní komponenty a PC_k je výsledný vektor hodnot této komponenty pro všechna pozorování (odrůdy) (Jolliffe 2002).

K určení hlavních komponent je třeba nejprve vypočítat kovarianční (nebo korelační) matici ze standardizovaných dat, následně se řeší tzv. vlastní dekompozice, jak je uvedeno na obrázku 13.

$$S \cdot v_k = \lambda_k \cdot v_k$$

Obrázek 13 Rovnice pro výpočet kovariační matice, kde S označuje kovarianční matici, λ_k je vlastní číslo (eigenvalue), které udává podíl vysvětlené variability a v_k je vlastní vektor (eigenvector) reprezentující směr nové osy v prostoru (Jolliffe 2002).

V této práci byly první dvě hlavní komponenty použity pro vizualizaci v dvourozměrném prostoru s cílem posoudit, zda mezi skupinami odrůd s různými typy cytoplazmy existují rozdíly.

5 Výsledky

5.1 Fenotypizace

Z celkového množství 421 odrůd analyzovaných v této práci bylo fenotypizováno v databázi GRIN (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2025) 223 odrůd. Výsledky fenotypizace jsou uvedeny v příloze 10. Tabulka 10 zobrazuje počet záznamů u jednotlivých znaků a zároveň jejich nejčastější hodnotu.

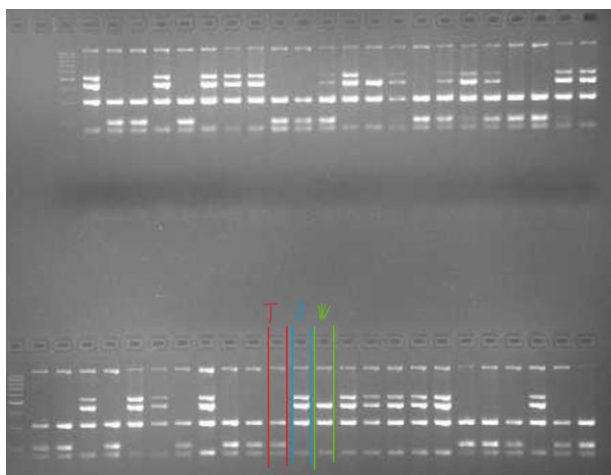
Tabulka 10 Popis fenotypových znaků.

Kód znaku	Název vlastnosti	Počet záznamů	Nejčastější hodnota
28	Tvar hlízy	164	6
29	Zploštělost hlízy	136	7
30	Pravidelnost tvaru hlízy	123	7
31	Velikost hlízy	156	6
32	Pravidelnost velikosti hlíz	137	7
33	Typ hlízy	124	5
34	Hloubka oček	139	7
35	Typ slupky hlízy	132	9
36	Barva slupky hlízy	126	7
39	Barva dužiny hlízy	135	7
45	Délka vegetačního období odrůdy	142	4

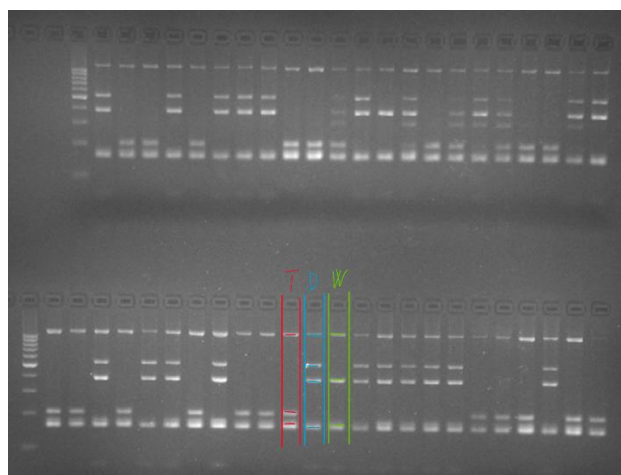
5.2 Druhy cytoplazmy

Na snímcích z vertikální agarové elektroforézy je prezentována analýza DNA 46 odrůd bramboru (*Solanum tuberosum* L.) v rámci multiplexního štěpení restriční endonukleázou *Bam*HI. Elektroforetické gely byly ozářeny UV světlem, aby byl viditelný separovaný DNA fragmentový profil, který byl obarven ethidiumbromidem.

První snímek zachycuje stav před štěpením, kdy je vidět nefragmentovaná DNA jednotlivých odrůd. Druhý snímek ukazuje vzorky po štěpení, kdy došlo k rozštěpení DNA na fragmenty specifické pro jednotlivé typy cytoplazmy. Demonstrativně byly barevně označeny tři různé typy cytoplazmy, které odpovídají variantám identifikovaným v analyzovaném souboru odrůd (Sood et al. 2021). Vyhodnocené typy cytoplazmy pro jednotlivé odrůdy jsou uvedeny v příloze 10. Z celkového množství 421 odrůd byla u 204 odrůd identifikována cytoplazma T-typu, u 133 D-typu a u 84 W-typu.



Obrázek 14 Restriční analýza, gel před štěpením.



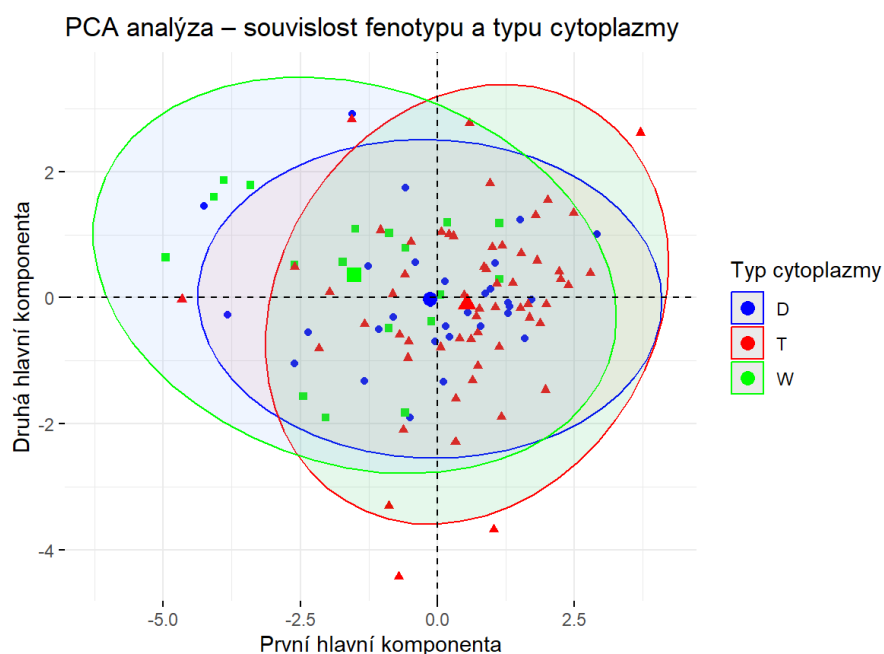
Obrázek 15 Restriční analýza, gel po štěpení.

5.3 Statistika

5.3.1 PCA

Analýza hlavních komponent (PCA) byla provedena za účelem snížení rozměrnosti dat a vizualizace vztahů mezi fenotypem a typem cytoplazmatické DNA. Vstupní datovou matici tvořilo 185 až 225 odrůd bramboru, přičemž každá odrůda představovala jednu jednotku pozorování. Pro každou z nich bylo zaznamenáno 11 fenotypových znaků, proměnných, které kvantitativně popisovaly morfologické a agronomické vlastnosti. Tyto znaky tvořily základ pro výpočet hlavních komponent.

Na základě této analýzy bylo zjištěno, že první dvě hlavní komponenty vysvětlily dohromady 41 % celkové variability v souboru. Vizualizace v prostoru těchto dvou komponent (obr. 10) ukázala, že jednotlivé typy cytoplazmy (D, T, W) se v PCA prostoru částečně odlišují. Největší fenotypová variabilita byla zaznamenána u skupiny s cytoplazmou typu T, zatímco skupina D byla fenotypově nejhomogennější.



Obrázek 16 Analýza hlavních komponent, RStudio

5.3.2 Kruskal-Wallisův test

Tabulka 11 prezentuje výsledky statistického testu Kruskal-Wallis, který byl použit ke srovnání jednotlivých vlastností brambor mezi různými skupinami cytoplazmy (T, W, D). Jednotlivé skupiny vlastností byly vyhodnoceny a pokud test prokázal statisticky významný rozdíl, tedy hodnota p je menší než 0,05, byl proveden Dunnův post hoc test, který pomohl určit, mezi kterými konkrétními cytoplazmatickými skupinami existují statisticky významné rozdíly. Dále jsou v tabulce uvedeny průměrné hodnoty jednotlivých druhů cytoplazem konkrétních znaků a počet odrůd v jednotlivých zkoumáních.

Tabulka 11 Statistické výstupy a vyhodnocení jednotlivých testů

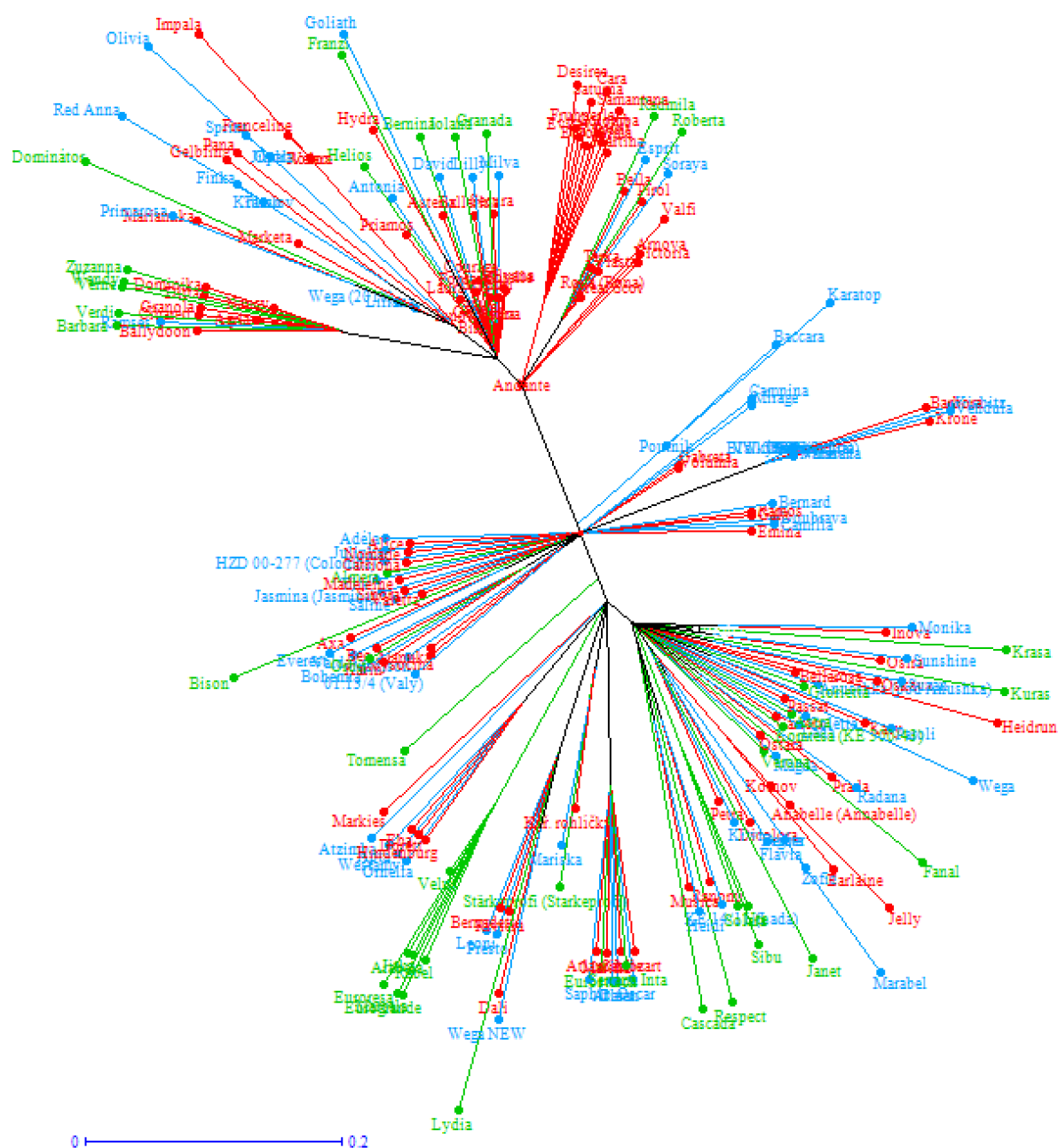
Znak	H	p-hodnota	Dunnové test	T	D	W	Četnosti
028	9,3851	0,0092	T-W	5,29	5,87	6,33	222
029	5,666	0,0588	/	5,76	6,48	6,08	199
030	2,3899	0,3027	/	5,98	6,26	6,11	195
031	2,0032	0,3673	/	5,75	5,86	5,59	215
032	0,671	0,715	/	5,87	6	5,83	197
033	9,2735	0,0097	T-W, D-W	5,79	5,75	4,89	190
034	5,7465	0,0565	/	6,59	6,43	6,05	221
035	1,9511	0,3770	/	6,46	6,5	5,97	192
036	0,3791	0,8273	/	6,73	6,8	6,44	219
039	10,821	0,0045	D-W, T-W	5,68	5,89	4,74	223
045	13,473	0,0012	D-W	3,59	3,28	4,33	223

Výsledky Kruskal-Wallisova testu a post hoc Dunnova testu pro porovnání znaků mezi typy cytoplazmy (D, T, W). Tučně jsou vyznačeny statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$). Hodnota H udává jednotlivé výsledky Kruskal-Wallisova χ^2 testu.

Výsledky ukázaly, že u několika znaků byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi cytoplazmatickými skupinami. Mezi tyto vlastnosti patří tvar hlízy (028), typ hlízy (033), barva dužiny hlízy (039) a délka vegetačního období (045).

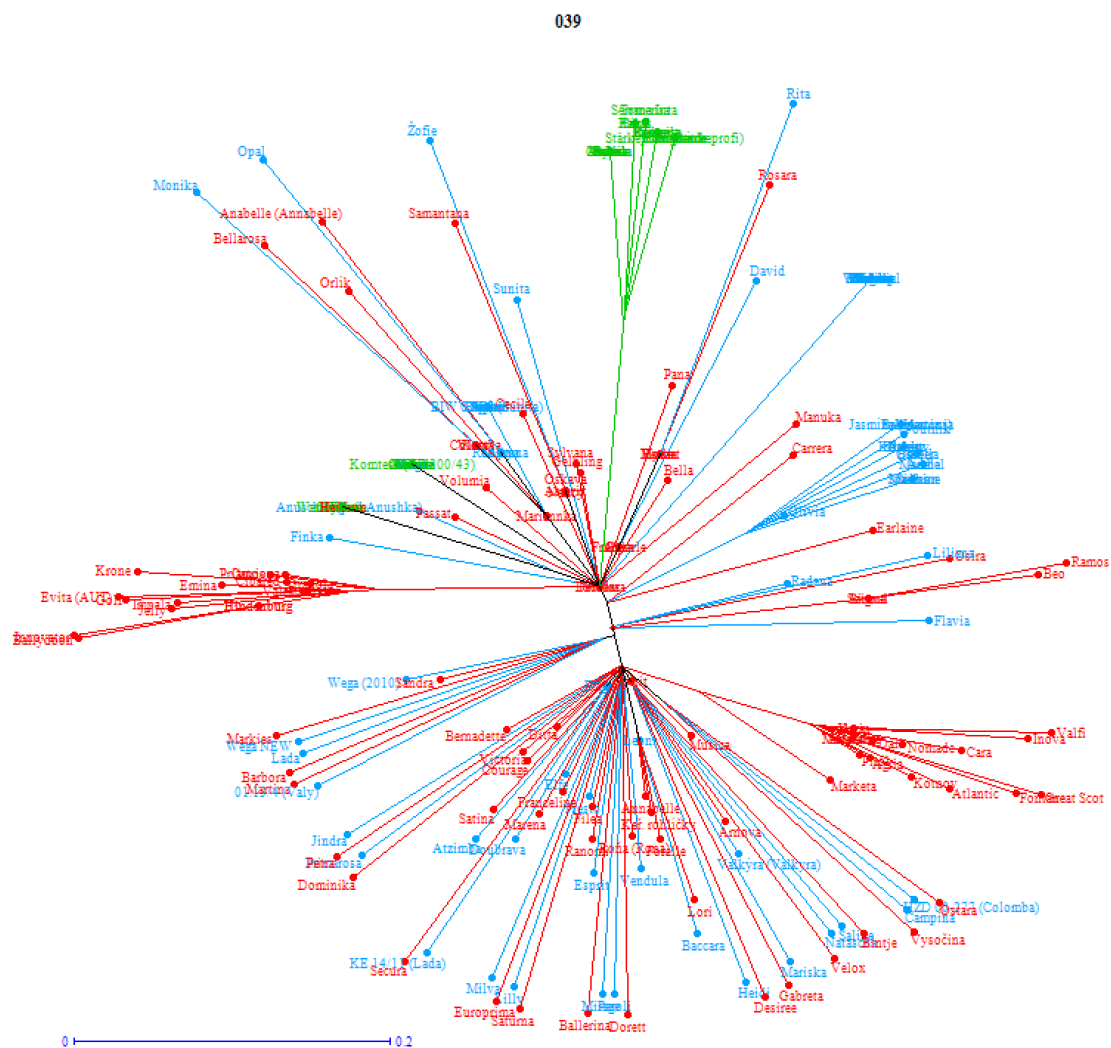
Průměrné hodnoty vybraných znaků se mezi jednotlivými typy cytoplazmy (T, D, W) mírně lišily. Například u znaku 028 byl průměr nejvyšší u typu W (6,33), zatímco nejnižší u typu T (5,29). Podobně znak 039 vykazoval nejnižší hodnotu u typu W (4,74), zatímco u D a T byly hodnoty vyšší (5,89 a 5,68). U několika znaků byly tyto rozdíly statisticky významné, například znak 028: $p = 0,0092$; znak 039: $p = 0,0219$.

Nejvýraznější rozdíl mezi cytoplazmatickými typy byl zjištěn u znaku 045 – vegetační období ($p = 0,0012$), kde post hoc test potvrdil statisticky významnou odlišnost mezi skupinami D a W. Obrázek 17 zobrazuje dendrogram.



Obrázek 17 Dendrogram pro znak 045, DARWIN.

Podobně i u znaku 039 barva dužiny hlízy ($p = 0,0045$) byly zjištěny významné rozdíly mezi skupinami D–W a T–W. Obrázek 18 zobrazuje grafické znázornění dendrogram.



Obrázek 18 Dendrogram pro znak 039, DARWIN.

0.2

40

6 Diskuze

U souboru 423 odrůd analyzovaných v této práci bylo fenotypizováno v databázi GRIN 223 odrůd. Pomocí molekulárně-genetických metod byly identifikovány tři základní typy cytoplazmatické DNA, nejčastěji se vyskytoval typ T (48,5 %), následovaly typy D (31,5 %) a W (20 %). Tento výsledek odpovídá dřívějším studiím Sanetoma a Gebhardta (2015), kteří zaznamenali podobné rozložení cytoplazmatických typů v evropském genofondu bramboru.

6.1 Metodika

Cytoplazmatická DNA se podílí na celé řadě metabolických procesů, které mohou ovlivnit výsledný vzhled a vlastnosti rostliny.

Plastidy jsou zodpovědné za syntézu škrobu, lipidů i barviv (Wise & Hooper 2007). Mitochondrie zajišťují energetický metabolismus prostřednictvím buněčného dýchání (Møller et al. 2021). I když mají tyto organely menší genom než jádro, jejich vliv na fungování buňky i na některé agronomické znaky je důležitý a neměl by být opomíjen (Alberts et al. 2002).

Některé výsledky této práce by tak mohly být vysvětleny právě rozdílným metabolickým nastavením jednotlivých cytoplazmatických typů. Například rozdíly v délce vegetačního období (znak 045) mohou souviset s odlišnou efektivitou buněčného dýchání a energetického hospodaření mezi typy cytoplazmy (Miller et al. 1951). U znaku barvy dužiny (039) se rozdíly mohou vztahovat k plastidové syntéze pigmentů, především karotenoidů, jejichž produkce je řízena i geny v plastidovém genomu (Cooper 2000). A podobně i u tvaru a typu hlízy (028, 033) může mít určitý vliv rozdílná aktivita plastidových a mitochondriálních metabolických drah nebo rozdíly v jejich regulaci (Miller et al. 1951; Oldenburg & Bendich 2015).

Pro identifikaci cytoplazmatických typů byla využita kombinace PCR a restriční analýzy pomocí enzymu BamHI, která umožňuje spolehlivě určit základní typy cytoplazmy (Hosaka et al. 2009). Tento přístup je vhodný pro základní charakterizaci, ale neposkytuje detailní rozlišení jednotlivých podtypů (např. W/α, W/β, W/γ). Pro přesnější typizaci by bylo vhodné použít širší markerový panel podle metodiky Hosaky a Sanetoma (2012).

Molekulární typizace cytoplazmy pomocí PCR – RFLP prokázala vysokou míru spolehlivosti. Detekované typy cytoplazmy byly ve shodě s informacemi o botanickém původu matečných linií, které byly dohledány v literatuře, šlechtitelských materiálech i databázích (europotato.org).

U odrůd s matečnou linií odvozenou od *S. stoloniferum* (např. Clivia, Leyla) byl ve všech případech potvrzen typ W cytoplazmy, odpovídající haplotypu W/γ.

U odrůd, které měly jako pramatku *Solanum demissum*, se ve všech případech vyskytoval typ cytoplazmy D. Tento typ je pro *S. demissum* typický a je od něj také odvozen. Cytoplazma D se vyskytuje poměrně často a v různých liniích, někdy i v případech kde přímý původ není jednoznačně doložen. Její výskyt je tedy poměrně široký, a ne vždy snadno dohledatelný zpět ke konkrétní matečné linii, což může souviset s jejím častým využíváním v minulých šlechtitelských programech (Hosaka et al. 2009, Goryunova et al. 2023).

Všechny odrůdy, které měly jako matečnou linii uvedenu Hydru (např. Agata, Arcona, Impala), měly typ cytoplazmy T. Stejně tak se typ T vyskytoval i u odrůd s pramatkou Early Primrose. V obou případech jde o kulturní odrůdy evropského původu, u kterých se typ T

vyskytuje zcela běžně. U linie Clivia byl zjištěn typ T i D. Je možné, že v některých případech došlo k chybám v historickém záznamu rodokmenů – například mohla být zaměněna matečná a otcovská složka, a linie se tak dál vedla nesprávně. To by mohlo vysvětlit případy, kdy cytoplazmatický typ neodpovídá uváděné matečné linii.

6.2 Výsledky

6.2.1 Statistika

Cílem práce bylo ověřit, zda existuje vztah mezi typem cytoplazmy a vybranými fenotypovými znaky. Pro hodnocení byly využity klasifikační znaky z databáze GRIN, převedené do binární matice. Statistická analýza pomocí Kruskal-Wallisova testu a následného post-hoc testu (Dunnové test) potvrdila významné rozdíly u čtyř znaků – délky vegetačního období (045), barvy dužniny (039), tvaru hlízy (028) a typu hlízy (033).

Z těchto znaků vykazovala nejvýraznější rozdíly délka vegetačního období (045), kde byly prokázány odlišnosti mezi cytoplazmou D a W. Tento výsledek má praktické důsledky pro šlechtění, protože délka vegetace je zásadní pro adaptaci odrůd na specifické klimatické podmínky a stěžejní pro výběr pěstitele (Žižka 2022). Cytoplazma W, pocházející z divokých druhů, bývá spojována s raností, zatímco cytoplazma D bývá typická pro pozdnější odrůdy. Tato pozorování jsou navazují na předchozí práce (Hosaka & Hanneman 1988).

U znaku barvy dužniny (039) se opět cytoplazma W odlišovala od T a D. Plastidová DNA, ve které se nacházejí geny ovlivňující syntézu pigmentů, může hrát roli v rozdílech zbarvení dužniny, což má význam nejen estetický, ale i nutriční (Wise & Hooper 2007; Greiner et al. 2011).

Také tvar hlízy (028) a typ hlízy (033) vykazovaly významné rozdíly mezi cytoplazmatickými skupinami, přičemž skupina W se zřetelně odlišovala. Tyto znaky mohou být ovlivněny cytoplazmatickou regulací vývoje hlíz a mají praktický význam pro tržní i průmyslové využití odrůd (Žižka 2023).

Znak 034 (hloubka oček) měl výsledky, které se pohybovaly těsně kolem hranice statistické významnosti. I když se nepodařilo prokázat jasný statistický rozdíl, zdá se, že určité rozdíly mezi skupinami existují. Je možné, že při větším počtu odrůd nebo s použitím citlivější metody by se tyto rozdíly mohly projevit výrazněji. Tento výsledek proto stojí za pozornost a mohl by být zajímavým podnětem pro další výzkum.

Naopak u ostatních sledovaných znaků, zploštělosti hlíz (029), pravidelnosti tvaru (030), velikosti hlízy (031), pravidelnosti velikosti (032), typu slupky (035) a barvy slupky (036), nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. Tyto znaky jsou pravděpodobně více ovlivněny jadernou dědičností nebo prostředím.

6.2.2 Analýza hlavních komponent

Výsledky PCA analýzy ukázaly, že jednotlivé typy cytoplazmy se ve vícerozměrném prostoru částečně odlišují. První dvě hlavní komponenty (PC1 a PC2) vysvětlily dohromady přibližně 41 % celkové variability (PC1 = 26,8 %, PC2 = 14,1 %). Největší rozptyl vykazovala skupina T, která může souviset s jejím častým a nespecifickým využitím ve šlechtění. Naopak cytoplazma D působila jako fenotypově homogenní, zatímco cytoplazma W zaujímala

specifickou pozici s rozptylem podél osy PC1. To může odrážet její odlišné genetické pozadí a přítomnost haplotypů pocházejících z divokých druhů (Hosaka & Sanetomo 2012).

6.2.3 Dendrogramy

Tato pozorování byla potvrzena i pomocí dendrogramů vytvořených v softwaru DARwin, které zachycují strukturu genetické podobnosti na základě jednotlivých fenotypových znaků. U znaků 028 (tvar hlízy), 033 (typ hlízy), 039 (barva dužiny) a zejména 045 (délka vegetačního období) bylo patrné, že určité skupiny odrůd se seskupují podle typu cytoplazmy. Rozdělení odrůd bylo na všech čtyřech dendrogramech vizuálně zvýrazněno barevným rozlišením červeně typ D, modře typ T a zeleně typ W.

Nejvýraznější shlukování podle cytoplazmy bylo pozorováno u znaku 045 (Obr. 16), kde byly skupiny W a D zřetelně odděleny a jejich větvení odpovídalo odlišné délce vegetačního období. Dendrogram navíc ukázal i určitou homogennost v rámci skupiny D tedy menší rozptyl a vyšší vnitřní podobnost odrůd. Oproti tomu skupina T se v dendrogramech objevovala rozptýleněji, bez jasného vyhranění, což odpovídá její široké distribuci napříč kulturními liniemi.

U znaku 033 (Obr. 20) byla pozorována výrazná shoda mezi skupinou W a specifickým typem hlízy – většina zeleně označených odrůd (typ W) se soustředila do kompaktního klastru. Podobné tendence byly vidět i u znaku 028, kde odrůdy s cytoplazmatem W vytvářely částečně oddělenou větev od zbytku. V případě barvy dužiny (039) byla distribuce mezi skupinami více rozptýlená, ale i zde bylo patrné, že cytoplazmy T a W se seskupují do různých částí stromu.

Celkově lze říct, že dendrogramy napomohly lepšímu pochopení vztahů mezi fenotypovými znaky a cytoplazmatickým původem. Zatímco typy D a W se jevily jako více specificky vymezené, typ T měl větší vnitřní variabilitu, což může být dáno jeho kulturním původem a častým zapojením do různých hybridních linií. Tyto vizuální výstupy tak vhodně doplňují statistickou analýzu a potvrzují, že cytoplazmatický původ může do určité míry ovlivnit i znaky s komplexní dědičností.

6.3 Závěr

Z praktického hlediska je zajímavé, že cytoplazma typu D, která pochází ze *S. demissum*, bývá často spojována s vyšší odolností vůči stresu a s lepší kvalitou hlíz. Cytoplazma typu W, odvozená od *S. stoloniferum*, se naopak často pojí s vyšším obsahem škrobu a se samčí sterilitou (Sanetomo & Gebhardt 2015). Typ T, který se vyskytuje nejčastěji, nevykazuje v této práci přímou vazbu na žádný z hodnocených znaků. Je možné, že v důsledku častého využívání ve šletění se jeho vliv vytratil a stal se přirozeným pro brambory jako takové.

Je třeba ale i zmínit určité nedostatky tohoto výzkumu. Převod znaků do binární podoby mohl vést ke zjednodušení variability a snížení citlivosti analýzy. Také nerovnoměrné zastoupení jednotlivých typů cytoplazmy a následná volba neparametrického testu mohli mít vliv na výsledky statistických testů. Některé rozdíly, i když vyšly jako statisticky významné, by bylo vhodné ověřit pomocí jiných přístupů – například s využitím kvantitativních dat (Bernardo 2020), funkčních markerů (Barone 2004), případně analýz exprese na úrovni transkriptomu (Sun et al. 2019).

I přes tyto nedostatky se potvrdilo, že cytoplazmatická DNA může být užitečným doplňkovým nástrojem při hodnocení genetické diverzity a při výběru vhodných rodičovských linií. Zejména typ W se v této práci opakovaně ukázal jako fenotypově odlišný, a mohl by být využit při šlechtění na ranost nebo vyšší škrobnatost. Výsledky této studie tak mohou posloužit jako základ pro další výzkumy zaměřené na hlubší pochopení vlivu cytoplazmy a její praktické využití v genetice a šlechtění bramboru.

7 Závěr

- V rámci této práce byla úspěšně optimalizována PCR reakce pro amplifikaci izolátů *Solanum tuberosum* a zároveň i podmínky pro štěpení DNA pomocí restrikčního enzymu BamHI. Díky tomu se podařilo identifikovat základní typy cytoplazmatické DNA u vybraných odrůd.
- Dále bylo zpracováno 11 fenotypových vlastností a statisticky vyhodnoceno v softwarech Statistika, DARWIN 6 a RStudio.
- Z výsledků vyplývá, že mimojaderná DNA může mít vliv na některé fenotypové znaky, ať už jde o délku vegetačního období, tvar hlíz nebo barvu dužniny. Významněji se v tomto směru projevovала zejména cytoplazma typu W.
- Přesto je potřeba brát v úvahu určitá omezení a výsledky vnímat jako první krok k hlubšímu porozumění této problematice. Pro potvrzení souvislostí by bylo vhodné navázat na tuto práci dalšími analýzami, které by zapojily i jiné metody nebo širší soubory dat.

8 Literatura

- Achakkagari, S.R., Tai, H.H., Davidson, C., De Jong, H. a Strömvik, M.V. (2021): The complete mitogenome assemblies of 10 diploid potato clones reveal recombination and overlapping variants. *DNA Research* **28**:dsab009. DOI:10.1093/dnares/dsab009
- Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. a Walter, P. (2005): *Základy buněčné biologie – Úvod do molekulární biologie buňky*. Praha: Espero.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. a Walter, P. (2002): *The Genetic Systems of Mitochondria and Plastids*. Garland Science.
- Alp Furan, M., Yildiz, F. a Kaya, O. (2025): *Exploring the Complete Chloroplast Genomes of Key Lamiaceae Species Uncovers the Secrets of Evolutionary Dynamics and Phylogenetic Relationships*. *Journal of Plant Growth Regulation*, Springer: 1–14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-025-11666-y>
- Ames, M. a Spooner, D.M. (2008): DNA from herbarium specimens settles a controversy about origins of the European potato. *American Journal of Botany* **95**(2):252–257.
- Aversano, R., Savarese, S., De Nova, J.M., Frusciante, L., Punzo, M. a Carputo, D. (2009): Genetic stability at nuclear and plastid DNA level in regenerated plants of *Solanum* species and hybrids. *Euphytica* **165**:353–361.
- Ball, S.G., Subtil, A., Bhattacharya, D., Moustafa, A., Weber, A.P.M., Gehre, L., Colleoni, C., Arias, M.C., Cenci, U. a Dauvillée, D. (2013): Metabolic effectors secreted by bacterial pathogens: essential facilitators of plastid endosymbiosis? *The Plant Cell* **25**:7–21.
- Barone A. 2004. Molecular marker-assisted selection for potato breeding. *American Journal of Potato Research* **81**:111–117. Potato Association of America.
- Barreau, A., Ibarra, J.T., Wyndham, F.S. a Kozak, R.A. (2019): Shifts in Mapuche Food System in Southern Andean Forest Landscapes: Historical Processes and Current Trends of Biocultural Homogenization. *Mountain Research and Development* **39**:R12–R23.
- Bártová, E., Sychra, O., Mrlík, V., Šíroky, P. a Literák, I. (2005): *Návody k praktickým cvičením z biologie*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita.
- Belcher, S., Williams-Carrier, R., Stiffler, N. a Barkan, A. (2015): Large-scale genetic analysis of chloroplast biogenesis in maize. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1847**:1004–1016.
- Bernardo R. 2020. Reinventing quantitative genetics for plant breeding: something old, something new, something borrowed, something BLUE. *Heredity* **125**:375–385.
- Bhattacharya, J., Nitnavare, R.B., Bhatnagar-Mathur, P. a Reddy, P.S. (2024): Cytoplasmic male sterility-based hybrids: mechanistic insights. *Planta* **260**(4):100.

- Bhattacharya, S. a Mandal, S.S. (1997): Interaction of surfactants with DNA. Role of hydrophobicity and surface charge on intercalation and DNA melting. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1323**:29–44.
- Bonner, W.D. a Voss, D.O. (1961): Some Characteristics of Mitochondria Extracted from Higher Plants. *Nature* **191**(4789):682–684.
- Bradshaw, J.E. (2021): Domestication to Twenty-First-Century Potato Cultivars. *Potato Breeding: Theory and Practice*, 3–51.
- Bradshaw, J.E., Bryan, G.J. a Ramsay, G. (2006): Genetic resources (including wild and cultivated *Solanum* species) and progress in their utilisation in potato breeding. *Potato Research* **49**:49–65.
- Bryan, G.J., McNicoll, J., Ramsay, G., Meyer, R.C. a De Jong, W.S. (1999): Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of *Solanaceous* plants. *Theoretical and Applied Genetics* **99**:859–867.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2018): Speisekartoffeln sollten niedrige Gehalte an Glykoalkaloiden (Solanin) enthalten. Stellungnahme. Available from: <https://www.bfr.bund.de/cm/343/speisekartoffeln-sollten-niedrige-gehalte-an-glykoalkaloiden-enthalten.pdf> [cit. 7. 2. 2025].
- Bush, M.S. a McCann, M.C. (1999): Pectic epitopes are differentially distributed in the cell walls of potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Physiologia Plantarum* **107**(2):201-213.
- Caldiz, D.O. (2023): *Potato production in South America*. In: Singh, B. a Raigond, P. (eds.): *Potato Production Worldwide*, 409–433. London: Academic Press.
- Camus, M.F., Alexander-Lawrie, B., Sharbrough, J. a Hurst, G.D.D. (2022): Inheritance through the cytoplasm. *Heredity* **129**(1):31–43.
- Cárdenas, P.D., Sonawane, P.D., Heinig, U., Bocobza, S.E., Burdman, S. a Aharoni, A. (2015): The bitter side of the nightshades: Genomics drives discovery in *Solanaceae* steroidal alkaloid metabolism. *Phytochemistry* **113**:24–32.
- Centre UIET, Environment OASU of SD and, Branch UNEPW. 1998. Source book of alternative technologies for freshwater augmentation in Latin America and the Caribbean. International Environmental Technology Centre.
- Cho, K.S., Cho, J.H., Im, J.S., Choi, J.G., Park, Y.E., Hong, S.Y., Kwon, M., Kang, J.H. a Park, T.H. (2017): The complete mitochondrial genome sequences of potato (*Solanum tuberosum* L., *Solanaceae*). *Mitochondrial DNA Part B: Resources* **2**(2):781–782.
- Choi, S.H., Kozukue, N., Kim, H.J. a Friedman, M. (2016): Analysis of protein amino acids, non-protein amino acids and metabolites, dietary protein, glucose, fructose, sucrose, phenolic, and flavonoid content and antioxidative properties of potato tubers, peels, and cortexes (pulpes). *Journal of Food Composition and Analysis* **50**:77–87.

- Cooper, G.M. (2000): Chloroplasts and Other Plastids. Sinauer Associates. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9905/> (accessed January 2025).
- D'Amelia, V., Sarais, G., Fais, G., Dessì, D., Giannini, V., Garramone, R., Carputo, D. a Melito, S. (2022): Biochemical Characterization and Effects of Cooking Methods on Main Phytochemicals of Red and Purple Potato Tubers, a Natural Functional Food. *Foods* **11**:384.
- Daniell, H., Khan, M.S. a Allison, L. (2002): Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. *Trends in Plant Science* **7**(2):84–91.
- Darwin, C. (1959): *The Voyage of the Beagle*. New York: Harper & Row.
- Davenport, L.J. (2004): Genera *Solanacearum*: The Genera of *Solanaceae* Illustrated, Arranged According to a New System by Armando T. Hunziker. *Systematic Botany* **29**(1):221–222.
- David, P. et al. (2022): Extreme mitochondrial DNA divergence underlies genetic conflict over sex determination. *Current Biology* **32**(10):2325–2333.e6.
- Diane Turner, S. (2012): Effects of Bioactive Compounds from Different Potato Genotypes on Prostate Cancer Development in Athymic Nude Mice [Disertační práce]. Texas A&M University, College Station.
- Dinno, A. 2015. Nonparametric pairwise multiple comparisons in independent groups using Dunn's test. *Stata Journal* **15**:292–300.
- Dionisio, K.L., Phillips, K., Price, P.S., Grulke, C.M., Williams, A., Biryol, D., Hong, T. a Isaacs, K.K. (2018): The Chemical and Products Database, a resource for exposure-relevant data on chemicals in consumer products. *Scientific Data* **5**:180125. DOI: 10.1038/sdata.2018.125
- Dong, F., Song, J., Naess, S.K., Helgeson, J.P., Gebhardt, C. a Jiang, J. (2000): Development and applications of a set of chromosome-specific cytogenetic DNA markers in potato. *Theoretical and Applied Genetics* **101**(6):1001–1007.
- FAO (2025): Crops and livestock products. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Accesed February 2025).
- Fauron, C., Allen, J., Clifton, S. a Newton, K. (2004): Plant Mitochondrial Genomes. In: Daniell, H. a Chase, C. (eds.): *Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles*, 151–177. Dordrecht: Springer.
- Flood, P.J. et al. (2020): Reciprocal cybrids reveal how organellar genomes affect plant phenotypes. *Nat. Plants* **6**:13–21.
- Fosket, D.E. (1994): The Size and Complexity of Plant Genomes. In: *Plant Growth and Development*, 79–152. San Diego: Academic Press.
- Frank, K., Nagy, E., Taller, J., Wolf, I. a Polgár, Z. (2024): Characterisation of the complete chloroplast genome of *Solanum tuberosum* cv. White Lady. *Biologia Futura* **75**:401–410.

- Gascuel O, Steel M. 2006. Neighbor-joining revealed. *Molecular Biology and Evolution* **23**:1997–2000.
- Gavrilenko, T. (2007): *Potato Cytogenetics*. In: Vreugdenhil, D. et al. (eds.): *Potato Biology and Biotechnology: Advances and Perspectives*, 203–216. Amsterdam: Elsevier.
- Ghannam MG, Varacallo MA. 2023. Biochemistry, Polymerase Chain Reaction. StatPearls PMID: 30571074.
- Ghasemzadeh, A. a Ghasemzadeh, N. (2011): Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plant Research* **5**(31):6697–6703.
- Goryunova, S. et al. (2023): Comparative Study of Plastomes in *Solanum tuberosum* with Different Cytoplasm Types. *Plants* **12**(23):3995.
- Goss, E.M., Tabima, J.F., Cooke, D.E.L., Restrepo, S., Fry, W.E., Forbes, G.A., Fieland, V.J., Cardenas, M. a Grünwald, N.J. (2014): The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* originated in central Mexico rather than the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**:8791–8796.
- Gray, M.W. (2011): Mitochondrial genome diversity and the evolution of mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Biochemistry and Cell Biology* **60**:157–171.
- Gray, M.W. a Ford, W. (1982): Has the Endosymbiont Hypothesis Been Proven? *Microbiological Reviews* **46**(1):1–42.
- Green, M.R. a Sambrook, J. (2019): Analysis of DNA by Agarose Gel Electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, (1):30602561. DOI: 10.1101/pdb.top100388
- Green MR, Sambrook J. 2019. Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harb Protoc.* 2019(6). DOI:10.1101/pdb.top095109.
- Greiner, S., Rauwolf, U., Meurer, J. a Herrmann, R.G. (2011): The role of plastids in plant speciation. *Mol Ecol.* **20**(4):671-91.
- Gronnier, J., Legrand, A., Loquet, A., Habenstein, B., Germain, V. a Mongrand, S. (2019): Mechanisms governing subcompartmentalization of biological membranes. *Current Opinion in Plant Biology* **52**:114–123.
- Grun, P. (1990): The evolution of cultivated potatoes. *Economic Botany* **44**(1):39–55.
- Gualberto, J.M., Mileschina, D., Wallet, C., Niazi, A.K., Weber-Lotfi, F. a Dietrich, A. (2014): The plant mitochondrial genome: Dynamics and maintenance. *Biochimie* **100**:107–120.
- Haan, S. a Rodriguez, F. (2016): Potato Origin and Production. In: Singh, J. a Kaur, L. (eds.): *Advances in Potato Chemistry and Technology*, 1–32. London: Elsevier.
- Hardigan, M.A. et al. (2017): Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**(46):E9999–E10008.

- Hawkes, J.G. a Francisco-Ortega, J. (1993): The early history of the potato in Europe. *Euphytica* **70**:1–7.
- Hijmans, R.J. a Spooner, D.M. (2001): Geographic distribution of wild potato species. *American Journal of Botany* **88**(11):2101–2112.
- Hosaka, K. (2002): Distribution of the 241 bp Deletion of Chloroplast DNA in Wild Potato Species. *American Journal of Potato Research* **79**:119–123.
- Hosaka, K. a Hanneman, R.E. (1988): Origin of chloroplast DNA diversity in the Andean potatoes. *Theoretical and Applied Genetics* **76**:333–340.
- Hosaka, K. a Sanetomo, R. (2009): Comparative differentiation in mitochondrial and chloroplast DNA among cultivated potatoes and closely related wild species. *Genes & Genetic Systems* **84**(5):403–413.
- Hosaka, K. a Sanetomo, R. (2012): Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. *Theoretical and Applied Genetics* **125**(6):1237–1251.
- Hossain, M.J., Bakhsh, A., Joyia, F.A., Aksoy, E., Gökçe, N.Z.Ö. a Khan, M.S. (2023): Engineering of insecticidal hybrid gene into potato chloroplast genome exhibits promising control of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Transgenic Research* **32**:497–512.
- Houssier, C., Hardy, B. a Fredericq, E. (1974): Interaction of ethidium bromide with DNA. Optical and electrooptical study. *Biopolymers* **13**(6):1141–1160.
- International Potato Center (2025): The potato: The world's most important non-grain food crop. Available from <https://cipotato.org/potato/> (accessed April 2025).
- Jackson, M.A. (2021): The Symbolic Value of Food in Moche Iconography. In: Swenson, E. a Warner, D. (eds.): *The Past Ahead: Heritage and Archaeology in the Andes*, 257–279. Cham: Springer.
- James, E. (2010): The Respiration of Arum Spadix. A Rapid Respiration, Resistant to Cyanide. *The New Phytologist* **49**(3):353–374.
- James, W. a Elliott, D.C. (1955): Cyanide-resistant Mitochondria from the Spadix of an Arum. *Nature* **175**:89–90.
- Jarcho, J. (2001): Restriction fragment length polymorphism analysis. *Current Protocols in Human Genetics*, Chapter 2 :Unit 2.7.
- Jayanty, S.S., Diganta, K. a Raven, B. (2019): Effects of Cooking Methods on Nutritional Content in Potato Tubers. *American Journal of Potato Research* **96**(2):183–194.
- Jensen, P.H., Strobel, B.W., Hansen, C.H., Hansen, B. a Jacobsen, O.S. (2009): Fate of Toxic Potato Glycoalkaloids in a Potato Field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**(8):3182–3187.

- Jolliffe, I.T. (2002): *Principal Component Analysis*. 2. vyd. New York: Springer-Verlag.
- Kaundal, R., Sahu, S.S., Verma, R. a Weirick, T. (2013): Identification and characterization of plastid-type proteins from sequence-attributed features using machine learning. *BMC Bioinformatics* **14**:157.
- Keeling, P.J. (2004): Diversity and evolutionary history of plastids and their hosts. *Molecular Biology and Evolution* **21**(4):682–688.
- Kim, E. a Archibald, J.M. (2009): Diversity and Evolution of Plastids and Their Genomes. In: Sandelius, A.S. a Aronsson, H. (eds.): *The Structure and Function of Plastids*. *Plant Cell Monographs* **13**:1–39. Berlin: Springer.
- Kisaki, T., Yoshida, N. a Imai, A. (1971): Glycine decarboxylase and serine formation in spinach leaf mitochondrial preparation with reference to photorespiration. *Plant and Cell Physiology* **12**(2):275–288.
- Klingbeil, E.A., Cawthon, C., Kirkland, R. a de La Serre, C.B. (2019): Potato-resistant starch supplementation improves microbiota dysbiosis, inflammation, and gut–brain signaling in high fat-fed rats. *Nutrients* **11**(11):2710.
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M. a Spooner, D.M. (2004): *Solanaceae* – a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics* **5**(3): 285–291.
- Kui, L., Majeed, A., Ahmed, S., Khan, M.S.S., Islam, F., Chen, J. a Dong, Y. (2022): *Solanum tuberosum* (potato). *Trends in Genetics* **38**(12):1193–1195.
- Li, Q.J., Su, N., Zhang, L., Tong, R.C., Zhang, X.H., Wang, J.R., Chang, Z.Y., Zhao, L. a Potter, D. (2020): Chloroplast genomes elucidate diversity, phylogeny, and taxonomy of *Pulsatilla* (*Ranunculaceae*). *Scientific Reports* **10**:19761.
- Li, X. et al. (2022): Genomic and transcriptomic-based analysis of agronomic traits in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) pure line IMA1. *Frontiers in Plant Science* **13**:1028885.
- Lian, Q., Zhang, S., Wu, Z., Zhang, C., Negrão, S. (2024): Assembly and comparative analysis of the mitochondrial genome in diploid potatoes. *Plant Cell Reports* **43**:1–13.
- Lian, W. et al. (2022): The genus *Datura* L. (*Solanaceae*): A systematic review of botany, traditional use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Phytochemistry* **204**: 113446.
- Liu, Q., Li, X. a Chen, H. (1995): The Structural Differences Between Animal and Plant Mitochondrial Genomes – Two Evolutionary Scenarios. *Zoological Research* **16**(2):132–145.
- Lorenz TC. 2012. Polymerase chain reaction: basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *J Vis Exp.* (63):e3998. DOI: [10.3791/3998](https://doi.org/10.3791/3998)
- Mackay IM, Arden KE, Nitsche A.2002. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res.* **30**(6):1292-305.

- Machida-Hirano, R. (2015): Diversity of potato genetic resources. *Breeding Science* **65**(1):26–40.
- Martin, W.F. (2017): Symbiogenesis, gradualism, and mitochondrial energy in eukaryote origin. *Periodicum Biologorum* **119**(3):141–158.
- Martínez, M., Vargas-Ponce, O., Rodríguez, A., Chiang, F. a Ocegueda, S. (2017): *Solanaceae family in Mexico*. *Botanical Sciences* **95**(1):131–145.
- Martínez-Zapater, J.M., Gil, P., Capel, J. a Somerville, C.R. (1992): Mutations at the Arabidopsis CHM locus promote rearrangements of the mitochondrial genome. *The Plant Cell* **4**(8):889–899.
- McCauley, M.M. a Evert, R.F. (1988): Morphology and vasculature of the leaf of potato (*Solanum tuberosum*). *American Journal of Botany* **75**(3):377–390.
- Mergaert, P. (2018): Role of antimicrobial peptides in controlling symbiotic bacterial populations. *Natural Product Reports* **35**(3):336–356.
- Millerd, A., Bonner, J., Axelrod, B. a Bandurski, R. (1951): Oxidative and Phosphorylative Activity of Plant Mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **37**(12):855–862.
- Mishra, M.K., Jingade, P. a Huded, A.K.C. (2022): Applications of omics technologies in *Coffea*. In: Ramu, V.S. (ed.): *Omics in Horticultural Crops*, 383–426. London: Academic Press.
- Møller, I.M., Rasmusson, A.G. a Van Aken, O. (2021): Plant mitochondria – past, present and future. *Plant Journal* **108**(3):601–625.
- Morris, W.L. a Taylor, M.A. (2017): The *Solanaceous* Vegetable Crops: Potato, Tomato, Pepper, and Eggplant. In: Thomas, B. (ed.): *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 55–58. 2. vyd. London: Academic Press.
- Navarre, D.A., Shakya, R. a Hellmann, H. (2016): Vitamins, Phytonutrients, and Minerals in Potato. In: Singh, J. a Kaur, L. (eds.): *Advances in Potato Chemistry and Technology*, 117–166. London: Academic Press.
- Nikmah, I.A., Mustaqim, W.A., Ardi, W.H., Rugayah, Satrio, R.D. (2025): Comparative analysis of the complete chloroplast genome of jack bean (*Canavalia ensiformis*, *Fabaceae*) revealed mutational hotspots and phylogenetic relationships. *Research Square*. DOI: 10.21203/rs.3.rs-6125303/v1.
- Nunn, N. a Qian, N. (2011): The Potato’s Contribution to Population and Urbanization: Evidence From A Historical Experiment. *The Quarterly Journal of Economics* **126**(2):593–650.
- Occhialini, A., King, G., Majdi, M., Fuentes Quispe, I.A., DeBruyn, J.M. a Lenaghan, S.C. (2024): An Optimized Version of the Small Synthetic Genome (Mini-Synplastome) for

- Plastid Metabolic Engineering in *Solanum tuberosum* (Potato). ACS Synthetic Biology **13**(3):4245–4257.
- Olsson, K., Svensson, R. a Roslund, C.A. (2004): Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. Journal of the Science of Food and Agriculture **84**(5):447–458.
- Ovchinnikova, A., Krylova, E., Gavrilenko, T., Smekalova, T., Zhuk, M., Knapp, S. a Spooner, D.M. (2011): Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section Petota: *Solanaceae*). Botanical Journal of the Linnean Society **165**(2):107–155.
- Palmer, J.D., Jorgensen, R.A. a Thompson, W.F. (1985): Chloroplast DNA variation and evolution in *Pisum*: patterns of change and phylogenetic analysis. Genetics **109**(2):195–213.
- Park, H.S., Lee, W.K., Lee, S.C., Lee, H.O., Joh, H.J., Park, J.Y., Kim, S., Song, K. a Yang, T.J. (2021): Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in cucumber revealed by four reciprocal F1 hybrid combinations. Scientific Reports **11**:1–11.
- Park, T.-H. (2024): Complete chloroplast genome sequence of *Solanum mochiense*, one of the tuber-bearing potato relatives. Mitochondrial DNA Part B, **9**(2):1586–1591.
- Perrier X., Jacquemoud-Collet J.P. (2006). DARwin software. Available from <http://darwin.cirad.fr/> (accessed May 2024)
- Perrier, X., Flori, A. , Bonnot, F. (2003). Data analysis methods. In: Hamon, P., Seguin, M., Perrier, X. ,Glaszmann, J. C. Ed., Genetic diversity of cultivated tropical plants. Enfield, Science Publishers. Montpellier. pp 43–76.
- Piwowarczyk TC, Oliveira G, Loureno L, Behlau M. 2012. Vocal symptoms, voice activity, and participation profile and professional performance of call center operators. Journal of Voice **26**:194–200.
- Ramesh R, Munshi A, Panda SK.1992. Polymerase chain reaction. Natl Med J India. **5**(3):115–9.
- Riffenburg R. 2006. Statistics in Medicine (Second Edition). Academic Press, Burlington.
- Rogers DJ, Tanimoto TT. 1960. A computer program for classifying plants. Science **132**:1115–1118.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. Mol. Biol. Evol. **4**(4):406–425.
- Singh, J. a Kaur, L. (2009). Advances in Potato Chemistry and Technology. 1. vyd. London: Academic Press.
- Siqueira, M.V.B.M., do Nascimento, W.F., Pereira, D.A., Cruz, J.G., Vendrame, L.P.C. a Veasey, E.A. (2023). Origin, domestication, and evolution of underground starchy crops of South America. In: Chandran, S. a Singh, S. (eds.): Starchy Crops Morphology, Extraction,

- Properties and Applications. Vol. 1: Underground Starchy Crops of South American Origin, 17–42. London: Academic Press.
- Slavík, B. (2000). Květena České republiky 6. Praha: Academia.
- Slavin, J.L. (2013). Carbohydrates, Dietary Fiber, and Resistant Starch in White Vegetables: Links to Health Outcomes. *Advances in Nutrition* **4**(3):351S–355S.
- Sood, S., Kumar, A., Singh, B., S.S. a Bhardwaj, V. (2021). Cytoplasmic genome of Indian potato varieties and breeding lines vis-à-vis prospects in potato breeding. *Heliyon* **7**(3): e06365.
- Spooner, D. M. and Knapp, S. 2013. *Solanum tuberosum*. *Solanaceae* source. Available from <https://solanaceaesource.myspecies.info/content/solanum-tuberosum> (accessed December 2024).
- Spooner, D.M., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R. a Bryan, G.J. (2005). A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**(41):14694–14699.
- Spooner, D.M. a Hijmans, R.J. (2000). Potato Systematics and Germplasm Collecting, 1989–2000. *Amer J of Potato Res*, **78**:237-268.
- Struik, P.C. a Wiersema, S.G. (1999). Seed Potato Technology. *Experimental Agriculture*, **37**(01):125–134.
- Sun W, Ma Z, Chen H, Liu M. 2019. MYB Gene Family in Potato (*Solanum tuberosum* L.): Genome-Wide Identification of Hormone-Responsive Reveals Their Potential Functions in Growth and Development. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**(19):4847.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M. a Murphy, A. (2015). *Plant Physiology and Development*. 6. vyd. Sunderland: Sinauer Associates.
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2012). BamHI product information. Available from: <https://www.thermofisher.com> (accessed April 2025).
- Tolessa, E. a Tolessa, E.S. (2018). Importance, Nutrient Content and Factors Affecting Nutrient Content of Potato. *American Journal of Food Science and Nutrition* **5**(2):25–30.
- Uluwaduge, D. (2018). Glycoalkaloids, bitter tasting toxicants in potatoes: A review. *International Journal of Food Science and Nutrition* **3**(6):188–193.
- U.S. Department of Agriculture. 2025. FoodData Central: Potatoes, flesh and skin, raw (FDC ID: 171705). USDA. Available from : <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171705/nutrients> (accessed April 18, 2025).
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. (2022). Seznam doporučených odrůd – Brambory 2022. Brno: ÚKZÚZ.

- van Lieshout, N. et al. (2020). Solyntus, the New Highly Contiguous Reference Genome for Potato (*Solanum tuberosum*). *G3: Genes|Genomes|Genetics* **10**(10):3489–3495.
- Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. (2025). GRIN Czech – Národní informační systém genetických zdrojů rostlin. Available from <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx> (accessed April 2025)
- Wayne, R. (2009). Chloroplasts. *Plant Cell Biology*, 207–236. London: Academic Press.
- Wicke, S., Schneeweiss, G.M., dePamphilis, C.W., Müller, K.F. a Quandt, D. (2011). The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function. *Plant Molecular Biology* **76**(3–5):273–297.
- Wise, R.R. a Hooper, J.K. (2007). *The Structure and Function of Plastids*. 1. vyd. Dordrecht: Springer.
- Witzany, G. (2006). Serial Endosymbiotic Theory (SET): The biosemitic update. *Acta Biotheoretica* **54**(2):103–117.
- Woolfe, J.A. (1987). Structure of the Potato Tuber and Composition of Tuber Dry Matter. *The Potato in the Human Diet*, 7–18. Cambridge: Cambridge University Press.
- Yan, L.J. et al. (2023). Comparative analysis of 343 plastid genomes of *Solanum* section Petota: Insights into potato diversity, phylogeny, and species discrimination. *Journal of Systematics and Evolution* **61**(3):599–612.
- Yates AD et al. 2022. Ensembl Genomes 2022: an expanding genome resource for non-vertebrates. *Nucleic Acids Research*, 50:D996–D1003.
- Yoshida, K. et al. (2013). The rise and fall of the *Phytophthora infestans* lineage that triggered the Irish potato famine. *eLife*, 2: e00731. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.00731>
- Zaheer, K. a Akhtar, M.H. (2016). Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**(5): 711–721.
- Zhang, C.-L. et al. (2025). A comprehensive analysis of the complete *Dendrobium chrysotoxum* mitogenome reveals a multiple-circular structure and horizontal gene transfer from fungi. *Ornamental Plant Research* **5**(1): e007.
- Zhao, X. et al. (2023). High-Quality Genome Assembly and Genome-Wide Association Study of Male Sterility Provide Resources for Flax Improvement. *Plants* **12**(15): 2773.
- Zhao, X., Andersson, M. a Andersson, R. (2018). Resistant starch and other dietary fiber components in tubers from a high-amylose potato. *Food Chemistry* **251**: 58–63.
- Zimmermann, H.H. et al. (2019). Chloroplast and mitochondrial genetic variation of larches at the Siberian tundra-taiga ecotone revealed by de novo assembly. *PLoS ONE* **14**(5): e0216966. DOI: 10.1371/journal.pone.0216966
- Žižka, J. (2002): Situační a výhledová zpráva: Brambory. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.

- Žižka, J. (2010): Situační a výhledová zpráva: Brambory. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.
- Žižka, J. (2021): Situační a výhledová zpráva: Brambory. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.
- Žižka, J. (2022): Situační a výhledová zpráva: Brambory. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.
- Žižka, J. (2023): Situační a výhledová zpráva: Brambory. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha.

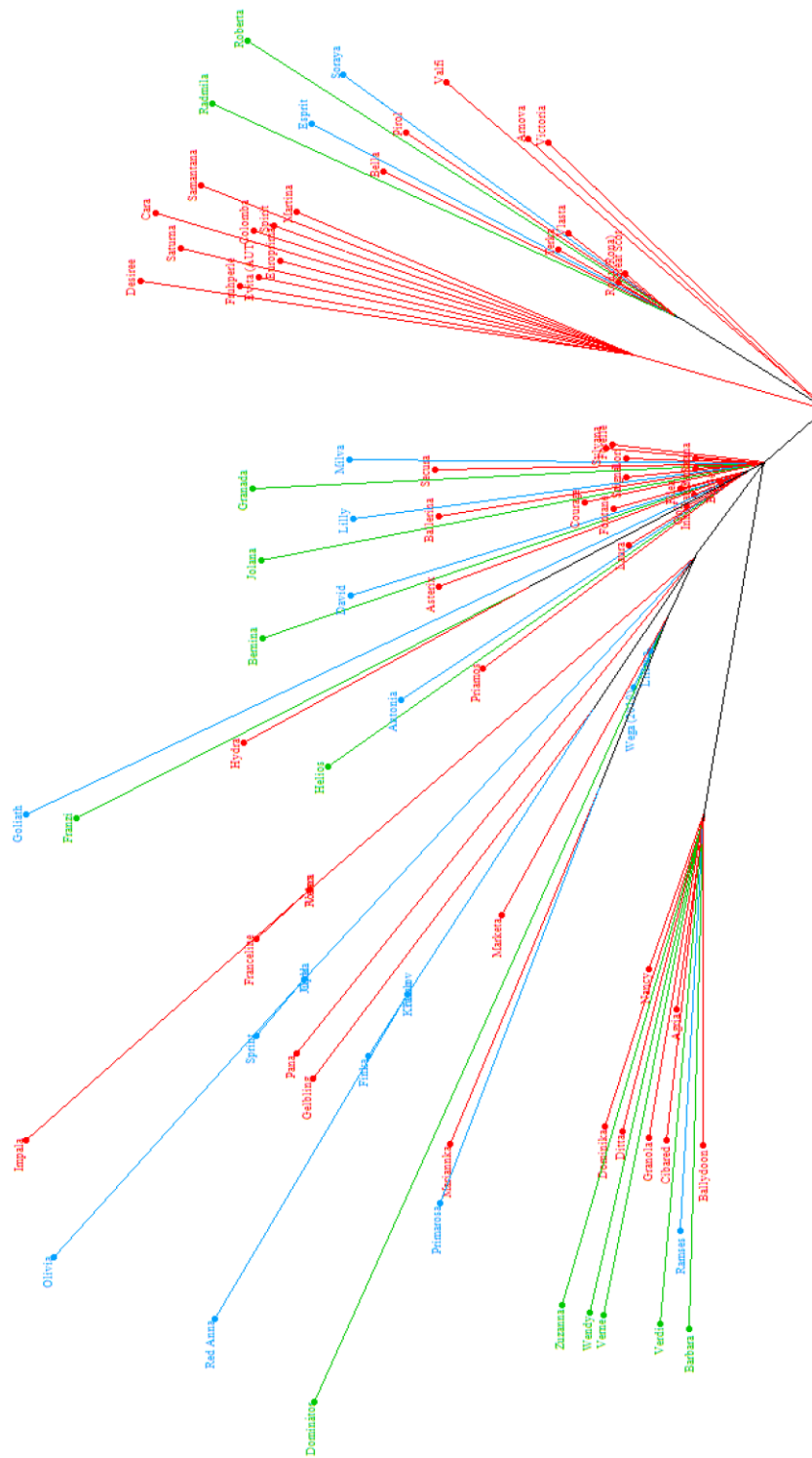
9 Seznam použitých zkratek a symbolů

BfR – Bundesinstitut für Risikobewertung (Spolkový institut pro hodnocení rizik, Německo)
CG – Cytosin–Guanin, procentuální zastoupení bází C a G v DNA sekvenci
CMS – Cytoplasmic Male Sterility = cytoplazmatická samčí sterilita
cpDNA – Chloroplastová DNA (DNA obsažená v chloroplastech)
CRISPR/Cas9 – Genomové editování – Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats / CRISPR-associated protein 9
ddH₂O – Double distilled water = dvojitě destilovaná voda
DNA – Deoxyribonucleic acid = deoxyribonukleová kyselina
EtBr – Ethidium bromid – barvivo pro detekci DNA při gelové elektroforéze
IRa a IRb – Inverted Repeats a a b = inverzní repetice v plastidovém genomu
LSC – Large Single Copy region = velká jedinečná oblast plastidové DNA
mtDNA – Mitochondriální DNA
NADH – Nikotinamidadenin dinukleotid (redukovaný) – koenzym v metabolismu
NADPH – Nikotinamidadenin dinukleotid fosfát (redukovaný) – koenzym
NJ – Neighbour joining
ONJ – Ordinal neighbour joining
PCA – Principal Component Analysis = analýza hlavních komponent
PCR – Polymerase Chain Reaction = polymerázová řetězová reakce
ptDNA – Plastidová DNA (obecný název pro DNA v plastidech, včetně cpDNA)
PVY – Potato virus Y = virus Y bramboru
rRNA – Ribosomální RNA
RS – Rezistentní škrob (odolný vůči trávení v tenkém střevě)
SCFA – Short Chain Fatty Acids = mastné kyseliny s krátkým řetězcem
SSC – Small Single Copy region = malá jedinečná oblast plastidové DNA
tRNA – Transfer RNA = přenosová RNA

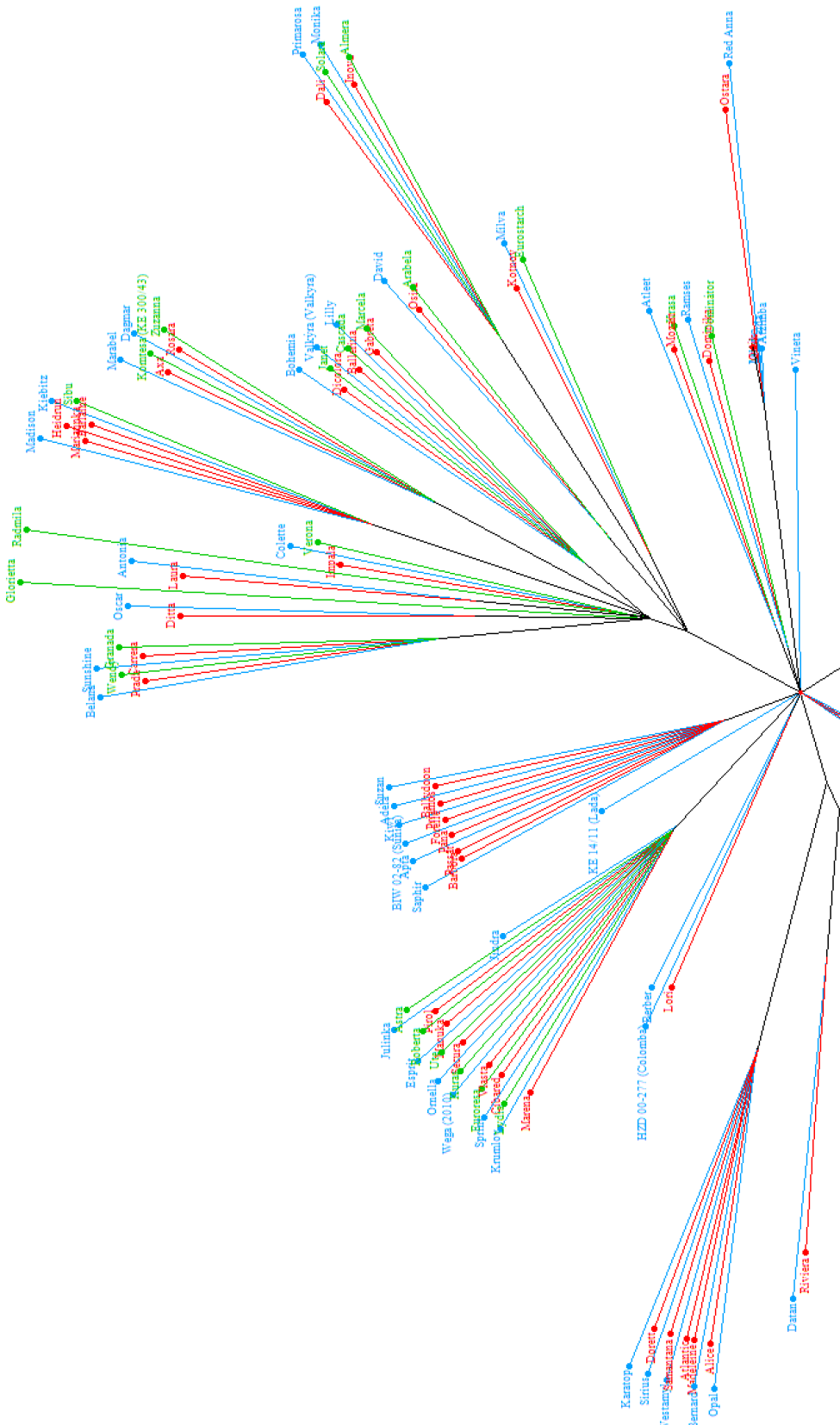
10 Samostatné přílohy

Příloha 1 Detailní popis jednotlivých vlastností z databáze GRIN
(<https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>)

028	Kód	Popis	028	Kód	Popis	030	Kód	Popis	031	Kód	Popis
1	long	very flattened intermediate slightly flattened single flattened full	1	very flattened	deformed non uniform less uniform uniform very uniform	1	deformed	very small very small - small small small - intermediate intermediate intermediate - large large large - extreme large extreme large			
2	kidney long		3	intermediate		3	non uniform				
3	long oval-oval		5	slightly flattened		5	less uniform				
4	oval to long-oval		7	single flattened		7	uniform				
5	oval		9	full		9	very uniform				
6	spherical-oval	round-spherical spherical							6	intermediate - large	
7	round								7	large	
8	round-spherical								8	large - extreme large	
9	spherical								9	extreme large	
032	Kód	Popis	033	Kód	Popis	034	Kód	Popis	035	Kód	Popis
2	very unbalanced - unbalanced	unbalanced unbalanced - medium-balanced medium-balanced medium-balanced well-balanced well-balanced - very well-balanced very well-balanced	1	bad-looking	bad-looking - less good-looking less good-looking less good-looking - medium good-looking medium good-looking - good-looking medium good-looking - very good-looking very good-looking	1	very deep	cracking wrinkled corky rough moderate rough net glabrous			
3	unbalanced		2	bad-looking - less good-looking		2	very deep - deep				
4	unbalanced - medium-balanced		3	less good-looking		3	deep				
5	medium-balanced		4	less good-looking - medium good-looking		4	deep - intermediate				
6	medium-balanced		5	medium good-looking		5	intermediate				
7	well-balanced		6	medium good-looking - good-looking		6	intermediate - shallow				
8	well-balanced - very well-balanced		7	good-looking		7	shallow				
			8	good-looking - very good-looking		8	shallow - very shallow				
9	very well-balanced		9	very good-looking		9	very shallow				
036	Kód	Popis	039	Kód	Popis	045	Kód	Popis			
2	grey	light grey light red red pink yellow-brown uncoloured other	1	white	white - slightly yellowish slightly yellowish slightly yellowish - yellowish yellowish yellowish - yellow yellow yellow - deep yellow deep yellow	1	extremely early < 60 days	extremely early < 60 days very early 60- 70 days early 71- 80 days middle-early 81- 90 days middle-early middlelate 91-110 days middle-late 111-120 days late 121-130 days very late 131-140 days extremely late >140 days			
3	light grey		2	white - slightly yellowish		2	very early 60- 70 days				
4	light red		3	slightly yellowish		3	early 71- 80 days				
5	red		4	slightly yellowish - yellowish		4	middle-early 81- 90 days				
6	pink		5	yellowish		5	middle-early middlelate 91-110 days				
7	yellow-brown		6	yellowish - yellow		6	middle-late 111-120 days				
8	uncoloured		7	yellow		7	late 121-130 days				
			8	yellow - deep yellow		8	very late 131-140 days				
9	other		9	deep yellow		9	extremely late >140 days				

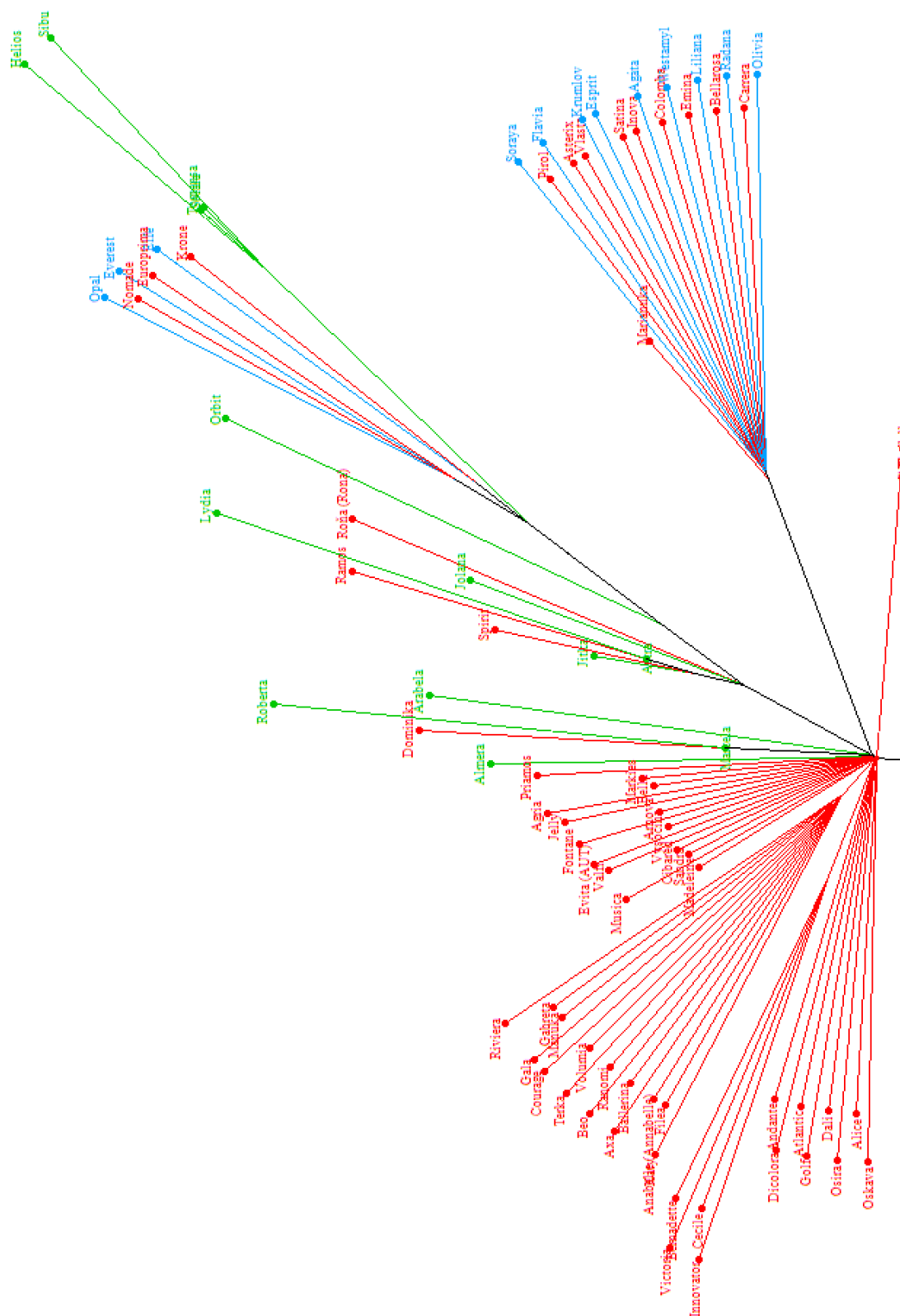


Příloha 5 Dendrogram pro znak 028 vytvořený metodou ONJ. Barvy značí typy cytoplazmy, zobrazení je přibližné.

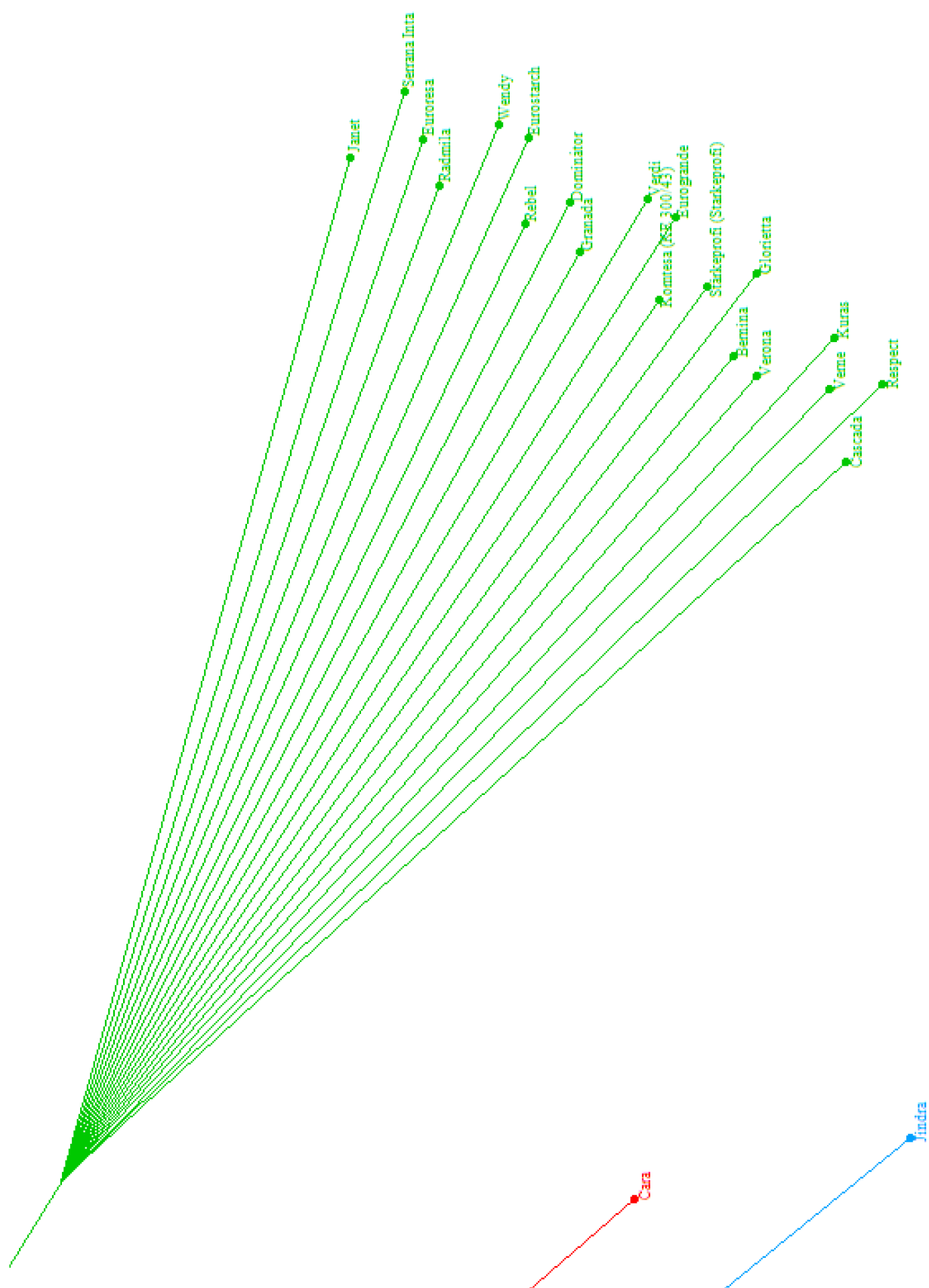


[illegible]

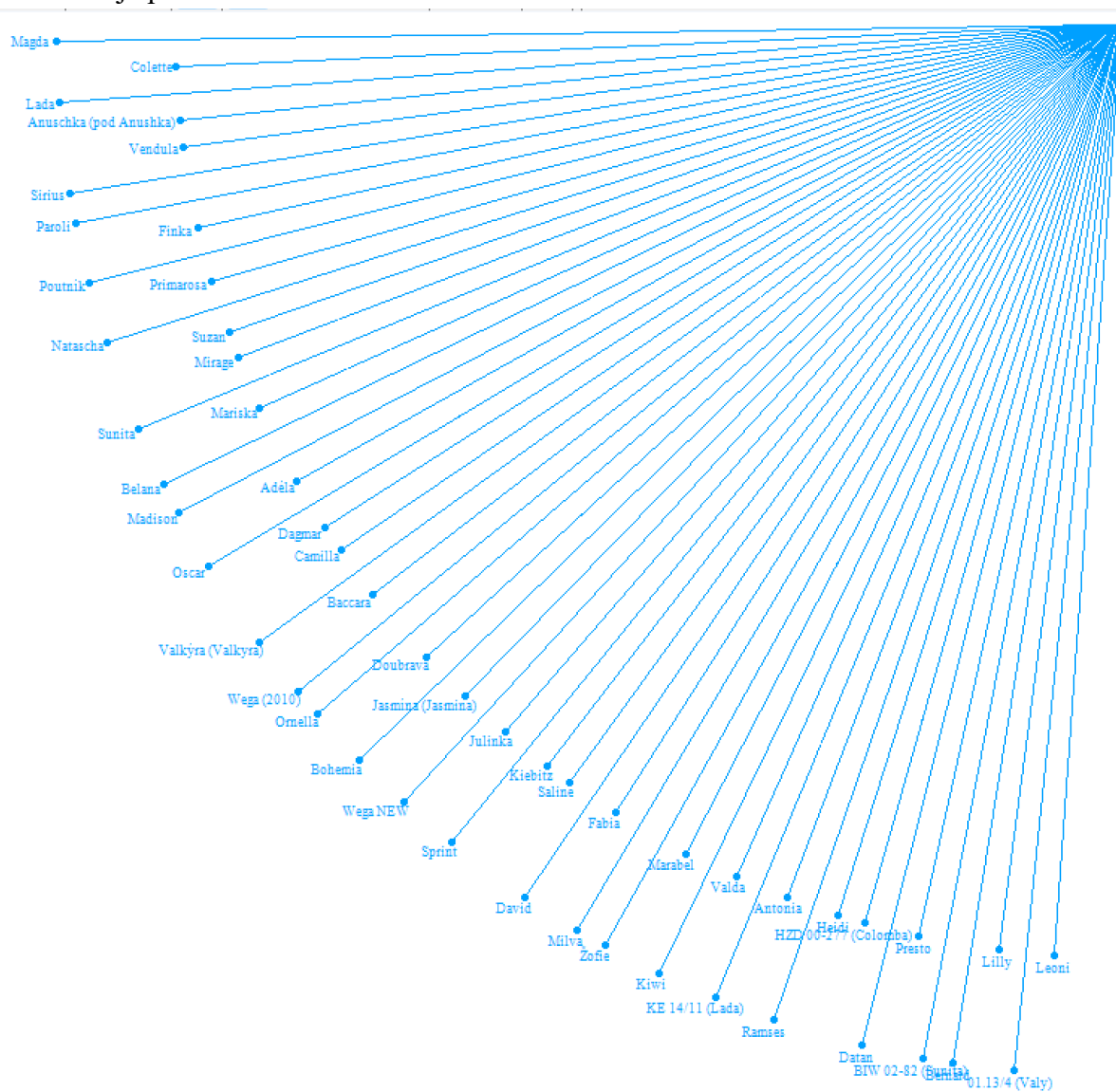
Příloha 8 Dendrogram pro znak 033 vytvořený metodou ONJ. Barvy značí typy cytoplazmy, zobrazení je přibližné.



Příloha 9 Dendrogram pro znak 033 vytvořený metodou ONJ. Barvy značí typy cytoplazmy, zobrazení je přibližné.



Příloha 10 Dendrogram pro znak 033 vytvořený metodou ONJ. Barvy značí typy cytoplazmy, zobrazení je přibližné.



Příloha 11 Seznam hodnocených odrůd bramboru s přiřazeným typem cytoplazmy a hodnotami sledovaných znaků.

Název odrůdy	Cytoplazma	028	029	030	031	032	033	034	035	036	039	045
Adorata	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Anuschka	D	6	9	7	5	5	7	7	5	7	7	2
Avanti	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Bellarosa	T	6	3	7	7	5	7	7	9	5	7	2
Carrera	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Colette	D	4	5	7	6	7	7	7	9	7	6	2
Colomba	T	6	7	7	5	6	7	7	9	7	7	3
Corinna	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Finka	D	6	5	7	7	5	7	7	4	7	7	NA
Glorietta	W	3	7	7	6	6	5	7	5	7	7	2
Libra	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Impala	T	4	NA	NA	7	4	NA	7	9	7	3	1
Inova	T	4	7	7	6	5	7	7	5	7	6	2
Katy	T	6	7	5	5	5	5	5	5	7	7	2
Lada	D	6	7	NA	6	7	5	5	n	7	7	2
Lea	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Magda	D	6	9	7	5	7	5	7	9	7	6	2
Mariannka	T	9	7	7	6	7	7	6	9	7	7	2
Marta	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mikado	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Monika	D	4	7	7	6	5	6	7	5	7	5	2
Osira	T	9	7	7	5	7	5	5	5	7	5	2
Oskava	T	6	7	7	6	6	5	7	4	7	7	2
Paroli	D	9	7	7	5	8	5	7	5	7	7	2
Prada	T	5	5	5	6	5	7	7	9	7	7	2
Primabelle	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Primarosa	D	4	7	7	8	7	7	7	5	5	7	2

Goldmarie	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Graziosa	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
HZD12-1634	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Jasmína (Jasmina)	D	3	7	7	7	5	7	7	7	5	7	7	7	7	5	7	9	3	3
Julinka	D	6	9	9	7	7	6	7	7	9	9	7	7	7	9	7	9	3	3
Kiebitz	D	9	9	9	9	6	7	7	7	6	7	7	7	5	6	7	3	3	3
La Vie	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Larissa	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Madison	D	9	9	9	7	5	4	5	4	5	4	5	4	4	5	7	1	3	3
Manuka	T	6	9	9	5	7	5	7	7	6	7	6	7	7	6	7	7	3	3
Marabel	D	5	7	7	NA	6	6	7	7	9	7	9	6	7	9	6	8	1	1
Marisol	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Noblesse	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Octa	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Oscar	D	4	5	5	NA	7	5	5	5	7	4	4	4	7	4	4	6	6	6
Pondus	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Princess	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Priska	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Queen Anna	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Secura	T	6	5	5	NA	7	5	6	8	9	9	3	3	5	5	4	4	4	4
Tamino	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Tylda	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Val Blue	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Valda	D	6	7	7	7	5	7	7	7	5	5	7	7	7	5	7	6	3	3
Valkýra (Valkyra)	D	5	7	7	7	6	5	5	7	5	5	7	7	7	5	7	7	3	3
Valmína	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ester	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Vitabella	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Vysočina	T	5	7	7	6	4	7	7	9	7	5	3
Wega (2010)	D	6	7	7	5	5	5	7	9	7	7	2
Helios	W	6	5	5	5	5	3	5	9	9	5	4
Antonia	D	4	9	7	6	7	7	7	9	7	9	4
Ayla	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Baltic Fire	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Baltic Rose	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Bella	T	5	7	7	6	7	7	7	9	5	7	4
Bernina	W	6	7	5	6	5	7	7	5	7	7	4
Bohemia	D	5	5	5	5	4	5	7	5	7	6	3
Camelia	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Cibared	T	6	7	5	5	6	7	7	6	6	NA	4
Concordia	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Danina	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
David	D	9	7	5	6	5	5	5	5	7	5	4
Ditta	T	4	7	NA	6	6	4	7	5	7	7	4
Dominika	T	6	5	5	6	6	5	7	4	7	5	4
Donata	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Eurodelta	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Florentina	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Floridana	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Gaya	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Georgina	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Godzilla	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Granada	W	5	7	7	6	5	7	7	5	7	5	4
HZD 11-1899	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Chiara	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ikarus	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Innovator	T	5	7	7	6	6	5	7	5	7	5	7	4	4
Jelly	T	5	7	7	6	7	5	7	5	7	5	7	9	7
Jule	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Laura	T	4	7	7	7	7	7	7	9	5	9	5	9	4
Lilly	D	5	7	7	7	6	7	7	NA	7	NA	7	7	4
Linus	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Lucinda	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Lukas	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Madeira	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Marlie	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Milva	D	6	5	5	6	5	5	7	9	7	9	7	7	4
Montana	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Mulberry Beauty xx	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Olivia	D	3	7	7	4	7	7	7	5	7	5	9	NA	5
Opal	D	9	9	7	5	7	3	3	4	7	4	7	5	5
Otolia	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Papageno	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Partner	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Pocahontas	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Primus	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Punchy	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Radmila	W	3	9	7	5	7	7	7	9	7	9	7	3	4
Red Anna	D	6	5	7	7	7	NA	5	NA	7	NA	7	5	8
Red Fantasy	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Respect	W	6	7	7	6	6	5	3	4	7	4	7	3	5
Rilana	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Santera	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SHC 1010	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Presto	D	5	7	7	6	7	7	7	5	7	7	2
Riviera	T	8	3	7	5	6	5	7	5	7	7	2
Saline	D	4	5	7	5	5	7	7	5	7	7	2
Sprint	D	6	5	7	7	7	5	5	5	7	5	NA
Valetta	T	4	5	7	5	7	7	7	5	7	9	2
Velox	T	4	7	7	5	6	9	7	9	7	5	1
Verona	W	4	7	7	7	7	7	7	5	7	5	2
Vienna	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Volumia	T	5	5	7	5	5	7	5	5	7	7	3
Adelina	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Aktiva	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Almera	W	4	5	7	6	6	5	7	9	7	5	3
Arabela	W	9	9	5	4	5	5	5	9	7	6	3
Arnova	T	5	5	7	8	7	7	7	4	7	7	3
Baccara	D	5	3	7	7	7	7	7	9	7	7	3
Barbora	T	6	9	9	5	5	6	6	5	7	5	3
Camilla	D	5	5	7	6	7	7	7	9	7	6	3
Campina	D	5	9	7	6	7	9	9	9	7	7	3
Euoprima	T	6	7	5	8	5	3	5	9	7	5	3
Ewelina	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Fabia	D	9	7	7	6	5	7	7	5	5	6	3
Festival	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Finessa	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Francisca	D	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Gourmandine	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Jitka	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Karin	T	2	NA	NA	7	5	NA	6	NA	3	6	3
Leontine	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

01.13/4 (Valy)	D	5	9	5	5	5	5	5	7	9	5	3	7	9	9	7	3
Agria	T	6	5	3	8	4	5	7	7	9	3	6	4				
Ambition	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Andante	T	4	5	7	7	6	7	7	7	5	7	6	4				
Arizona	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Bernadette	T	5	7	9	6	7	7	7	7	9	7	7	2				
Bernard	D	9	7	7	5	7	5	6	6	9	7	5	3				
Birgit	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Caruso	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Courage	T	6	3	7	6	7	5	7	7	4	5	7	4				
Crisper	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Crisps4all	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Esprit	D	6	7	7	6	5	7	7	7	9	7	7	4				
Evita (AUT)	T	5	5	5	6	7	5	6	6	9	7	9	4				
Excellent	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Fabiola	W	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Filea	T	3	5	7	7	7	7	7	7	9	7	7	4				
Fontane	T	5	3	7	7	7	5	7	7	9	7	6	4				
Franceline	T	5	5	5	4	5	3	7	7	9	5	7	NA				
Golf	T	5	5	7	5	5	5	7	7	4	7	3	4				
Granola	T	6	1	5	5	6	NA	NA	7	NA	9	8	4				
Husar	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
HZ 99-387 (Lucinda)	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Chopin	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Jolana	W	6	7	7	5	5	5	7	7	5	7	6	4				
Keř. rohlíčky	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Lambada	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Lanorma	T	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Wega	W		6	3	NA	4	4	NA	6	9	3	5	1
Fanal	W		9	NA	NA	7	NA	NA	4	NA	9	2	8
Bison	W		9	NA	3	NA	NA	NA	5	NA	7	5	8
Atleet	D		6	3	NA	7	NA	NA	4	NA	7	3	6
Ballydoon	T		6	NA	NA	5	NA	NA	7	NA	9	2	4
Earlaine	T		9	NA	NA	5	NA	NA	NA	NA	9	1	1
Fruhperle	T		2	5	NA	5	NA	NA	7	NA	7	7	3
Gelbling	T		2	NA	NA	NA	NA	NA	7	NA	7	7	8
Great Scot	T		9	NA	NA	5	NA	NA	5	NA	9	1	4
Hindenburg	T		4	NA	NA	7	NA	NA	6	NA	7	2	6
Kotnov	T		6	NA	NA	5	NA	NA	5	NA	9	1	7
Lori	T		6	NA	7	6	7	NA	7	NA	7	7	4
Ostara	T		6	NA	7	NA	NA	NA	7	NA	7	5	2
Pana	T		6	5	NA	NA	NA	NA	7	NA	7	7	5
Passat	T		6	NA	NA	7	NA	NA	7	NA	NA	5	2
Saturna	T		2	NA	NA	4	NA	NA	5	NA	7	5	6
Atzimba	D		6	NA	NA	NA	NA	NA	7	NA	7	7	8
Szignal	T		6	5	5	7	5	NA	6	6	2	5	4
Atlantic	T		9	9	7	7	7	7	7	4	7	1	6
Serrana Inta	W		6	7	NA	7	7	5	5	NA	7	4	6
Cara	T		8	3	5	6	7	6	6	5	9	1	6
Catriona	T		2	5	NA	6	NA	NA	7	NA	7	3	3
Dorett	T		9	7	NA	6	6	4	5	4	2	5	6
Hydra	T		6	NA	NA	6	NA	NA	4	NA	7	7	4
Orlik	D		6	NA	NA	4	NA	NA	4	NA	NA	5	NA
Rita	D		6	NA	NA	NA	NA	NA	7	NA	NA	5	3
Bintje	T		2	NA	NA	6	NA	NA	7	NA	7	5	4
Tasso	D		3	NA	3	7	NA	NA	3	NA	7	5	8

Hindenburg	T	4	NA	NA	7	NA	NA	6	NA	7	2	6
Desiree	T	3	3	NA	NA	NA	NA	7	NA	5	5	6