

RÁMCOVÁ METODIKA

**Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů
mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu**

Autoři: Ing. Petr Komínek, Ph.D., Mgr. Iva Křížková, Ph.D.

© Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha 2015

Obsah

1. VÝZNAM A HODNOTA GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ	4
2. SOUČASNÝ STAV A VYUŽITÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ V ČESKÉ REPUBLICE	5
2.1. Charakteristika genetických zdrojů mikroorganismů v ČR	5
3. VYUŽÍVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ.....	6
4. MEZINÁRODNÍ SPOLUPRÁCE	6
5. METODICKÉ ZÁSADY KONZERVACE A VYUŽÍVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ	7
5.1. Dlouhodobé uchovávání a konzervace genetických zdrojů mikroorganismů	7
5.1.1. Dlouhodobé uchovávání saprofytických a fakultativně parazitických kmenů v metabolicky aktivním stavu.....	8
5.1.2. Dlouhodobé uchovávání saprofytických a fakultativně parazitických kmenů v metabolicky málo aktivním stavu /metabolicky neaktivní	8
5.1.3. Dlouhodobé uchovávání obligátně parazitických kmenů (nekultivovatelné na umělých médiích) 9	
5.1.4. Uchovávání autotrofních mikroorganismů.....	10
5.1.5. Uchovávání členovců a drobných živočichů.....	11
5.1.6. Uchovávání dalšího biologického materiálu	11
6. CHARAKTERIZACE.....	11
6.1. Postupy charakterizace specifické pro skupiny kmenů	12
6.1.1. Fytopatogenní viry.....	12
6.1.2. Živočišné viry	12
6.1.3. Fytopatogenní bakterie	12
6.1.4. Pivovarské kvasinkové a bakteriální kmeny	13
6.1.5. Průmyslově využitelné mikroorganismy	14
6.1.6. Houby	14
6.1.7. Makromycety.....	14
6.1.8. Basidiomycety	14
6.1.9. Rzi a padlí travní	15
6.1.10. Členovci a drobní živočichové	15
6.1.11. Buněčné kultury.....	15
7. DOKUMENTACE	16
7.1. Databáze a přístupy	16
7.2. Dokumentace skupin mikroorganismů.....	17
7.2.1. Seznam a definice datových polí databáze NPM	17

8.	POSKYTOVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ.....	22
8.1.	Procedura objednávání a distribuce genetických zdrojů	22
8.2.	Informace související s genetickými zdroji	24
8.3.	Počet poskytovaných GZ mikroorganismů jejich velikost.....	24
8.4.	Evidence poskytnutých genetických zdrojů	24
8.5.	Nejčastěji poskytované GZ mikroorganismů uživatelům	24
9.	PŘEHLED SKUPIN SBÍRKOVÝCH POLOŽEK.....	26
9.1.	Systematické zařazení sbírkových položek/kmenů	27
9.2.	Přehled taxonomických kategorií zastoupených v NPM.....	27
10.	PŘÍLOHY.....	31
10.1.	Národní program mikroorganismů	31
10.2.	Struktura a koordinace NPM, poradní orgány	33
10.2.1.	Koordinace NPM.....	33
10.2.2.	Seznam účastníků NPM	33
10.2.3.	Rada genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu	35
10.3.	PŘEHLED DRUHŮ UCHOVÁVANÝCH VE SBÍRKÁCH NPM.....	37
10.3.1.	Viry a viroidy	37
10.3.2.	Bakterie	38
10.3.3.	Houby a houbám podobné organismy (Chromista, Fungi)	44
10.3.4.	Živočichové	49
10.3.5.	Sinice a řasy (Cyanobacteria, Chlorophyta, Charophyta)	51

1. VÝZNAM A HODNOTA GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ

Je zřejmé, že mikroorganismy skýtají řešení takových světových problémů, jako je zdraví a výživa, životní prostředí a chudoba světové populace (Pointing, Hyde 2001; Sugawara a kol., 1999; Wrigley a kol., 2000). Představují podstatný podíl světové biodiversity s velkou ekologickou a ekonomickou hodnotou. Jsou základem všech ekosystémů, rozkládají rostlinné a živočišné zbytky v půdě, čímž uvolňují základní živiny pro růst rostlin. Vytvářejí vzájemně výhodné vazby s rozmanitými rostlinami, například známý vztah rhizobia – motýlokvěté rostliny nebo mykorrhiza lesních dřevin. Pro lidstvo mají přímý užitek jako výrobci léků, bioagens v boji s patogeny a škůdci a pro dekontaminaci a rozklad odpadů. Pro využití celosvětové mikrobiální diverzity je klíčové její zachování a její identifikace, charakterizace a setrvalé využití pro dobro lidstva.

Bezpečné setrvalé udržení mikrobiální diverzity pro budoucnost má základní význam pro lidské zdraví. Potenciál pro nalezení nových antibiotických látek nebo nalezení organismů pro průmyslové využití je zde obrovský. Pro nalezení takových produktů jsou však zapotřebí jisté investice do lidských zdrojů a technologií. Sbírky mikroorganismů hrají významnou roli v poskytování biologického materiálu pro další výzkum a vývoj. Jejich úkol je však obrovský, zahrnuje genomiku, post-genomiku a další rozvíjející se obory v bioinformatice, což klade značné nároky na vědce a vlastní sbírky.

Žádná jednotlivá sbírka nemůže zahrnout zástupce všech mikroorganismů, ale širší koordinace pro široké sdílení informací a výhod z nich plynoucích stále chybí. Světové oblasti bohaté na biodiverzitu mají málo takových zařízení pro *ex situ* uchovávání zdrojů, které by byly v souladu s požadavky **Úmluvy o biologické rozmanitosti- Convention on Biological Diversity** (dále jen – CBD) a které by jim umožnily čerpat výhody plynoucí z místního potenciálu mikroorganismů.

Genetickým zdrojem mikroorganismů se rozumí genetický materiál mikroorganismů skutečné nebo potenciální hodnoty, nesoucí funkční jednotky dědičnosti. Obecným termínem „mikroorganismy“ se rozumí bakterie (včetně archebakterií a sinic), houby a houbám příbuzné organismy, řasy a v kontextu uchovávání genetické diverzity *ex situ* také prvoci, rostlinné a živočišné buněčné kultury, nebuněčné organismy, jako jsou viry a viroidy (priony), a buněčné struktury nesoucí genetickou informaci, jako jsou např. plasmidy.

CBD stanovuje přístupy ke genetickým zdrojům a sdílení přínosů z jejich využívání, k čemuž dávají základ právě sbírky. Cílem CBD je totiž zachování biodiverzity, udržitelný rozvoj genetických zdrojů a rovné a vzájemně prospěšné sdílení výsledných přínosů. Česká republika jako signatář CBD je povinna implementovat tyto zásady do své legislativy. Sbírky jsou proto organizovány na národní úrovni za účelem efektivního naplňování cílů CBD a pro zjednodušení přístupu ke genetickým zdrojům zejména pro výzkum a vývoj. Světové organizace sbírek mikroorganismů, jako je **World Federation for Culture Collections (WFCC)** a **European Culture Collection Organisation (ECCO)**, slouží jako diskusní fóra sdružující značné množství sbírek a jejich uživatelů, koordinují činnost sbírek a poskytují informace a technologie usnadňující další pokrok v této významné oblasti (Smith 2003).

2. SOUČASNÝ STAV A VYUŽITÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ V ČESKÉ REPUBLICE

Ochrana biodiverzity je úkolem, vyplývajícím z mezinárodních závazků. Klíčovým dokumentem je CBD, která se řadí k nejvýznamnějším mezinárodním úmluvám v oblasti životního prostředí. Česká republika podepsala CBD v roce 1993 s platností od března 1994.

Na národní úrovni jsou úkoly vyplývající ze CBD definovány do priorit, které si kladou za úkol: (i) zastavit trend současného poklesu diverzity rostlin, zvířat a mikroorganismů využívaných v zemědělství a potravinářství, podpořit využití genetických zdrojů v produkčních systémech, (ii) přejít k uchovávání genetických zdrojů v národních genobankách pomocí kryokonzervace, (iii) dopracovat legislativní rámec a zajistit jeho průběžné doplňování zákonnými normami, (iv) vytvořit podmínky pro setrvalý rozvoj všech genetických zdrojů (i těch, které neslouží k zemědělskému nebo průmyslovému využití), včetně přístupu k nim a spravedlivého rozdělení přínosů z jejich využívání. Plněním CBD je pověřeno Ministerstvo životního prostředí a Ministerstvo zemědělství ČR (dále jen MZe). MZe poskytuje v rámci Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství (dále jen Národní program) dotaci za účelem organizačního a věcného zabezpečení uchování a setrvalého využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství, které se nacházejí na území České republiky.

2.1. Charakteristika genetických zdrojů mikroorganismů v ČR

Většina mikroorganismů uchovávaných ve sbírkách, které jsou soustředěny v pracovištích podílejících se na Národním programu konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu (dále jen NPM) má význam pro člověka, a to buď jako škodliví činitelé v zemědělství (fytopatogenní viroidy, viry, rickettsie, fytoplazmy, bakterie, houby, škodlivý hmyz, roztoči a hádátka) nebo naopak jako užiteční, člověku prospěšní činitelé v zemědělství a potravinářství (rhizobia, bakterie, kvasinky a houby).

Ze skupiny prospěšných mikroorganismů jsou do sbírek NPM uloženy kmeny především průmyslově využitelných mikroorganismů, jako jsou bakterie a kvasinky účastníci se biotechnologického fermentačního procesu (pivovarské, lihovarské, drožděnské a mlékařské kvasinky a bakterie), houby produkující významné enzymy nebo dietetika, bakterie využitelné pro potřebu potravinářské analytiky či k degradaci obtížně odbouratelných substrátů (např. keratinolytické nebo celulytické bakterie).

Velkou část sbírkových položek představují viry a viroidy patogenní pro zemědělské plodiny, jako jsou brambory, ovocné a okrasné dřeviny, chmel a další rostliny. K dalším patogenům kulturních rostlin uchovávaných ve sbírkách genetických zdrojů náleží obligátně i fakultativně biotrofní patogenní houby, fytopatogenní a saprofytické bakterie, fytoplazmy, sinice a řasy, včetně protilátek pro detekci některých původců ekonomicky závažných chorob rostlin. Samostatnou skupinou genetických zdrojů jsou zemědělsky významní členovci (chovy skladištních roztočů a hmyzu), chovy hmyzích škůdců a fytofágních nematod.

Z patogenních mikroorganismů jsou do sbírek NPM zařazeny zoopatogenní viry a bakterie včetně nástrojů pro jejich diagnostiku (hybridomy produkující protilátky).

U všech těchto skupin mikroorganismů je žádoucí zajistit sdílení uchovávaných genetických zdrojů v rámci vědecké, odborné nebo průmyslové komunity pro výzkum a vývoj komerčních i nekomerčních produktů.

3. VYUŽÍVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ

Kmeny mikroorganismů, udržované v rámci NPM, jsou vydávány domácím vědeckým i zahraničním pracovištím základního i aplikovaného výzkumu a šlechtitelským institucím, univerzitám, vysokým školám a orgánům státní správy. Každoročně je takto vydáváno kolem 900 kmenů domácím i zahraničním žadatelům. V rámci mezinárodní spolupráce a výměny informací poskytují sbírky údaje o uchovávaných položkách, katalogy a kmeny do zahraničí.

Největší objem vydaných položek je využíván při řešení výzkumných projektů a jako studijní materiál. Každoročně jsou kmeny NPM využity při řešení 80 – 170 projektů základního i aplikovaného výzkumu a vývoje, jejichž výstupy jsou i užité vzory a patenty. Sbírkou se poskytnutím genetického materiálu podílejí každoročně na vypracování více než 100 původních vědeckých publikací, odborných publikací, metodik a příspěvků do sborníků, stejně jako na příspěvcích pro odbornou veřejnost a pro praxi, přednesených na konferencích, workshopech a odborných seminářích.

Sbírkou slouží přímo jako podpora šlechtitelské praxe a rostlinolékařství, pro diagnostiku a arbitrážní řízení. Sbírkou poskytují charakterizované kmeny fytopatogenních a zoopatogenních virů, bakterií, a hub, které slouží jako referenční kmeny k identifikaci, dále k přípravě detekčních nástrojů (specifické primery, optimalizované PCR postupy, specifické protilátky), jako referenční kmeny - pozitivní kontroly pro laboratoře státní správy, také pro rutinní testování při certifikaci zdravotního stavu zemědělských plodin v diagnostických laboratořích Státní rostlinolékařské správy, pro kontrolu kvality.

Uchovávané kmeny jsou též využívány pro infekční testy, v nichž se zjišťuje odolnost odrůd a novošlechtění z pokusů Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (dále jen ÚKZÚZ) nebo odolnost šlechtitelských materiálů. Vzorok se rovněž využívají v národních a mezinárodních kruhových testech.

Údaje o jednotlivých položkách všech sbírek jsou ukládány do veřejné centrální databáze umístěné na internetových stránkách Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. (dále jen VÚRV). Tato databáze slouží jako zdroj informací pro širokou veřejnost. Všechny sbírky provádí každoročně aktualizaci a kontrolu záznamů. Databáze je veřejností využívána, o čemž svědčí počet přístupu do databáze.

4. MEZINÁRODNÍ SPOLUPRÁCE

Začlenění Sbírek mikroorganismů do mezinárodních struktur genových zdrojů je zřejmé. Sbírkou vyvíjejí značnou aktivitu v rámci mezinárodní spolupráce spočívající v začlenění do mezinárodních organizací, v poskytování a výměně kmenů a informací, v účasti na specializovaných konferencích a workshopech. Řešitelé jsou členy národních a mezinárodních profesních odborných a vědeckých organizací (International Society for Horticultural Science, EUCARPIA, PVY-Wide organisation, International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, European Foundation for Plant Pathology, Česká fytopatologická společnost). Sbírkou jsou v mnoha případech

členy národních (FCCM, National Library of Medicine Database Maintenance Project) a mezinárodních organizací sdružujících sbírky genových zdrojů mikroorganismů, jako jsou World Federation for Culture Collections (WFCC) s evidencí v World Data Center of Microorganisms, Federation of European Microbiological Societies (FEMS), European Brewery Convention (EBC), International Brewhouse Evaluation Board (IBEB) a European Culture Collections Organization (ECCO).

5. METODICKÉ ZÁSADY KONZERVACE A VYUŽÍVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ

Různé mikroorganismy často vyžadují specifické metody uchovávání, aby byla zajištěna jejich optimální životaschopnost a čistota. Z bezpečnostních důvodů, a aby se minimalizovalo riziko ztráty kmenů, je žádoucí, aby byl každý kmen udržován alespoň dvěma různými způsoby. Alespoň jeden z nich by měl být lyofilizace nebo skladování při velmi nízkých teplotách v kapalném dusíku nebo v mechanických mrazničkách, dosahujících teploty -140 °C nebo nižší (kryokonzervace). Tyto způsoby uchovávání jsou nejlepší metodou pro minimalizaci rizika genetických změn. V některých případech, například u buněčných linií, kde je použitelná jen kryoprezervace, by měly být sbírkové položky duplikovány a duplikáty uloženy v nezávislých technických zařízeních (např. dva různé mrazicí boxy, Dewarovy nádoby).

Pro mnoho skupin mikroorganismů jsou známy optimální způsoby uchovávání, ale stále ještě existuje množství rodů a druhů, které nejsou dlouhodobě ve sbírkách kultur uchovávány. Je zde prostor pro vývoj dalších metod a zdokonalování protokolů dlouhodobého uchovávání.

Je třeba zajistit, aby uchovávané genetické zdroje nebyly ohroženy nenadálými událostmi, jako je výpadek dodávky elektrické energie, selhání technických zařízení, anebo přírodní katastrofy. Duplikáty alespoň nejdůležitější a nenahraditelných kmenů (včetně jejich související dokumentace) by měly být bezpečně uloženy v jiné budově nebo v ideálním případě na jiném místě (bezpečnostní úložiště).

5.1. Dlouhodobé uchovávání a konzervace genetických zdrojů mikroorganismů

Předmětem konzervace a uchování v NPM je široké spektrum organismů. Vysoká heterogenita sbírkových položek se odráží v metodice, která je často specifická pro daný vyšší taxon, ale i v rámci nižších taxonů se vyskytují odlišné techniky uchovávání. Všechny sbírkové položky mikroorganismů jsou uchovávány výhradně formou *ex situ*.

Metodické přístupy a technologická náročnost je také podmíněna skutečností, zda jsou sbírkové položky zařazeny do rizikových skupin, podléhajících legislativním opatřením.

Kmeny mikroorganismů lze dělit na základě způsobu života a výživy, a to na obligátně/fakultativně parazitické (biotrofní, nekrotrofní), saprofytické a autotrofní. Způsob výživy determinuje možnosti uchovávání kmenů.

Saprofytické a fakultativně parazitické kmeny jsou obvykle kultivovatelné na umělých nebo polopřirozených médiích. Biotrofní parazitické organismy jsou obvykle udržovány a množeny výhradně na živých hostitelských buňkách.

5.1.1. Dlouhodobé uchovávání saprofytických a fakultativně parazitických kmenů v metabolicky aktivním stavu

Dlouhodobé uchovávání saprofytických a fakultativně parazitických kmenů v metabolicky aktivním stavu probíhá pasážováním na agarových médiích a na přírodních substrátech (houby, bakterie, sinice a řasy). Tato metoda patří k nejstarším, je poměrně nenáročná a vhodná pro rychlé použití a napěstování kmenů. U mnohých kmenů však tento způsob uchovávání vede k pomalé, ale postupné degeneraci kultury (ztráta sporulace, patogenity, pigmentů a biochemické aktivity).

5.1.2. Dlouhodobé uchovávání saprofytických a fakultativně parazitických kmenů v metabolicky málo aktivním stavu /metabolicky neaktivní

Tento typ dlouhodobého uchování může probíhat:

a) Při nižších teplotách (10-3°C):

pasážování na agarových médiích a na přírodních substrátech,
uchovávání pod minerálním olejem,
imobilizace v alginátových peletách,
stále fytoviry jsou udržovány dehydratované při teplotě 4°C (v hostitelském pletivu).

b) Při nízkých teplotách (kryoprezervace):

zmrazené v hlubokomrazícím boxu při -70 až -135 °C,
zmrazené v tekutém dusíku při -196 °C nebo jeho parách,
stále fytoviry jsou udržovány zamražené při -70 °C (v hostitelském pletivu).

c) Kryoprezervace v hlubokomrazícím boxu

Po napěstování kmene na pevném médiu vhodném pro kultivaci daného druhu jsou buňky převedeny do vhodného kryokonzervačního média a případně imobilizovány na inertním substrátu. Suspenze je rozplněna do sterilních kryozkumavek, které jsou uloženy v hlubokomrazícím boxu.

Pro potřeby kryoprezervace rzí se urediospory před uložením do ultranízkých teplot vysušují v exsikátoru se silikagelem.

d) Kryoprezervace v dusíku

Druhým způsobem kryoprezervace je uchování v kapalném dusíku. Kryoprezervace zahrnuje proces zmrazení a rozmrazení (tání), jejichž provedení hraje klíčovou úlohu pro viabilitu biologického materiálu. Jako nosiče buněk jsou užívány inertní materiály, protektivní média, anebo jen živná média. Připravené vzorky kultur jsou zamrazovány v programovatelném počítačem řízeném zařízení (NPM využívá technologii IceCube) podle specifických protokolů (odlišných pro různé skupiny mikroorganismů) a následně uloženy do kontejneru s kapalným dusíkem. Aktivace pak probíhá vysetím na pevné agarové médium nebo do kapalného média anebo inokulací hostitelských buněk.

Uchovávání některých skupin mikroorganismů (především bakterií) v tekutém dusíku je bezproblémové s vysokou pravděpodobností přežívání kultury. U jiných skupin (některé askomycety, obecně basidiomycety) je zapotřebí dalšího výzkumu a ověřování vhodných protokolů pro bezpečné dlouhodobé uchovávání.

e) Lyofilizace ("freeze-drying")

Odvodnění vzorku buněk dochází ke snížení jejich metabolické aktivity, což je základní předpoklad pro dlouhodobé uchovávání sbírkových kmenů bez změn jejich vlastností. Tato metoda je používána jako metoda první volby pro bakterie a houby, tvořící dostatečné množství spór. V lyofilizovaném stavu lze tyto kmeny uchovávat po dobu několika let.

Lyofilizace jednotlivých druhů se odlišuje použitím protektivního média, rychlostí a teplotou mražení před vlastní lyofilizací. Jako ochranné médium jsou používány např. sušené odtučněné mléko nebo bovinní sérum. Pro zmrazení vzorků je používána směs acetonu a suchého ledu nebo uložení v hlubokomrazícím boxu (-80 °C).

Vlastní vymrazení (sublimace zmrzlé vody za nízkého tlaku a při nízké teplotě) probíhá v lyofilizátoru. Vzniklé lyofilizáty jsou uchovávány ve vakuu ve skleněných ampulkách, v různém počtu duplikátů. Lyofilizační ampule s lyofilizátem jsou uloženy obvykle při teplotách kolem 4°C.

Životaschopnost lyofilizátů je kontrolována vždy po proběhnutí lyofilizace. Další kontrola probíhá dle plánu obnovy.

5.1.3. Dlouhodobé uchovávání obligátně parazitických kmenů (nekultivovatelné na umělých médiích)

Uchovávání na intaktních hostitelských organismech

Fytopatogenní viry, které pro jejich nestálost nelze uchovávat mimo živou hostitelskou rostlinu, jsou pravidelně pasážovány nebo udržovány *in vivo* na vytrvalých dřevinách v technickém izolátu nebo na indikátorových rostlinách ve skleníkových kójkách fytotronu. K jejich přenosům na nové hostitelské rostliny se buď používají přenašeči (křísi nebo mšice) s přesně definovanou dobou nabyvacího a inokulačního sání, nebo se přenášejí mechanicky infikovanou rostlinnou šťávou s přídavkem různých přenosových pufrů, nebo řízkováním a roubováním.

Biotrofní patogeny ze skupin padlí a peronospor jsou přeočkovávány na živá pletiva hostitelských rostlin, a to buď na semenáčky rostlin (u *Bremia lactucae*, *Hyaloperonospora parasitica*, *Plasmopara halstedii*, *Golovinomyces orontii*, *Podosphaera xantii*) nebo na pravé listy hostitelských rostlin (u *Pseudoperonospora cubensis*, *Golovinomyces cichoracearum*, *Oidium neolycopersici*) v intervalech, které jsou určeny jejich životním cyklem.

Kmeny padlí travního lze uchovávat jen krátkodobě, po dobu 6 týdnů. Izoláty se udržují na listových segmentech náchylné odrůdy se šikmým agarem při teplotě 4 °C a zářivkovém osvětlení, nebo na klíčcích rostlinách ve fázi druhého listu. U zástupců ř. Peronosporales (tř. Oomycetes) (*B. lactucae*, *P. cubensis*, *H. parasitica*, *P. halstedii*) jsou vzorky dlouhodobě uchovávány ve zmraženém stavu na pletivech 6-18 měsíců, u zástupců ř. Erysiphales (tř. Ascomycetes) (*G. cichoracearum*, *G. orontii*, *P. xantii*, *O. neolycopersici*) je prováděno kontinuální přeočkovávání na hostitelské rostliny.

Uchovávání těchto biotrofních kmenů probíhá v klimaboxech v řízeném světelném a tepelném režimu.

Izoláty fytoplazem jsou udržovány na hostitelských rostlinách pěstovaných ve standardních skleníkových podmínkách nebo technickém izolátu. Přenosy patogenů jsou prováděny roubováním na zdravé rostliny v intervalech, lišících se dle druhu patogena.

Tyto tradiční postupy uchovávání biotrofních mikroorganismů jsou nejen energeticky, prostorově i pracovně značně náročné, ale zejména vystavují udržované materiály reálné možnosti nežádoucí kontaminace jinými izoláty a patogeny. Stejně tak mohou naopak představovat potenciální zdroj infekce pro ostatní materiály, které jsou zvláště závažné při práci s patogeny karanténního významu.

Uchovávání virů na hostitelských tkáňových kulturách

Uchování virů v tkáňových kulturách rostlin je velmi efektivní metodou pro uchování obtížně mechanicky přenosných virů dřevin a drobného ovoce nebo těch, které nejsou mechanicky přenosné. V rámci NPM jsou v explantátových kulturách uchovávány všechny izoláty virů a viroidů bramboru a některé viry ovocných dřevin. Tyto kultury jsou dále kontinuálně vedeny v izolovaných podmínkách *in vitro*.

Pomnožení živočišných virů probíhá inokulací vybraných buněčných kultur nebo kuřecích embryí, které jsou vnímavé k infekci daným virem.

5.1.4. Uchovávání autotrofních mikroorganismů

Řasy a cyanobakterie jsou udržovány na vhodných kultivačních médiích, které podporují růst širokého spektra řas a sinic a jsou používány v mnohých algologických sbírkách. Medium je připravováno ve dvou variantách: pro řasy vodních biotopů v kapalné formě (Erlenmeyerovy baňky 100ml) a pro aerofytické řasy jako 1,5% agarový gel (zkumavky-našikmený agar).

Sbírka je udržována v kultivační místnosti za světelného režimu 16/8h světlo/tma, 22±2°C. Zástupci zelených řas jsou kultivováni při intenzitě záření 65 μmol.m⁻².s⁻¹ a sinice při 35 μmol.m⁻².s⁻¹. Celá sbírka je sterilně přeočkovávána do čerstvých sterilních médií v intervalu cca 1-2 měsíců. Kultury

sinic a řas jsou pravidelně kontrolovány v optickém mikroskopu. Položky sbírky jsou postupně podrobovány molekulárním studiím. V případě nutnosti jejich přečištění jsou využívány purifikační techniky.

5.1.5. Uchovávání členovců a drobných živočichů

Uchovávání živočišných škůdců zemědělských plodin, skladovaných komodit a jejich antagonistů je pro jednotlivé skupiny odlišné (typ umělé diety, živné rostliny, standardní podmínky pro průběh celého životního cyklu).

Škodlivý hmyz je chován na substrátech, které zaručují optimální podmínky pro jejich rozmnožování (ovesné vločky, pšeničný šrot v kombinaci s kvasnicemi a glycerolem, pšenice, pečivo, textil a další speciální diety dle specifických potřeb některých druhů) v podmínkách s kontrolovanou teplotou a relativní vzdušnou vlhkostí.

Chovné komůrky jsou umístěny v exsikátorech při relativních vzdušných vlhkostech, optimálních pro konkrétní druh. Vzdušná vlhkost je udržována pomocí nasycených roztoků solí. Teplota v chovech je 20 – 26 °C.

Uchovávání a pomnožování fytoparazitických hádátek (kmen Nematoda) je realizováno na původních hostitelských rostlinách izolátů udržovaných ve sbírce. V případě *Ditylenchus dipsaci* se jedná o česnek kuchyňský libovolné odrůdy, u cystotvorných hádátek druhů *Globodera pallida* a *Globodera rostochiensis* je používán lilek brambor (náchylná odrůda Desirée) a u hálkotvorných hádátek druhu *Meloidogyne hapla* mrkev libovolné odrůdy.

5.1.6. Uchovávání dalšího biologického materiálu

Kromě kmenů mikroorganismů a členovců uchovávají sbírky další biologický materiál, jako jsou buněčné kultury pro kultivaci virů a buněčné hybridomy, hyperimunní séra proti vybraným virům, séra od některých druhů zvířat, monoklonální a polyklonální protilátky pro detekci fytopatogenních a zoopatogenních virů, bakterií a hub. Buněčné linie jsou uchovávány v tekutém dusíku ve speciálním protektivním médiu. Séra a protilátky se uchovávají zmrazená při teplotě -75 °C, vybraná séra a protilátky také v lyofilizovaném stavu. Uchovávání i lyofilizace probíhá bez přidání protektivních látek.

6. CHARAKTERIZACE

Sbírkové kultury jsou hodnoceny každoročně. Účelem hodnocení je zjistit zejména případné změny, ke kterým došlo v průběhu uchovávání. Frekvence hodnocení se liší podle použité konzervační techniky. Je zřejmé, že vlastnosti kultur udržovaných na pevných médiích při vysoké metabolické aktivitě je nutno ověřovat častěji než při kryogenní konzervaci nebo lyofilizaci.

Kmeny jsou průběžně ožiovány podle plánu obnovy a je sledována jejich mikrobiologická čistota (makroskopicky a mikroskopicky), viabilita, vitalita a stabilita těch vlastností, kvůli kterým je daný kmen uchováván.

Standardní postupy charakterizace kmenů NPM jsou založeny na determinaci, morfologickém popisu, stanovení biologických, biochemických, molekulárně-genetických a technologických vlastností. Sbírkové kmeny/kultury jsou charakterizovány pomocí testů požadovaných vlastností (u prospěšných mikroorganismů) nebo patogenity a virulence (u škodlivých mikroorganismů), dále pomocí biochemických a molekulárně-genetických testů.

6.1. Postupy charakterizace specifické pro skupiny kmenů

6.1.1. Fytopatogenní viry

Příslušnost kmene fytopatogenního viru k některému z popsaných virů se určuje buď specifickými testy hodnocení příznaků na indikátorových rostlinách, anebo na základě serologických testů ELISA, elektronové mikroskopie a v některých případech i pomocí molekulárně biologických testů (RT-PCR). Jako indikátorové rostliny jsou nejčastěji používány *Chenopodium quinoa*, *Ch. amaranticolor*, *Datura stramonium*, *Nicotiana benthamiana*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. rustica*, *N. tabaccum* 'Samsun', 'Xanthi' a 'White Burley', *Petunia hybrida*.

6.1.2. Živočišné viry

Po rozmrazení nebo rozpuštění lyofilizovaného živočišného virového materiálu se virovou suspenzí infikují vybrané buněčné kultury nebo kuřecí embrya, která jsou vnímavá k infekci daným virem. Přítomnost viru po jeho pomnožení je hodnocena na základě změn, které vyvolává v systémech „in vitro“ ve světelném mikroskopu (cytopatický efekt), cytologickým barvením a průkazem virových inkluzí, nebo u kuřecích embryí hodnocením jejich životnosti (úhynu). Vlastní virus v buněčné suspenzi prokazujeme elektronově mikroskopicky (u virů s nezaměnitelnou morfologií), metodou PCR, nebo i jinými virologickými metodami (virusneutralizační test aj.).

Metodou PCR se u živočišných virových kmenů zjišťuje možná kontaminace viry a mykoplazmaty.

6.1.3. Fytopatogenní bakterie

Pro identifikaci bakterií se používají fyziologické, chemické, biochemické, imunochemické, molekulární a biologické testy. Postup se volí v závislosti na tom, které bakterie v napadených rostlinných pletivech předpokládáme. Pro každý rod, případně druh či několik druhů s podobnými charakteristikami je vypracována strategie identifikace a doporučen soubor vhodných diferenciačních testů.

Nejběžnější typy testů pro fytopatogenní bakterie:

- Semiselektivní médium King B pro rozlišení fluorescentních a nefluorescentních pseudomonád.
- Gramovo barvení pro rozlišení grampozitivních a gramnegativních bakterií.
- Test oxidázy pro rozlišení oxidáza pozitivních (nefytopatogenní pseudomonády) a oxidáza negativních (fytopatogenní pseudomonády) bakterií
- Oxidačně fermentační test (O/F test) pro rozlišení aerobních a fakultativně anaerobních bakterií.
- Test pektinolytické aktivity na bramborových discích pro rozlišení hnilobných erwiní a pseudomonád od ostatních bakterií.
- Sklíčková aglutinace s cílovým antisérem pro daný patovar či subspecies.
- Imunochemické testy (různé formáty ELISA, imunofluorescence) se specifickým antisérem pro daný patovar či subspecies.
- Mikrobiální identifikační systém Biolog Bacteria umožňující identifikaci bakterií na základě využívání/nevyžívání uhlikatých a dusíkatých zdrojů.
- Molekulární testy, specifická PCR s komerčními primery pro daný patovar či subspecies (nested PCR, qPCR). Stanovení těmito metodami je nepřesnější a umožňuje stanovení i těch patogenů, u nichž se neví žádné přibližné zařazení. Volí se dva možné postupy cílené na 1) taxonomické zařazení bakteriálního kmene pomocí primerů pro 16S rRNA. 2) virulenční faktor a jeho intenzitu pomocí primerů specifických pro několik vybraných genů příslušného virulenčního faktoru
- Biologické testy na hostitelských nebo indikátorových rostlinách pro zjištění patogenity, ale i virulence/avirulence, patovarů a ras bakterií aj.
- Test hypersenzitivity na tabáku (patří k biologickým testům) k odlišení fytopatogenních pseudomonád, erwiní a xanthomonád od saprofytů.
- Rychlé a přesné stanovení kultivovaných kmenů se provádí pomocí MALDI TOF s identifikačním softwarem TNW a API testy (bioMérieux), u kterých jsou výsledky vyhodnocovány pomocí internetového programu *apiweb*.
- K upřesnění taxonomického zařazení se využívají některé molekulárně genetické metody (např. PCR, PFGE).
- základní charakteristiky jsou doplňovány dalšími charakteristickými vlastnostmi pro jednotlivé rody, druhy nebo patovary (nukleární aktivita, povrchové napětí, antagonistické vlastnosti, tvorba významných sekundárních metabolitů).

6.1.4. Pivovarské kvasinkové a bakteriální kmeny

V případě pivovarských kvasinek je testována maximální teplota růstu (pro odlišení spodních a svrchních kvasinek), vznik obřích kolonií, procento respiračně-deficientních mutant (přelivová metoda s TTC), rychlost kvašení a stupeň prokvašení mladiny, tvorba senzoricky aktivních látek a sedimentace. Pravidelně před každým pasážováním kultur kvasinek je kontrolována morfologie kolonií na WLN agaru. Kmeny pivovarských kvasinek uložené v kapalném dusíku jsou pravidelně ožiovány a je u nich sledována viabilita (přímá metoda - barvení methylenovou modří, nepřímá metoda – počet životaschopných buněk vyočkováním na misky) a stabilita technologických vlastností

(laboratorní kvasné zkoušky). Uvedené metody vycházejí z doporučených metodik EBC pro posuzování a charakterizaci pivovarských kvasinek (European Brewery Convention).

U vinařských kvasinek je posuzována zejména rychlost prokvašení sladiny a tvorba obřích kolonií. U bakterií je kromě taxonomického zařazení sledována schopnost kazit pivo. Další charakterizace bakterií (např. přítomnost specifických genů) je náplní výzkumných úkolů řešených na pracovišti Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského, a. s. (VÚPS) a spolupracujících ústavů.

6.1.5. Průmyslově využitelné mikroorganismy

Kontrolovaným kritériem u těchto kmenů jsou také fyziologické vlastnosti, tj. intenzita růstu na různých sacharidech a jejich zkvašování. Hodnoceny jsou biochemické aktivity, zejména tam, kde je produkce určitého metabolitu nebo enzymu důvodem uchovávání kmene (produkce potravinářsky významných enzymů: amyláza, proteáza, celulózy, glukóza a oxidáza).

6.1.6. Houby

V případě molekulárně-genetických vlastností jsou zjišťovány především sekvence vybraných úseků DNA (ITS oblast, tef), protože se jedná o konzervativní oblasti DNA využívané pro klasifikaci kmene na různé taxonomické úrovni. Dále jsou to oblasti kódující určité vlastnosti (například produkce mykotoxinů).

Při charakterizaci kmenů hub v *in vitro* podmínkách jsou zjišťovány vlastnosti týkající se jejich morfologie, biologie, fyziologie, ekologie a biochemie. Nejčastěji jsou kmeny hodnoceny při kultivaci na agarových živných médiích. Jsou zjišťovány optimální podmínky růstu a vývoje (např. teplota, světelné podmínky, pH), případně schopnost tvorby odpočinkových útvarů (sklerocií, mikrosklerocií) nebo primordií.

Také je při růstu v *in vitro* podmínkách zjišťován vliv antropogenních faktorů (např. citlivost k látkám, u nichž jsou známy fungicidní účinky). V *in vivo* podmínkách je hodnocena patogenita vůči hostiteli.

6.1.7. Makromycety

Především je hodnocena životaschopnost a čistota uchovávaných myceliálních kultur, dále barva, morfologie a růstové charakteristiky jednotlivých kmenů na agarových médiích a žitném substrátu, případně schopnost tvorby odpočinkových útvarů (sklerocií, mikrosklerocií) nebo primordií. V *in vivo* podmínkách je hodnocen vývoj plodnic při pěstování v podmínkách standardních komerčních pěstíren.

6.1.8. Basidiomycety

Kmeny z této skupiny hub jsou náročné na podmínky uchovávání. Proto je zvýšená pozornost věnovaná makromorfologii (tvar, zbarvení, výška a hustota myceliální kolonie), mikromorfologii (vzhled hyf, jejich větvení, přítomnost přezek, spor a jejich vlastností apod.) a růstu (rychlost a kvalita

růstu). V případě potřeby nebo při podrobném hodnocení (interval podle variability jednotlivých kultur, většinou po 2 až 5 letech) je kromě výše uvedeného hodnocení růst kvantitativně (měřením průměru kolonií na pevném médiu nebo stanovením suché hmotnosti mycelia z tekutého média po submersní kultivaci) a případně jsou hodnoceny i biochemické vlastnosti kultury (např. stanovení enzymových aktivit, zejména u dřevokazných hub – semikvantitativní metoda API ZYM a kvantitativní metody pro vybrané enzymy).

6.1.9. Rzi a padlí travní

Diferenciace izolátů rzi se provádí inokulací souboru diferenciačních odrůd nebo téměř izogenních linií. Podle reakcí jednotlivých diferenciačních odrůd nebo linií se izoláty determinují dle mezinárodně používané stupnice, která je založena na hodnocení charakteristických symptomů, nikoliv na míře napadení. U padlí travního se polní sběry (izoláty) inokulují na náchylnou odrůdu pšenice (Kanzler). Z jednotlivých izolátů se provádějí monokonidiální izoláty, které se používají k inokulaci diferenciačních odrůd. Podle reakce jednotlivých diferenciačních odrůd se izoláty charakterizují.

6.1.10. Členovci a drobní živočichové

Fytofágní hmyz je hodnocen z hlediska šíře spektra hostitelských rostlin. Chovy členovců a hmyzu jsou hodnoceny z hlediska odpovědi vůči chemickým a fyzikálním stresorům. V rámci definování reakce vůči chemickému stresu je hodnocen stupeň rezistence, resp. vnímavosti vzhledem ke kontrolní (citlivé) populaci. Je hodnocena rezistence vůči profilovým insekticidům ze skupiny pyrethroidů a organofosfátů. Aplikace je prováděna v doporučených koncentracích a v dalších koncentracích pod a nad touto úrovní. Pomocí probitové analýzy se stanovuje LD₅₀ a zjišťuje index rezistence ($IR = LD_{50} \text{ rezistentní populace} / LD_{50} \text{ citlivé populace}$). Rezistence hmyzu na insekticidy a hormony, inhibující část životního cyklu, je testována přidáním přípravku do umělé potravy, popřípadě je jím ošetřena hostitelská rostlina, na které je hodnocený kmen chován.

Dále je sledována citlivost k fumigantům (kyanovodík, fosforovodík) a aerosolům.

V rámci definice reakce vůči fyzikálním stresorům je hodnocena odolnost především vůči teplotě. Zjišťuje se teplotní odolnost jednotlivých druhů a kmenů vůči extrémním teplotám (vysoké a nízké teploty).

6.1.11. Buněčné kultury

Hodnotí se jejich schopnost růstu po rozmražení. Kultivačně a metodou PCR se dále zjišťuje možná kontaminace viry a mykoplazmaty.

7. DOKUMENTACE

Záznamy o kmenech by měly být zpracovány výpočetní technikou. Pro zajištění bezpečnosti je nutné, aby soubory s daty byly bezpečně zálohovány a uchovávány odděleně, stejně tak fotokopie záznamů by měly být uchovávány odděleně. Tyto údaje by měly být uchovány také společně s bezpečnostními duplikáty kmenů.

Je doporučeno, aby sbírky používaly takové definice a struktury datových polí, které umožní začlenění dat do národních a mezinárodních databází (např. Microbial Information Network Europe (MINE), CABRI Guidelines, OECD Best Practice). NPM používá centrální databázi vyvinutou na základě MINE. Databázový program je průběžně zdokonalován.

7.1. Databáze a přístupy

Centrální databáze NPM umožňuje uchovávat a aktualizovat informace o sbírkových položkách přes webové rozhraní a zároveň prohledávat uchované informace o sbírkových položkách Internetovou veřejností přes webové rozhraní.

Databázový systém se skládá ze tří prvků, a to z databázového a webového serveru a konzole administrátora. Databázový MS SQL server obsahuje katalog, ve kterém jsou obsažena data sbírkových položek a řídicí údaje.

Řídicí údaje zahrnují:

- Údaje o sbírkách a operátorech
- Definice přístupových práv
- Definice způsobu zobrazení údajů
- Definice uživatelských dotazů
- „fulltextový index“ vytvářený na základě dat sbírkových položek.

Konzole administrátora je standardní databázová aplikace, která umožňuje editaci řídicích údajů. Konzole umožňuje přidávat do systému nové sbírky, mazat existující sbírky a opravovat řídicí údaje sbírek pro provoz internetového rozhraní. Dále konzole umožňuje zakládat ve sbírkách nové operátory a přidělovat jim přístupové kódy a práva k operacím měnícím údaje v databázi sbírkových kmenů. Další funkcí konzole je údržba číselníku uživatelských (SQL) dotazů, z nichž některé mohou být aktivovány přes internetové rozhraní. V neposlední řadě je z konzole prováděna údržba tzv. „fulltextového indexu“. Úkolem administrátora je proto zejména:

- Nastavování přístupových práv
- Aktualizace údajů o sbírkách a aktualizace definic způsobu zobrazení
- Průběžná aktualizace fulltextového indexu
- Vytváření uživatelských dotazů podle potřeb „univerzálních operátorů“.

Z bezpečnostních důvodů nejsou tyto akce povoleny přes webové rozhraní. Na webovém serveru je uložena CGI aplikace, která podle požadavků přijatých přes HTTP protokol zobrazuje a případně aktualizuje data sbírkových položek. Aplikace obsluhuje dvě třídy požadavků:

- Vyhledávací dotazy od široké veřejnosti
- Požadavky operátorů (sbírkových a tzv. „univerzálních“).

Přístup ke službám ve druhé skupině požadavků je chráněn přístupovým heslem a je povolen pouze z předem definovaných IP adres.

Paralelně jsou v jednotlivých sbírkách vedeny i evidence ve formě přírůstkového sešitu a listkové kartotéky kmenů. Údaje o sbírkových kmenech se také zapisují do evidenčních, diagnostických a zásobníkových karet a různých protokolů (protokol o lyofilizaci, protokol o uložení kultur v kapalném dusíku a při -80 °C).

Součástí dokumentace o uchovávaných kmenech je také např. fotodokumentace, molekulární analýzy a informace o taxonomických změnách.

Dokumentace o uchovávaných sbírkových položkách je pravidelně, nejméně jednou ročně aktualizována.

7.2. Dokumentace skupin mikroorganismů

Dokumentace o genetických zdrojích mikroorganismů, kterou vede v souladu s § 17 zákona účastník Národního programu, musí být vedena pro každou položku sbírky kultur (sbírkový kmen).

Dokumentace genetického zdroje mikroorganismu obsahuje minimálně tyto údaje:

- identifikace sbírky (název, akronym),
- evidenční číslo sbírkového kmene/kultury
- platné vědecké jméno taxonu (druhu, vnitrodruhové kategorie (subspecies, forma specialis, rasa, varieta),
- geografický původ (země původu, lokalita), substrát, hostitel,
- údaje o izolaci a determinaci (včetně jmen osob, které izolaci a determinaci provedly),
- specifické podmínky kultivace,
- způsob konzervace,
- historie kmene (např. číslo kmene v jiných sbírkách, redeterminace),
- manipulace s kmenem (datum poslední obnovy, inventarizace),
- oprávnění kmen poskytovat dalším subjektům (kmen veřejný/neveřejný).

Účastník NPM eviduje další vhodné informace, vymezující a charakterizující daný kmen mikroorganismu. Dále zaznamenává údaje povinné dle legislativních opatření, vztahujících se k uchovávaným sbírkovým položkám/kmenům.

7.2.1. Seznam a definice datových polí databáze NPM

Datová pole pro sbírkové kmeny autotrofních mikroorganismů, bakterií, hub a houbám podobných organismů:

Název pole	Typ pole	Délka pole	Titulek česky	Titulek anglicky
Cat_Number	text	12	Katalog. číslo	Catalogue number
Genus	text	30	Rod	Genus

Species	text	30	Druh	Species
Lower_Taxon	text	80	Nižší taxon	Lower taxon
Infrasubspecific_names	text	50	Varieta	Subspecific names
Given	text	20	Jméno kmene	Strain name
Organism_type	text	15	Typ organismu	Organism type
Author	text	200	Autor	Author
Synonyms	text	100	Synonyma	Synonyms
NMCH	text	50	Změny jména	Name changes
Other_collection_numbers	text	100	Čísla v jiných sbírkách	Other collection numbers
Status	text	15	Nomenkl.status	Nomenclature status
Form_of_storage	text	50	Způsob uchovávání	Form of storage
Form_of_supply	text	50	Způsob distribuce	Form of supply
Restrictions	text	50	Omezení distribuce	Restrictions
LastPassage	datum		Poslední obnova	Last passage
Inventarizace	datum		Datum inventarizace	Datum inventarizace
Serovar	text	50	Sérovar	Serovar
Isol	text	100	Izoloval	Isolated by
IsolYear	celé číslo		Rok izolace	Isolated in year
Isolated_from	text	50	Zdroj izolace	Isolated from
Det	text	100	Určil	Determined by
DetYear	celé číslo		Rok určení	Determined in year
Dep	text	100	Deponoval	Deponed by
DepYear	celé číslo		Rok depozice	Deponed in year
Geographic_origin	text	200	Geografický původ	Geographic origin
History	text	200	Historie kmene	Strain history
Substrate	text	80	Substrát	Substrate
Pathogenicity	text	50	Patogenita	Pathogenicity
Genotype	text	50	Genotyp	Genotype
Mutant	text	50	Mutace	Mutant
Plasmids	text	50	Plasmidy	Plasmids

Medium	text	50	Médium	Medium
Growth_Conditions	text	50	Podmínky růstu	Growth conditions
Light	text	50	Světelné podmínky	Light conditions
Temperature	text	50	Teplotní podmínky kultivace	Temperature conditions
Sexual_state	text	50	Sex. status	Sex. status
Applications	text	50	Využití	Applications
Enzyme_production	text	120	Produkce enzymů	Enzyme production
Metabolite_production	text	120	Produkce metabolitů	Metabolite production
Effectivity	text	120	Efektivita	Effectivity
Picture	obrázek		Obrázek	Picture
Literature	memo		Literatura	Literature
Remarks	memo		Poznámky	Remarks

Datová pole pro sbírkové kmeny rostlinných a živočišných virů:

Název pole	Typ pole	Délka pole	Titulek česky	Titulek angl.
Cat_Number	text	12	Číslo izolátu	Isolate number
Virusname	text	40	Název viru	Virus name
Virus_type	text	15	Typ viru	Virus type
NA_Type	text	7	Typ nukleové kyseliny	Nucleic acid type
Virus_name_abbreviation	text	20	Zkratka názvu viru	Virus name abbreviation
Former_names	text	100	Dřívější jména viru	Former name(s)
Genus	text	30	Rod	Genus
Family	text	30	Čeleď	Family
Status	text	9	Nomenkl. status	Nomencl. status
Other_collection_numbers	text	100	Čísla v jiných sbírkách	Other collection numbers
Host	text	50	Hostitel	Host organism
Disease	text	40	Nemoc	Disease
Propag_Preserv_Host	text	30	Pomnožovací hostitel	Propagation host

Form_of_storage	text	50	Způsob uchovávání	Preservation remarks
Form_of_supply	text	50	Způsob distribuce	Form of supply
Restrictions	text	50	Omezení	Restrictions
LastPassage	datum		Poslední obnova	Last passage
Inventarizace	datum		Datum inventarizace	Datum inventarizace
Isol	text	50	Izoloval	Isolated by
IsolYear	celé číslo		Rok izolace	Isolated in (year)
Det	text	50	Určil	Determined by
DetYear	celé číslo		Rok určení	Determined in (year)
Dep	text	50	Deponoval	Depositor
DepYear	celé číslo		Rok depozice	Deposited in (year)
Geographic_origin	text	100	Geografický původ	Geographic origin
Picture	obrázek		Obrázek	Picture
Literature	memo		Literatura	Literature
Remarks	memo		Poznámky	Remarks

Datová pole pro sbírkové položky hmyzu a členovců:

Název pole	Typ pole	Délka pole	Titulek český	Titulek angl.
Cat_Number	text	12	Číslo položky	Item number
Genus	text	30	Rod	Genus
Species	text	30	Druh	Species
Author	text	100	Autor	Author
Kingdom	text	50	Říše	Kingdom
Tribe	text	30	Kmen	Tribe
Class	text	30	Třída	Class
Family	text	30	Čeleď	Family
Lower_Taxon	text	80	Nižší taxon	Lower taxon
Synonyms	text	100	Synonyma	Synonyms
LastPassage	datum		Poslední obnova	LastPassage
Inventarizace	datum		Datum inventarizace	Datum inventarizace

Isol	text	50	Sebral	Collected by
IsolYear	celé číslo		Rok sběru	Collected in (year)
Det	text	50	Určil	Determined by
DetYear	celé číslo		Rok určení	Determined in (year)
Dep	text	50	Deponoval	Depositor
DepYear	celé číslo		Rok depozice	Deposited in (year)
Geographic_origin	text	100	Geograf. původ	Geographic origin
Substrate	text	80	Substrát	Substrate
Exemplars	celé číslo		Počet položek	No of items
Branch	text	30	Odvětví	Branch
Factory	text	30	Podnik	Factory
Protocol_No	text	20	Číslo protokolu	Protocol No
Picture	obrázek		Obrázek	Picture
Literature	memo		Literatura	Literature
Remarks	memo		Poznámky	Remarks

8. POSKYTOVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ MIKROORGANISMŮ

Sbírký NPM jsou vysoce specializovaná vědecko-servisní pracoviště, která uchovávají kmeny mikroorganismů, využitelné pro potřeby základního a aplikovaného výzkumu, v pedagogickém procesu jako výukový materiál, pro rutinní mikrobiologické a diagnostické laboratoře a pro biotechnologické využití.

Pro účely šlechtění, výzkumu a vzdělávání je poskytnutí práva na využívání daného genetického zdroje bezplatné. Náklady spojené s manipulací s genetickým zdrojem, reaktivací, odesláním a další náklady vynaložené v souvislosti s poskytnutím genetického zdroje jsou účtovány žadatelům. Viz též §19 zákona č. 148/2003 Sb. o konzervaci a využívání genetických zdrojů rostlin a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství.

Poskytované kmeny mikroorganismů jsou často využívány k diagnostickým účelům (např. testování rezistence rostlin, srovnávání patogenity, referenční kmeny pro ÚKZÚZ apod.). Kmeny mikroorganismů jsou poskytovány např. laboratořím zapojeným do sériových testů pro hodnocení zdravotního stavu sadbových materiálů a certifikaci sadby bramboru (např. Laboratorní centrum VÚB, laboratoř společnosti Vesa Velhartice). V rámci spolupráce se šlechtitelskými plodinovými organizacemi v Čechách a na Moravě a ÚKZÚZ je dodáváno široké spektrum kmenů fytopatogenních virů, bakterií a hub.

Počet poskytnutých kmenů žadatelům z českých i zahraničních pracovišť základního či aplikovaného výzkumu a z univerzit se dlouhodobě pohybuje mezi 600 – 900 kmeny ročně. Největší objemy vydaných položek jsou využívány při řešení výzkumných projektů a jako studijní materiál při výuce na vysokých a středních školách.

8.1. Procedura objednávání a distribuce genetických zdrojů

Kmeny jsou distribuovány na základě písemné objednávky doručené konvenční poštou, elektronicky či osobně. Sbírky se při administrativním vyřizování objednávek řídí svými interními předpisy. Po obdržení objednávky dojde obvykle ke komunikaci mezi žadatelem a sbírkou za účelem dohody na formě poskytnutého genetického zdroje, termínu dodání a případně podpisu prohlášení o využití genetických zdrojů, souhlasu s podmínkami poskytnutí kmenů (**Česká sbírka fytopatogenních oomycetů** viz. Příloha: Příklady poskytování genetických zdrojů mikroorganismů, **Sbírka mlékářenských mikroorganismů Laktoflora**, **Sbírka zoopatogenních mikroorganismů**) a převzetí odpovědnosti za poskytnuté patogenní mikroorganismy (**Sbírka zoopatogenních mikroorganismů**).

Některé sbírky mají prohlášení o vyžití a souhlas s podmínkami poskytnutí včleněny do Protokolu/Potvrzení o převzetí kmenů (**Sbírka virů okrasných rostlin**, **Sbírka fytopatogenních virů a kolekce virových patogenů na ovocných dřevinách a révě vinné v technickém izolátu**, **Sbírka zemědělsky a potravinářsky významných kultur toxinogenních, fytopatogenních a entomopatogenních hub**, **Sbírka fytopatogenních bakterií a referenčních protilátek**, **Sbírka pivovarských mikroorganismů**). Ostatní sbírky vyžadují pouze písemnou objednávku, další komunikace s objednateli probíhá neformálně (podmínky využití poskytovaných kmenů mikroorganismů jsou buď na webových stránkách a nebo osobně sděleny kurátorem sbírky). Administrativně náročnější je poskytování zoopatogenních mikroorganismů ze sbírky CAPM v rámci ČR a zahraničí (viz. Příloha: Příklady poskytování genetických zdrojů mikroorganismů).

Forma distribuce genetického zdroje mikroorganismů je závislá na možnostech jeho kultivace, uchovávání a legislativních opatřeních a vnitřních předpisech sbírek.

Fytopatogenní viry jsou obvykle dodávány ve formě čerstvých, sušených nebo lyofilizovaných listů nebo jiných rostlinných částech hostitelských rostlin (**Sbírka fytopatogenních virů a kolekce virových patogenů na ovocných dřevinách a révě vinné v technickém izolátu, Sbírka virů okrasných rostlin, Sbírka fytopatogenních mikroorganismů, Sbírka patogenů chmele**). Izoláty virů bramboru jsou uživatelům distribuovány výhradně ve formě *in vitro* rostlinek vedených v aseptických podmínkách na živných půdách (**Sbírka fytopatogenních virů brambor**). **Sbírka fytopatogenních virů a kolekce virových patogenů na ovocných dřevinách a révě vinné v technickém izolátu, Sbírka virů okrasných rostlin a Sbírka patogenů chmele** poskytuje genetické zdroje po domluvě se žadatelem ve formě infikovaných bylinných indikátorů nebo hostitelských rostlin. Čas potřebný pro vyřízení takovéto objednávky gen. zdrojů je v tomto případě až 2 měsíce. Živý či sušený rostlinný materiál obsahující žádaný kmen virů je vyřizován obvykle do pěti pracovních dnů.

Zoopatogenní viry jsou obvykle poskytovány ve formě lyofilizátu. Ve výjimečných případech může **Sbírka zoopatogenních mikroorganismů** kultury virů dodat také v zamražené nebo aktivní formě (viz. Příloha: Příklady poskytování genetických zdrojů mikroorganismů).

Kultivovatelné mikroorganismy jsou dodávány buď metabolicky neaktivní anebo po oživení v aktivní formě. Dodání konzervovaných (metabolicky neaktivních) kultur mikroorganismů umožní odbavení objednávky v řádu dnů, obvykle do pěti pracovních dnů. Mikroorganismy ve formě inokulovaného perlitu po kryoprezervaci poskytuje **Sbírka basidiomycetů hospodářsky významných pro zemědělství**. Lyofilizované kmeny poskytuje **Sbírka fytopatogenních bakterií a referenčních protilátek, Sbírka zemědělsky a potravinářsky významných kultur toxinogenních, fytopatogenních a entomopatogenních hub, Sbírka mlékářských mikroorganismů Laktoflora a Sbírka zoopatogenních mikroorganismů**.

Všechny výše zmíněné sbírky, které dodávají genetické zdroje v metabolicky neaktivním stavu, umožňují po dohodě se žadatelem oživit požadované kmeny a dodat je v podobě aktivně rostoucí kultury. Ostatní sbírky udržující kultivovatelné mikroorganismy, tedy **Sbírka fytopatogenních a dalších zemědělsky významných hub, Sbírka zahradnický významných hub – makromycetů, Sbírka rhizobií, Sbírka průmyslově využitelných mikroorganismů, Sbírka fytopatogenních mikroorganismů, Sbírka fytopatogenních oomycetů a Sbírka pivovarských mikroorganismů** poskytují požadované kmeny pouze v metabolicky aktivní formě; a to buď na agarových médiích v Petriho miskách, zkumavkách či skleněných vialkách. **Sbírka basidiomycetů hospodářsky významných pro zemědělství** také zasílá kmeny kultivované na perlitu v kryozkumavkách. Další formou poskytování kmenů mikroorganismů je příprava pomnožené kultury na tekutém médiu, určené přímo pro konkrétní měření nebo analýzu (zejména v případě obtížně kultivovatelných anaerobů) (**Sbírka pivovarských mikroorganismů**, viz. Příloha: Příklady poskytování genetických zdrojů mikroorganismů).

Fytopatogenní rzi jsou poskytovány žadatelům ve formě urediospor v mikrozskumavkách (monosporické izoláty) nebo celofánových sáčcích (pomnožené inokulum z více izolátů k polním infekcím) (**Sbírka rzi a padlí travního**).

Zástupci členovců a dalších drobných organismů jsou poskytovány ve vhodné formě dle taxonomické skupiny organismů a účelu využití. Živí jedinci jsou balení do plastových zkumavek (pisivky a roztoči) a do větších plastových obalů v případě brouků, zavíječů a švábů. Pro studijní účely dodávají sbírky vzorky v počtu 50 – 150 kusů jedinců, pro výzkum je dodávána složená populace (desítky až stovky jedinců v závislosti na druhu) (**Sbírka živočišných škůdců zemědělských plodin a jejich antagonistů, Chovy a sbírky skladištních škůdců, roztočů a mikroskopických hub**).

Kultury mikroorganismů jsou žadatelům zasílány poštou nebo kurýrní službou. Většina sbírek doporučuje žadatelům zvážit možnost osobního odběru. Osobní odběr zoopatogenních GZ je možný pouze za předpokladu odvozu kultury vozidlem, které je určeno k transportu infekčního materiálu.

8.2. Informace související s genetickými zdroji

Žadatelům jsou vždy poskytovány základní informace o kmenech (údaje o izolaci, kultivaci a původu kmenů). Většina sbírek poskytuje doplňující informace na základě žádosti v souladu s uvedeným účelem použití kmene. Na tuto možnost jsou žadatelé upozorněni obvykle v předávacím protokolu. Další poskytované informace se týkají charakterizace kmenů (většinou formou citace publikace, kde jsou požadované informace uvedeny), nestandardních kultivačních podmínek, růstových vlastností, makro- a mikro-charakteristik, taxonomických údajů, schopností mikroorganismu tvorby určitého metabolitu apod.

8.3. Počet poskytovaných GZ mikroorganismů jejich velikost

Sbírky obvykle množství poskytovaných genetických zdrojů mikroorganismů nelimitují, pokud jejich počet odpovídá účelu/využití, uvedených v žádosti. Některé sbírky limitují jednu objednávku nejvyšším počtem kmenů: (**Sbírka fytopatogenních bakterií a referenčních protilátek** poskytuje maximálně 20 kmenů při jedné objednávce, **Sbírka fytopatogenních mikroorganismů** omezuje počet na 10 kmenů). Stanovení velikosti vzorku genetického zdroje mikroorganismu provádí kurátor sbírky (viz. § 14 vyhlášky 458/2003 Sb., kterou se provádí zákon o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů).

8.4. Evidence poskytnutých genetických zdrojů

Do centrální databáze NP se poskytnutí GZ mikroorganismů nezaznamenává. Evidence poskytnutých GZ je průběžně vedena na úrovni kurátorů sbírek. Evidence je obvykle vedena jak písemně, tak i elektronicky. Seznam poskytnutých kmenů, jejich využití ve výzkumu a prezentace v publikacích jsou součástí výroční zprávy.

8.5. Nejčastěji poskytované GZ mikroorganismů uživatelům

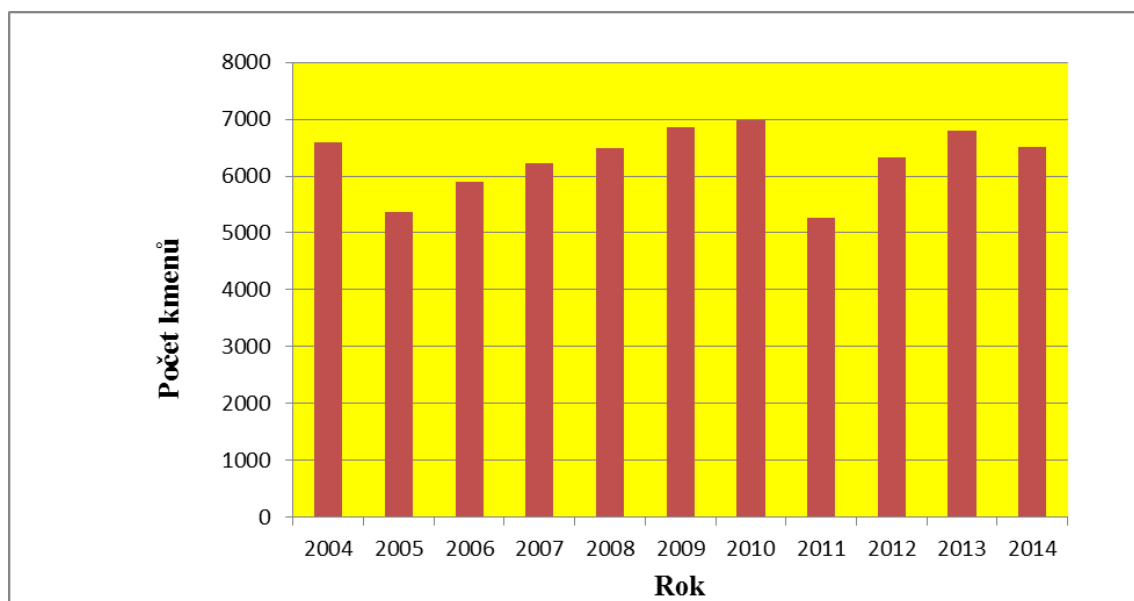
Za poslední čtyři roky byly nejčastěji uživatelům poskytnuty kmeny:

- mlékářenských mikroorganismů (864 poskytnutých kmenů)

- pivovarských mikroorganismů (755 kmenů)
- fytopatogenních hub VÚRV (413 kmenů)
- zoopatogenních mikroorganismů (369 kmenů)
- zemědělsky významných basidiomycetů (283 kmenů).

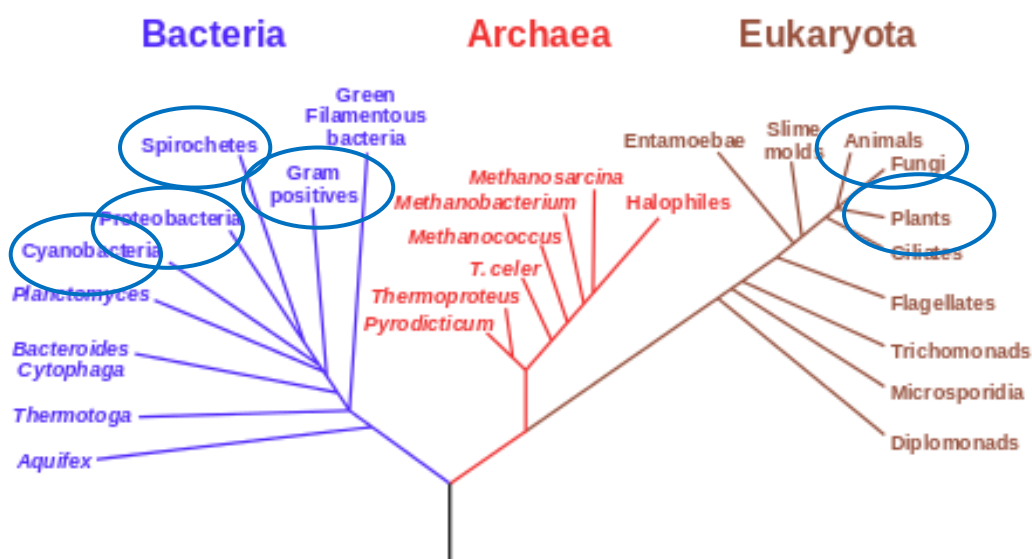
9. PŘEHLED SKUPIN SBÍRKOVÝCH POLOŽEK

Sbírký NPM sdružují ve svých kolekcích mimořádně širokou škálu organismů (Obr. 2, Přehled taxonů). Počet aktivně udržovaných položek dlouhodobě kolísá mezi 5500 – 7000 kmeny (Obr. 1). Například v roce 2014 sbírky zařazené do NPM sdružovaly 6500 aktivně udržovaných položek, což odpovídá téměř 1200 druhům nebo nižším taxonomickým jednotkám. Uchovávané kmeny lze zařadit do všech říší systému organismů, a to Bacteria, Chromista, Fungi, Plantae a Animalia a dále mezi nebuněčné organismy (viry a viroidy).



Obrázek 1: Počtu kmenů v rámci NPM

9.1. Systematické zařazení sbírkových položek/kmenů



Obrázek 2: Fylogenetický strom života se znázorněním skupin, zastoupených v NPM

9.2. Přehled taxonomických kategorií zastoupených v NPM

Viruses

Herpesvirales

Mononegavirales

Nidovirales

Picornavirales

Tymovirales

a četné viry zařazené do čeledí, ale dosud nezařazené do řádu

Archea

Bacteria

Cyanobacteria

Proteobacteria

Spirochetes

Gram positives

<u>Eukarya</u>	Chromista	odd. Oomycota		
	Fungi	odd. Eumycota		
		Zygomycotina	Mucorales	
		Ascomycotina	Ascosphaerales	
			Eurotiales	
			Microascales	
			Ophiostomatales	
			Onygenales	
		Deuteromycotina		
		Basidiomycotina		
	Plantae	odd. Chlorophyta		
		odd. Charophyta		
	Animalia	Arthropoda	Arachnida	Acari
			Insecta	Aleyrodomorpha
				Aphidoidea
				Auchenorrhyncha
				Coleoptera
				Diptera
				Heteroptera
				Hymenoptera
				Lepidoptera
				Psocoptera
		Nematoda		

Isopoda

Millipeda

Pulmonata

Nebuněčné organismy

Ve sbírkách jsou udržovány fytopatogenní viry a viroidy obilnin, bramboru, ovocných dřevin a drobného ovoce, révy vinné, zelenin, okrasných rostlin a chmele, izolované z hostitelských zdrojů České republiky a izoláty virů důležité pro diagnostiku a výzkum virových chorob rostlin získané v zahraničí. Ve sbírce zoopatogenních mikroorganismů je uchovávána rozsáhlá kolekce kultur živočišných virů významných z hlediska veterinární medicíny.

Říše Bacteria

Ve sbírkách jsou udržovány hospodářsky významné fytopatogenní bakterie, škodící na ovocných a okrasných dřevinách, zeleninách, révě vinné, okopaninách a obilninách. Mezi škodlivé mikroorganismy náleží zoopatogenní bakterie, významné z hlediska veterinární medicíny a obecné a speciální mikrobiologie.

Do této říše náleží také autotrofní prokaryotické sinice. Mezi prospěšné bakterie se řadí fixátoři vzdušného dusíku – rhizobia, rody *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* a *Sinorhizobium*, doplněné o několik kmenů bakterií rodu *Azotobacter*.

Ve sbírkách jsou uchovávány kmeny důležité z hlediska využití v potravinářském průmyslu (mlékárenství). Jsou zde kmeny, které mohou nalézt uplatnění při výrobě mléčných výrobků (sýrů, jogurtů, kysaných mléčných nápojů, másla, kefírů, aj.).

Říše Chromista

Zástupci této říše jsou houbám podobné organismy, převážně biotrofní fytopatogeny zelenin, bramboru, ovocných a okrasných dřevin, listnatých stromů. Do této říše náleží rody *Bremia*, *Hyaloperonospora*, *Pseudoperonospora*, *Plasmopara*, *Phytophthora* a *Pythium*.

Říše Fungi

Ve sbírkách jsou uchovávány kmeny kvasinek, důležité z hlediska využití v potravinářském průmyslu (mlékárenství, pivovarnictví). Další skupinou mikroorganismů jsou kvasinky, využitelné ve vinařství a při výrobě droždí. Kromě toho mají uchovávané kmeny uplatnění při likvidaci ropných materiálů, při bioremediaci a detoxifikaci a dále se některé kmeny využívají v potravinářství pro výrobu speciálních dietetik.

V databázi Národního programu jsou zahrnuty houby kontaminující potraviny, houby toxinogenní a potenciálně toxinogenní, fytopatogenní a potenciálně fytopatogenní se širokým spektrem hostitelů, entomopatogenní houby a houby s biotechnologickým významem. Velkou skupinu tvoří dřevokazné basidiomycety a basidiomycety a askomycety vhodné k pěstování jako jedlé a léčivé druhy.

Samostatnou skupinou z hlediska uchovávání jsou biotrofní patogenní rzi (pšeničná, travní a plevová) a padlí travní.

Říše Plantae

Do říše rostlin náleží vodohospodářsky významné zelené řasy z oddělení Chlorophyta a Charophyta.

Říše Animalia

Součástí NPM jsou také dvě sbírky škůdců; a to hmyzích rostlinných škůdců, jejich nepřátel a škůdců skladovaných komodit a potravin. V chovech živých živočišných škůdců a jejich antagonistů je udržováno okolo 35 druhů. Většina druhů patří mezi živočišné škůdce z řádu hmyzu: ploštice (Heteroptera), křísi (Auchenorrhyncha), mšice (Aphidoidea), molice (Aleyrodomorpha), brouci (Coleoptera), motýli (Lepidoptera) i dvoukřídlí (Diptera)), chováni jsou však i jejich přirození nepřátelé, zejména z řádu blanokřídлых (Hymenoptera). Z dalších živočišných skupin jsou ve sbírce zahrnuti zástupci kmene hlístů (Nematoda), řádu plicnatých plžů (Pulmonata), třídy mnohonožek (Millipeda), řádu suchozemských stejnonožců (Isopoda) a řádu roztočů (Acari).

10. PŘÍLOHY

10.1. Národní program mikroorganismů

Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu (Národní program mikroorganismů) 2012 - 2016

1. Poslání a východiska

Sbírky Národního programu mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu (dále jen NP mikroorganismů nebo NPM) uchovávají charakterizované kmeny fytopatogenních a zoopatogenních virů, viroidů, fytoplazem, bakterií, řas, hub, stejně jako významných druhů bezobratlých živočichů - hmyzu, roztočů a nematod, které slouží jako referenční vzorky pro řadu uživatelů, především laboratoře státní správy, dále k vývoji detekčních metod nebo veterinárních biopreparátů. Bohaté spektrum patogenů je využíváno šlechtiteli k hledání nových a ověřování stávajících genových zdrojů rezistence rostlin. Chovy skladištních škůdců a škodlivého hmyzu bez rezistence proti pesticidům jsou nepostradatelné pro další výzkum, spočívající v testování nových přípravků na ochranu rostlin nebo pro použití v potravinářských a zemědělských skladech.

Ve sbírkách jsou dále uchovávány nepatogenní kmeny důležité pro zpracování zemědělské produkce, využití v potravinářském průmyslu (mlékárenství, pivovarnictví, jedlé houby). Jsou zde uchovány kmeny, které se uplatňují při výrobě mléčných výrobků (sýrů, jogurtů, kysaných mléčných nápojů, másla, kefírů, aj.). Další skupinou mikroorganismů jsou kvasinky, využitelné ve vinařství, pivovarnictví a při výrobě droždí. Kromě toho mají některé uchovávané kmeny uplatnění při likvidaci ropných materiálů, při bioremediaci a detoxikaci zemědělské půdy a ostatních složek životního prostředí. Některé kmeny se využívají v potravinářství pro výrobu speciálních dietetik.

2. Cíle pro období 2012 – 2016

- shromažďování genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů významných pro zemědělství
- konzervace genetických zdrojů mikroorganismů *ex situ* ve sbírkách, bezpečné udržení těchto genetických zdrojů a jejich biodiversity
- evidence a dokumentace genetických zdrojů, jejich charakterizace na molekulární úrovni a hodnocení jejich vlastností z hlediska využitelnosti pro zemědělství
- podpora efektivního využití sbírek mikroorganismů pro aplikovaný výzkum, šlechtění zemědělských plodin, zemědělskou praxi a státní správu.
- rovné a vzájemně prospěšné sdílení výsledných přínosů genetických zdrojů, zjednodušení přístupu ke genetickým zdrojům zejména pro výzkum a vývoj
- rozvoj mezinárodní spolupráce, mezinárodní výměna genetických zdrojů mikroorganismů.

3. Struktura a organizace

Koordinaci činnosti NP mikroorganismů provádí **pověřená osoba** ve smyslu zákona č. 148/2003 Sb., o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů, Touto činností je pověřen VÚRV, který prostřednictvím MZe jmenuje **národního koordinátora programu**.

Účastníky NPM jsou **jednotlivé sbírky**, reprezentované vedoucími sbírek jakožto **zodpovědnými osobami (garanty)**. Zařazení sbírky do NPM se řídí podle §§ 4 a 5 zákona č. 148/2003 Sb., o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů. K 31. 12. 2014 bylo účastníky NPM 20 sbírek mikroorganismů a drobných živočichů, umístěných u 12 právnických osob. Seznam viz bod 10.2.2.

Konzultačním a poradním orgánem pověřené osoby (VÚRV) a účastníků NP mikroorganismů je **Rada GZ mikroorganismů**. Rada GZ mikroorganismů plní rovněž funkci expertní skupiny pro potřeby MZe; vyjadřuje se ke spolupráci s mezinárodními organizacemi a k mezinárodní spolupráci účastníků NP mikroorganismů. Činnost Rady GZ mikroorganismů vychází ze zákona č. 148/2003 a z vyhlášky č. 458/2003 Sb. Stanoviska Rady GZ mikroorganismů mají charakter doporučení. Rada GZ mikroorganismů je také platformou pro vědeckou a odbornou diskusi k problematice genofondů GZ mikroorganismů, biodiversity a přispívá k propagaci GZ. Podrobněji viz bod 10.2.3.

4. Specifické metodické aktivity

Veškerá činnost v rámci NP mikroorganismů se řídí dle schválených metodik.

Mezi specifické postupy konzervace genových zdrojů mikroorganismů patří především:

- Lyofilizace
- Kryokonzervace (např. v kapalném dusíku či v hlubokomrazícím boxu)
- Přemnožování na hostitelských rostlinách

Životaschopnost izolátů je kontrolována na základě individuálních růstových, morfologických či biochemických vlastností jednotlivých skupin mikroorganismů. Upřesňují se růstové a fyziologické vlastnosti kultur pro výzkumné účely, případně reidentifikace kmenů podle nových vědeckých poznatků.

5. Mezinárodní spolupráce

Sbírky mikroorganismů a drobných živočichů vyvíjejí aktivitu na mezinárodní úrovni spočívající v začlenění do mezinárodních organizací, v poskytování a výměně kmenů a informací, v účasti na specializovaných konferencích a workshopech. Řešitelé jsou členy národních a mezinárodních profesních odborných a vědeckých organizací (International Society for Horticultural Science, EUCARPIA, PVY-Wide organization, International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine, International Working Group on Legume and Vegetable Viruses (IWGLVV), European Foundation for Plant Pathology, Česká fytopatologická společnost, Česká vědecká společnost pro mykologii, Československá společnost mikrobiologická). Sbírky jsou v mnoha případech členy národních (Federace československých sbírek mikroorganismů, National Library of Medicine Database Maintenance Project) a mezinárodních organizací sdružujících sbírky genových zdrojů mikroorganismů, jako jsou World Federation for Culture Collections (WFCC) s evidencí ve World Data Center of Microorganisms, European Culture Collections Organization (ECCO), Federation of European Microbiological Societies (FEMS)

6. Využití GZ a poskytované služby

Kmeny mikroorganismů a drobných živočichů, udržované v rámci NP mikroorganismů, jsou na požádání vydávány domácím vědeckým i zahraničním pracovištím základního i aplikovaného výzkumu a šlechtitelským institucím, univerzitám, vysokým a středním školám a orgánům státní správy. Každoročně je takto vydáváno kolem 700 kmenů domácím i zahraničním žadatelům. V rámci mezinárodní spolupráce a výměny informací poskytují sbírky údaje o uchovávaných položkách, katalogy a kmeny do zahraničí.

Největší část poskytnutých položek je využívána při řešení výzkumných projektů a jako studijní materiál. Každoročně jsou kmeny NP mikroorganismů využity při řešení 80 – 170 projektů základního i aplikovaného výzkumu a vývoje, jejichž výstupy jsou nejen vědecké publikace, ale i užité vzory a patenty. Sbírkou se poskytnutím genetického materiálu podílí každoročně na vypracování více než 100 původních vědeckých publikací, odborných publikací, metodik a příspěvků do sborníků, stejně tak jako na příspěvcích pro odbornou veřejnost a pro praxi, přednesených na konferencích, workshopech a odborných seminářích.

Sbírkou slouží přímo jako podpora šlechtitelství a rostlinolékařství, pro diagnostiku a arbitrážní řízení. Sbírkou poskytují charakterizované kmeny fytopatogenních a zoopatogenních virů, bakterií, a hub, které slouží jako referenční kmeny při identifikaci, dále k přípravě detekčních nástrojů (specifické primery, optimalizované PCR postupy, specifické protilátky, proteinové profily), jako referenční kmeny - pozitivní kontroly pro laboratoře státní správy, také pro rutinní testování při certifikaci zdravotního stavu zemědělských plodin v diagnostických laboratořích Státní rostlinolékařské správy, pro kontrolu kvality.

Uchovávané kmeny jsou též využívány pro infekční testy, v nichž se zjišťuje odolnost odrůd a novošlechtění v pokusech Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského a privátních šlechtitelských firem. Vzorky se rovněž využívají v národních a mezinárodních kruhových testech. Údaje o jednotlivých položkách všech sbírek jsou ukládány do veřejné centrální databáze umístěné na internetových stránkách VÚRV (<http://www.vurv.cz/collections/vurv.exe/search?lang=cz>). Tato databáze slouží jako zdroj informací pro širokou veřejnost. Všechny sbírky provádí průběžně aktualizaci a kontrolu záznamů.

10.2. Struktura a koordinace NPM, poradní orgány

10.2.1. Koordinace NPM

Koordinaci činnosti NPM provádí pověřená osoba ve smyslu zákona č. 148/2003 Sb., o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů, která jmenuje osobu koordinátora. Touto činností je pověřen VÚRV. V rámci NPM je prováděna koordinace aktivit sbírek genetických zdrojů fytopatogenních a zoopatogenních virů a bakterií, fytopatogenních hub, užitečných organismů jako jsou rhizobia, průmyslově využitelné bakterie, kvasinky a askomycety a basidiomycety, hmyzích rostlinných škůdců a jejich antagonistů a škůdců skladovaných komodit. Sbírkou NPM zahrnují 20 pracovišť; z toho 12 pracovišť ve výzkumných ústavech a organizacích a 8 organizačních jednotek VÚRV.

10.2.2. Seznam účastníků NPM

K 31. 12. 2014 byly účastníky NPM následující právnické osoby a jejich sbírky:

Sbírka fytopatogenních virů brambor

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

Zodp. řešitel: Ing. Petr Dědič, CSc.

e-mail: dedic@vubhb.cz, tel: 605875454

Sbírka virů ovocných dřevin a drobného ovoce

Pracoviště: VŠÚO Holovousy, s.r.o.

Zodp. řešitel: Ing. Jana Suchá

e-mail: sucha.vsuo@seznam.cz, tel: 493692821

Sbírka virů okrasných rostlin

Pracoviště: VÚKOZ, v.v.i., Průhonice

Zodp. řešitel: Ing. Josef Mertelík, CSc.

e-mail: mertelik@vukoz.cz, tel: 296528294

Sbírka fytopatogenních oomycetů

Pracoviště: VÚKOZ, v.v.i., Průhonice

Zodp. řešitel: Ing. Marcela Mrázková

e-mail: mrzkova@vukoz.cz, tel: 296528234

Sbírka zoopatogenních mikroorganismů

Pracoviště: Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

Zodp. řešitel: MVDr. Markéta Reichelová

e-mail: reichelova@vri.cz, tel: 533332131

Sbírka mlékářských mikroorganismů Laktoflora

Pracoviště: Milcom, a.s., Tábor

Zodp. řešitel: Ing. Petr Roubal, CSc.

e-mail: sbirka@vum-tabor.cz, tel: 381259014

Sbírka pivovarských mikroorganismů

Pracoviště: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Praha

Zodp. řešitel: RNDr. Dagmar Matoulková, Ph.D.

e-mail: matoulkova@beerresearch.cz, tel: 224900132

Sbírka průmyslově využitelných mikroorganismů

Pracoviště: Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Zodp. řešitel: Ing. Alexandra Prošková

e-mail: Alexandra.Proskova@vupp.cz, tel: 296792206

Sbírka fytopatogenních mikroorganismů (fytopatogenních hub, vybraných fytoplazem a izolátů virů, a hospodářsky významných sinic a řas)

Pracoviště: Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta – katedra botaniky

Zodp. řešitel: Prof. Ing. Aleš Lebeda, DrSc.

e-mail: ales.lebeda@upol.cz, tel: 585634800

Sbírka basidiomycetů hospodářsky významných pro zemědělství

Pracoviště: Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

Zodp. řešitel: RNDr. Ladislav Homolka, CSc., RNDr. Ivana Eichlerová, Ph.D.

e-mail: homolka@biomed.cas.cz, eichler@biomed.cas.cz, tel: 241062397

Sbírka patogenů chmele

Pracoviště: Chmelařský institut, s.r.o., Žatec

Zodp. řešitel: Ing. Petr Svoboda, CSc.

e-mail: p.svoboda@telecom.cz, tel: 415732121

Sbírka zemědělsky a potravinářsky významných kultur toxinogenních, fytopatogenních a entomopatogenních hub

Pracoviště: Universita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta UK

Zodp. řešitel: RNDr. Alena Kubátová, CSc.
e-mail: kubatova@natur.cuni.cz, tel: 221951656

Sbírka fytopatogenních virů a kolekce virových patogenů na ovocných dřevinách a révě vinné v technickém izolátu

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor rostlinolékařství
Zodpovědný kurátor: Ing. Jiří Svoboda, Ph.D.
e-mail: jiri.svo@vurv.cz, tel: 233022303

Sbírka fytopatogenních bakterií a referenčních protilátek

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor rostlinolékařství
Zodpovědný kurátor: Ing. Iveta Pánková, Ph.D.
e-mail: pankova@vurv.cz, tel: 233022442

Sbírka fytopatogenních a dalších zemědělsky významných hub

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor rostlinolékařství
Zodpovědný kurátor: RNDr. David Novotný, Ph.D.
e-mail: novotny@vurv.cz, tel: 233022373, 233022358

Sbírka rhizobií

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor výživy rostlin
Zodpovědný kurátor: Ing. Lenka Kabátová
e-mail: kabatova@vurv.cz, tel: 233022308

Sbírka rzí a padlí travního

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor genetiky, šlechtění a kvality produkce
Zodpovědný kurátor: Mgr. Alena Hanzalová, Ph.D.
e-mail: hanzalova@vurv.cz, tel: 233022243

Sbírka živočišných škůdců zemědělských plodin a jejich antagonistů

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor rostlinolékařství
Zodpovědný kurátor: Doc. RNDr. Pavel Saska, Ph.D.
e-mail: saska@vurv.cz, tel: 233022332

Chovy a sbírky skladištních škůdců, roztočů a mikroskopických hub

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Praha – Ruzyně, odbor rostlinolékařství
Zodpovědný kurátor: Ing. Radek Aulický, Ph.D.
e-mail: aulicky@vurv.cz, tel: 233022360

Sbírka zahradnický významných hub - makromycetů

Pracoviště: VÚRV v.v.i. Olomouc, odbor genetiky, šlechtění a kvality produkce
Zodpovědný kurátor: Ing. Karel Dušek, CSc.
e-mail: dusek@genobanka.cz, tel: 585209963

10.2.3. Rada genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu

Rada genetických zdrojů mikroorganismů (dále Rada GZM) je odborným konzultačním a poradním orgánem Pověřeně osoby a účastníků NPM. Rada GZM plní rovněž funkci expertní skupiny pro potřeby Ministerstva zemědělství ČR; vyjadřuje se ke spolupráci s mezinárodními organizacemi a k mezinárodní spolupráci účastníků NPM. Činnost Rady GZM vychází ze zákona č. 148/2003 o konzervaci a využívání genetických zdrojů rostlin a mikroorganismů významných pro výživu a

zemědělství a z prováděcí vyhlášky k tomuto zákonu. Stanoviska Rady GZM mají charakter doporučení.

Rada GZM projednává a posuzuje zejména:

1. Dodržování metodických zásad a platných standardů a jejich potřebné inovace na všech úsecích práce s GZM.
 2. Provádí pravidelná hodnocení (výroční zprávy, periodická hodnocení, kontroly) výsledků práce jednotlivých účastníků a celého NPM, doporučuje změny řešení a priority.
 3. Posuzuje finanční a organizačního zajištění NPM, popř. přispívá k vyhledávání dalších finančních zdrojů pro řešení návazných výzkumných projektů.
 4. Posuzuje žádosti o účast v NPM a předkládá doporučení MZe a pověřené osobě.
 5. Posuzuje návrhy účastníků NPM na změny či ukončení jejich účasti v Národním programu.
 6. Poskytuje odbornou a metodickou pomoc při práci se sbírkami mikroorganismů, se zvláštním důrazem na zachování, konzervaci a setrvalé využívání genetických zdrojů.
 8. Podporuje rozvoj mezinárodní spolupráce a naplňování smluvních závazků, přispívá k mezinárodní výměně genetických zdrojů.
 9. Podporuje spolupráci s domácími i zahraničními organizacemi a institucemi, včetně nevládních organizací, při ochraně genetických zdrojů a biodiversity mikroorganismů a pro setrvalé využívání těchto zdrojů.
 10. Napomáhá efektivní spolupráci s aplikovaným výzkumem, šlechtěním, zemědělskou praxí a státní správou při optimálním využití GZM.
 11. Vytváří platformu pro vědeckou a odbornou diskusi k problematice genofondů GZM, biodiversity a přispívá k propagaci genetických zdrojů.
- Doporučuje řešení výzkumných projektů na úseku konzervace a uchování GZM.

10.3. PŘEHLED DRUHŮ UCHOVÁVANÝCH VE SBÍRKÁCH NPM (řazeno abecedně dle latinských jmen)

10.3.1. Viry a viroidy

Agropyron mosaic virus
Alcelaphine herpesvirus 1
Alfalfa mosaic virus
Apple chlorotic leafspot virus
Apple mosaic virus
Apple stem grooving virus
Apple stem pitting virus
Arabid mosaic virus
Avian orthoreovirus
Barley yellow dwarf virus, kmeny PAV a PAS
Bean common mosaic virus
Bovine adenovirus
Bovine coronavirus
Bovine enterovirus
Bovine herpesvirus 1
Bovine herpesvirus 2
Bovine herpesvirus 4
Bovine papular stomatitis virus
Bovine parainfluenza virus 3
Bovine parvovirus
Bovine respiratory syncytial virus
Bovine rotavirus
Bovine viral diarrhea virus
Broad bean wilt virus-1
Broad bean wilt virus-2
Brome mosaic virus
Calibrachoa mottle virus
Canid herpesvirus 1
Canine adenovirus
Canine coronavirus
Canine parainfluenza virus
Canine parvovirus
Carnation mottle virus
Cauliflower mosaic caulimovirus
Classical swine fever virus
Cocksfoot streak virus
Columbid herpesvirus
Cowpox virus
Cucumber mosaic virus
Dahlia mosaic virus
Dasheen mosaic virus
Encephalomyocarditis virus
Equid herpesvirus 1
Equid herpesvirus 2
Equid herpesvirus 3
Equine arteritis virus
Equine rhinitis A virus
European stone fruit yellows, patotypy LČR, PČR a LSRN
Feline calicivirus
Feline parvovirus
Fowl adenovirus
Fowlpox virus
Gallid herpesvirus
Grapevine fleck virus
Grapevine leafroll-associated virus 1, kmeny A a E
Grapevine Red Globe virus
Grapevine virus A
Grapevine virus B
Hop latent viroid
Hop latent virus
Hop mosaic virus
Hydrangea ring spot virus
Cherry leaf roll virus
Chrysanthemum stunt viroid
Chrysanthemum virus B
Impatiens necrotic spot virus
Infectious bronchitis virus
Infectious pancreatic necrosis virus
Influenza A virus (avian)
Influenza A virus (equine)
Influenza A virus (swine)
Kilham rat virus
Lettuce mosaic virus
Lolium latent virus
Mammalian orthoreovirus
Mice minute virus
Murid herpesvirus 1
Myrobalan latent ringspot virus
Myxomavirus
Newcastle disease virus
Oat necrotic mottle virus
Odontoglossum ring spot virus
Onion yellow dwarf virus

Ovine adenovirus
 Pea enation mosaic virus
 Pea seed borne mosaic virus
 Pelargonium flower break virus
 Pepper mild mottle virus
 Perdicid herpesvirus 1
 Petunia asteroid mosaic virus
 Pheasant adenovirus1
 Pigeonpox virus
 Plum pox virus
 Plum pox virus kmeny Vegama, D, M, Rec, EA
 Poplar mosaic virus
 Potato spindle tuber viroid
 Porcine parvovirus
 Porcine adenovirus
 Porcine enterovirus
 Porcine epidemic diarrhea virus
 Porcine haemaggl. encephalomyelitis
 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus
 Porcine rotavirus
 Porcine teschovirus
 Potato leafroll virus
 Potato potyvirus Y
 Potato spindle tuber viroid
 Potato virus A
 Potato virus M
 Potato virus S
 Potato virus X
 Potato virus Y
 Prune dwarf virus
 Prunus necrotic ringspot virus
 Psittacid herpesvirus
 Rabbit fibroma virus
 Rabbit hemorrhagic disease virus
 Rupestris stem pitting associated virus
 Ryegrass mosaic virus
 Scrophularia mottle virus
 Sendai virus
 Spring viremia of carp virus
 Squash mosaic virus
 Strawberry latent ringspot virus
 Strawberry mottle virus
 Strigid herpesvirus 1
 Suid herpesvirus 1

Suid herpesvirus 2
 Swinepox virus
 Tobacco mosaic virus
 Tobacco necrosis virus
 Tobacco streak virus
 Tomato aspermy virus
 Tomato black ring virus
 Tomato bushy stunt virus
 Tomato mosaic virus
 Tomato spotted wilt virus
 Transmissible gastroenteritis virus
 Turnip mosaic virus
 Turnip yellow mosaic virus
 Vaccinia virus
 Vesicular stomatitis Indiana virus
 Vesicular stomatitis New Jersey virus
 Viral hemorrhagic septicemia virus
 Watermelon mosaic virus 2
 Wheat dwarf virus, pšeničný a ječný kmen
 Wheat streak mosaic virus

10.3.2. Bakterie

Acinetobacter calcoaceticus
Acinetobacter lwoffii
Actinobacillus arthritidis
Actinobacillus equuli
Actinobacillus lignieresii
Actinobacillus pleuropneumoniae
Actinobacillus rossii
Actinobacillus suis
Actinobacillus ureae
Actinomyces bovis
Aeromonas hydrophila
Aeromonas salmonicida
Aeromonas salmonicida subsp. achromogenes
Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida
Agrobacterium tumefaciens
Agrobacterium vitis
Alcaligenes faecalis
Arcanobacterium haemolyticum
Avibacterium gallinarum

Avibacterium volantium
Azotobacter agile
Azotobacter chroococcum
Azotobacter indicus
Azotobacter spp.
Bacillus (Paenibacillus) macerans
Bacillus cereus
Bacillus stearothermophilus
Bacillus subtilis

Bifidobacterium adolescentis

Bifidobacterium angulatum
Bifidobacterium animalis
 subsp. *animalis*
Bifidobacterium animalis
 subsp. *lactis*
Bifidobacterium asteroides
Bifidobacterium bifidum
Bifidobacterium boum
Bifidobacterium breve

Bifidobacterium catenulatum

Bifidobacterium crudilactis
Bifidobacterium dentium
Bifidobacterium gallicum
Bifidobacterium choerinum
Bifidobacterium
 kashiwanohense
Bifidobacterium longum
 subsp. *infantis*
Bifidobacterium longum
 subsp. *longum*
Bifidobacterium longum
 subsp. *suis*
Bifidobacterium merycicum

Bifidobacterium mongoliense

Bifidobacterium
 pseudocatenulatum
Bifidobacterium
 pseudolongum subsp.
 globosum

Bifidobacterium
 pseudolongum subsp.
 pseudolongum

Bifidobacterium psychraerophilum

Bifidobacterium ruminantium

Bifidobacterium scardovii
Bifidobacterium sp.
Bifidobacterium stercoris
Bifidobacterium
 thermacidophilum subsp.
 porcinum

Bifidobacterium
 thermacidophilum subsp.
 thermacidophilum

Bifidobacterium thermophilum

Bifidobacterium tsurumiense
Bordetella bronchiseptica
Bradyrhizobium japonicum
Brachyspira hyodysenteriae
Brachyspira innocens
Brevibacterium linens
Brucella abortus
Brucella inopinata
Brucella melitensis
Brucella microti
Brucella ovis
Brucella suis
Burkholderia pseudomallei
Campylobacter fetus subsp.
 fetus
Campylobacter fetus subsp.
 venerealis
Campylobacter jejuni
Campylobacter sputorum
 subsp. *bubulus*
Candida boidinii
Candida ethanolica
Candida lipolytica
Candida mogii
Candida obtusa
Candida parapsilosis
Candida pseudotropicalis
Candida robusta
Candida tropicalis
Candida utilis

Carnobacterium divergens
Carnobacterium maltaromaticum
Citrobacter freundii
Clavibacter michiganensis subsp. insidiosus
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus
Clostridium botulinum
Clostridium butyricum
Clostridium histolyticum
Clostridium chauvoei
Clostridium novyi
Clostridium perfringens
Clostridium septicum
Clostridium sp.
Clostridium sporogenes
Clostridium tyrobutyricum
Corynebacterium kutscheri
Corynebacterium pseudotuberculosis
Curtobacterium citreum
Curtobacterium pusillum
Dermatophilus congolensis
Dickeya chrysanthemi
Dichelobacter nodosus
Endomycopsis fibuliger
Enterobacter aerogenes
Enterococcus durans
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Enterococcus italicus
Enterococcus mundtii
Erwinia amylovora
Erysipelothrix tonsillarum
Erysipelothrix rhusiopathiae
Escherichia coli
Fabospora fragilis
Flavobacterium johnsoniae
Francisella tularensis subsp. holarctica
Francisella tularensis subsp. novicida

Francisella tularensis subsp. tularensis
Fusobacterium necrophorum
Gallibacterium anatis
Gallibacterium genomospecies 1
Gallibacterium genomospecies 2
Haemophilus „piscium“
Haemophilus parasuis
Haemophilus sp. "taxon C"
Hafnia alvei
Hansenula anomala
Histophilus somni
Klebsiella oxytoca
Klebsiella pneumoniae
Kluyveromyces lactis
Kocuria kristinae
Kocuria rosea
Lactobacillus acidifarinae
Lactobacillus acidipiscis
Lactobacillus acidophilus
Lactobacillus amylolyticus
Lactobacillus amylophilus

Lactobacillus amylophilus

Lactobacillus amylovorus
Lactobacillus animalis
Lactobacillus antri
Lactobacillus brevis
Lactobacillus buchneri
Lactobacillus casei
Lactobacillus casei subsp. casei
Lactobacillus coleohominis
Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis
Lactobacillus coryniformis subsp. torquens
Lactobacillus crispatus
Lactobacillus curvatus
Lactobacillus delbrueckii
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

Lactobacillus delbrueckii
subsp. delbrueckii

Lactobacillus delbrueckii
subsp. indicus

Lactobacillus delbrueckii
subsp. lactis

Lactobacillus fermentum

Lactobacillus fructivorans

Lactobacillus frumenti

Lactobacillus gallinarum

Lactobacillus gasseri

Lactobacillus gastricus

Lactobacillus hammesii

Lactobacillus helveticus

Lactobacillus hilgardii

Lactobacillus iners

Lactobacillus intestinalis

Lactobacillus jensenii

Lactobacillus johnsonii

Lactobacillus kalixensis

Lactobacillus kefiranofaciens
subsp. kefiranofaciens

Lactobacillus kefiranofaciens
subsp. kefirgranum

Lactobacillus kefiri

Lactobacillus kimchii

Lactobacillus kitasatonis

Lactobacillus mindensis

Lactobacillus mucosae

Lactobacillus nagelii

Lactobacillus nantensis

Lactobacillus oris

Lactobacillus panis

Lactobacillus parabrevis

Lactobacillus parabuchneri

Lactobacillus paracasei

Lactobacillus paracasei subsp.
paracasei

Lactobacillus paracasei subsp.
tolerans

Lactobacillus parakefiri

Lactobacillus paralimentarius

Lactobacillus paraplantarum

Lactobacillus pentosus

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus plantarum
subsp. argentoratensis

Lactobacillus pontis

Lactobacillus rennini

Lactobacillus reuteri

Lactobacillus rhamnosus

Lactobacillus rossiae

Lactobacillus ruminis

Lactobacillus saerimneri

Lactobacillus sakei subsp.
carnosus

Lactobacillus sakei subsp.
sakei

Lactobacillus salivarius

Lactobacillus salivarius subsp.
salivarius

Lactobacillus sanfranciscensis

Lactobacillus saniviri

Lactobacillus senioris

Lactobacillus sharpeae

Lactobacillus spicheri

Lactobacillus spp.

Lactobacillus ultunensis

Lactobacillus vaginalis

Lactobacillus zeae

Lactobacillus zymae

Lactococcus chungangensis

Lactococcus lactis

Lactococcus lactis subsp.
cremoris

Lactococcus lactis subsp.
hordniae

Lactococcus lactis subsp.
lactis

Lactococcus plantarum

Lactococcus raffinolactis

Lactococcus sp.

Leifsonia aquatica

Leuconostoc citreum

Leuconostoc fallax

Leuconostoc lactis

Leuconostoc mesenteroides
 subsp. *dextranicum*
Leuconostoc mesenteroides
 subsp. *mesenteroides*
Leuconostoc mesenteroides
 subsp. *cremoris*
Leuconostoc
pseudomesenteroides
Leuconostoc sp.
Listeria grayi
Listeria ivanovii subsp.
ivanovii
Listeria monocytogenes
Listeria seeligeri
Listonella angularum
Mannheimia haemolytica
Megasphaera spp.
Microbacterium testaceum
Micrococcus luteus
Micrococcus sp.
Moraxella bovis
Mycobacterium avium
Mycobacterium avium subsp.
avium
Mycobacterium bovis

Mycobacterium farcinogenes

Mycobacterium fortuitum

Mycobacterium intracellulare

Mycobacterium kansasii

Mycobacterium parafortuitum

Mycobacterium senegalense
Mycobacterium vaccae
Obesumbacterium proteus
Oenococcus oeni
Paenibacillus alvei
Paenibacillus larvae
Paenibacillus xylonicus
Pantoea agglomerans
Pantoea dispersa
Pasteurella caballi
Pasteurella multocida
Pasteurella pneumotropica

Pectinatus spp.
Pectobacterium
betavasculorum

Pectobacterium carotovorum
 subsp. *atrosepticum*

Pectobacterium carotovorum
 subsp. *carotovorum*

Pediococcus acitilactici
Pediococcus damnosus
Pediococcus inopinatus
Pediococcus parvulus
Pediococcus pentosaceus
Pediococcus spp.
Pediococcus stilesii
Peptococcus niger
Pichia membranaefaciens
Pichia polymorpha
Plesiomonas shigelloides
Propionibacterium
acidipropionici

Propionibacterium
freudenreichii subsp.
freudenreichii

Propionibacterium
freudenreichii subsp.
shermanii

Propionibacterium jensenii
Propionibacterium sp.
Propionibacterium thoenii
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas cichorii
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas fulva
Pseudomonas marginalis
Pseudomonas putida
Pseudomonas savastanoi
Pseudomonas species
Pseudomonas synxantha
Pseudomonas syringae
Pseudomonas syringae pv.
aesculi

Pseudomonas syringae pv.
Lachrymans
Pseudomonas syringae pv.
morsprunorum
Pseudomonas syringae pv.
syringae
Pseudomonas syringae pv.
tagetis
Pseudomonas tolaasii
Pseudomonas viridiflava
Rhizobium leguminosarum
Rhizobium loti
Rhizobium phaseoli
Rhizobium rhizogenes
Rhizobium spp.
Rhizobium trifolii
Rhodococcus equi
Rhodotorula glubini
Riemerella anatipestifer
Rikenella microfus
Saccharomyces bayanus

Saccharomyces carlsbergensis

Saccharomyces cerevisiae
Salmonella enterica
Salmonella enterica subsp.
arizonae
Salmonella enterica subsp.
enterica
Selenomonas spp.
Serratia marcescens
Shigella flexneri
Sinorhizobium fredii
Sinorhizobium meliloti
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus hyicus
Staphylococcus intermedius
Staphylococcus
piscifermentans
Staphylococcus
saccharolyticus
Stenotrophomonas
malthophilia
Streptococcus agalactiae

Streptococcus bovis
Streptococcus criceti
Streptococcus dysgalactiae

Streptococcus equi subsp. *equi*

Streptococcus equi subsp.
zooepidemicus
Streptococcus equinus
Streptococcus gallolyticus
subsp. *macedonicus*
Streptococcus intestinalis
Streptococcus lactarius
Streptococcus mutans
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus porcinus
Streptococcus rattii
Streptococcus sobrinus
Streptococcus sp.
Streptococcus suis
Streptococcus thermophilus
Streptococcus uberis
Streptomyces scabiei
Taylorella equigenitalis

Tetragenococcus halophilus

Tetragenococcus halophilus
subsp. *halophilus*
Torulopsis ethanolitolerans
Torulopsis azima
Torulopsis lactis
Torulopsis sphaerica
Trueperella pyogenes
Vibrio alginolyticus
Vibrio parahaemolyticus
Weissella minor

Weissella paramesenteroides

Xanthomonas campestris
Yersinia enterocolitica
Yersinia pseudotuberculosis
Yersinia ruckeri

**10.3.3. Houby a houbám podobné
organismy (Chromista, Fungi)**

Abortiporus biennis
Absidia corymbifera
Acremonium cereale
Acremonium crotocinigenum
Acremonium persicinum
Acremonium strictum
Acrostalagmus luteoalbus
Actinomucor elegans
Agaricus arvensis
Agaricus bisporus
Agaricus subrufescens
Agrocybe aegerita
Agrocybe praecox
Agrocybe smithii
Alternaria alternata
Alternaria cf. brassicicola
Alternaria cf. dauci
Antridia heteromorpha
Apiospora montagnei
Armillaria calvescens
Armillaria gemina
Armillaria ostoyae
Armillaria sinapina
Arthrinium phaeospermum
Arthrinium sp.
Ascochyta fabae
Ascochyta sp.
Ascosphaera apis
Aspergillus acidus
Aspergillus aculeatus
Aspergillus aureoterreus
Aspergillus clavatus
Aspergillus flavus
Aspergillus floridensis
Aspergillus fumigatus
Aspergillus giganteus
Aspergillus chevalieri
Aspergillus lacinosus
Aspergillus montevidensis
Aspergillus niger
Aspergillus ochraceus
Aspergillus oryzae
Aspergillus parasiticus
Aspergillus penicillioides

Aspergillus pseudoglaucus
Aspergillus ruber
Aspergillus sclerotiorum
Aspergillus sp.
Aspergillus sydowii
Aspergillus tamarii
Aspergillus tritici
Aspergillus versicolor
Aspergillus wentii
Aureobasidium pullulans
Backusella lamprospora
Beauveria bassiana
Beauveria felina
Beauveria pseudobassiana
Bjerkandera adusta
Blumeria graminis f.sp. tritici
Botrytis cinerea
Bremia lactucae
Broomella acuta
Byssochlamys fulva
Byssochlamys nivea
Candida boidinii
Candida ethanolica
Candida famata
Candida kefyr
Candida lipolytica
Candida mogii
Candida obtusa
Candida parapsilosis
Candida pseudotropicalis
Candida robusta
Candida tropicalis
Candida utilis
Candida valida
Candida vini
Ceriporia camaresiana
Cerrena unicolor
Circinella muscae
Circinella citrinopileatus
Cladobotryum mycophilum
Cladosporium cladosporioides
Cladosporium herbarum
Cladosporium macrocarpum
Cladosporium
sphaerospermum
Claviceps purpurea

Clavulicium globosum
Clitopilus passeckerianus
Clonostachys rosea
Cochliobolus sativus
Colletotrichum acutatum
Colletotrichum coccodes
Colletotrichum
lindemuthianum
Colletotrichum lineola
Colletotrichum musae
Coniothyrium sporulosum
Coprinellus bisporus
Coprinus comatus
Coprinus sp.
Cordyceps militaris
Corioloopsis gallica
Coryneum sp.
Cryptococcus laurentii
Cunninghamella echinulata
Cyanthus striatus
Cyclocybe aegerita
Cyclocybe erebia
Daedalea quercina
Daedaleopsis confragosa
Debaryomyces hansenii
Dekkera bruxelensis
Desmazierella acicola
Dicyma sp.
Didymosphaeria igniaria
Dichomitus squalens
Discohainesia oenotherae
Emericella nidulans
Endomycopsis fibuliger
Endoptychum depressum
Engyodontium album
Entyloma microsporum
Epicoccum nigrum
Esteya vermicola
Eurotium amstelodami
Eurotium repens
Eurotium rubrum
Fabospora fragilis
Fayodia gracilipes
Fibroporia vailantii
Fistulina hepatica
Flammula alnicola

Flammulina velutipes
Fomitiporia mediterranea
Fusarium acuminatum
Fusarium avenaceum
Fusarium cf. acuminatum
Fusarium cf. equisetii
Fusarium culmorum
Fusarium equiseti
Fusarium graminearum
Fusarium chlamydosporum
Fusarium incarnatum
Fusarium lateritium
Fusarium oxysporum
Fusarium oxysporum f.sp. pisi
Fusarium oxysporum v.
redolens
Fusarium poae
Fusarium proliferatum
Fusarium proliferatum var.
minus
Fusarium sambucinum
Fusarium scirpi
Fusarium semitectum
Fusarium solani
Fusarium sp.
Fusarium sporotrichioides
Fusarium subglutinans
Fusarium tricinctum
Fusarium verticillioides
Fuscoporia contigua
Fuscoporia torulosa
Galactomyces geotrichum
Ganoderma applanatum
Ganoderma australe
Ganoderma carnosum
Ganoderma hoehnelianum
Ganoderma lingzhi
Ganoderma lipsiense
Ganoderma lucidum
Ganoderma resinaceum
Geniculosporium sp. 2
Geomyces pannorum
Geotrichum candidum
Gliocladium catenulatum
Glomerella cingulata

Golovinomyces orontii (syn.
cichoracearum)
Gonatobotrys simplex
Grifola frondosa
Gymnopus fusipes
Hanseniaspora osmophila
Hanseniaspora uvarum
(Kloeckera apiculata)
Hansenula anomala
Hapalopilus croceus
Hebeloma mesophaeum
Hericium coralloides
Hericium erinaceus
Heterobasidio parviporum x
abietinum
Heterobasidion abietum
Heterobasidion parviporum
Hirneola auricula-judae
Hohenbuehelia auriscalpium
Humicola fuscoatra
Hyaloperonospora parasitica
Hymenopelis radicata
Hypholoma fasciculare
Hypoxydon serpens
Hypsizygus marmoreus
Hypsizygus tessulatus
Chaetomium globosum
Chaetomium sp.
Chalara sp.
Chalaropsis thielavioides
Chrysosporium fastidium
Inocutis dryophila
Inonotus obliquus
Irpex lacteus
Isaria farinosa
Isaria fumosorosea
Ischnoderma benzoinum
Kluyveromyces lactis
Kluyveromyces marxianus
Kluyveromyces
thermotolerans
Laetiporus sulphureus
Langermannia gigantea
Lecanicillium fungicola
Lecanicillium muscarium

Lentinula edodes
Lenzites betulina
Lenzites tricolor
Lepista irina
Lepista nuda
Lepista sordida
Leptographium lundbergii
Leucoagaricus bresadolae
Lycoperdon perlatum
Macrolepiota procera
Marasmius oreades
Metschnikowia pulcherrima
Microascus manginii
Mitrophora semilibera
Monascus pilosus
Monascus purpureus
Monascus ruber
Monilinia fructigena
Monilinia laxa
Morchella conica
Morchella esculenta
Morchella vulgaris
Mucidula mucida
Mucor circinelloides
Mucor circinelloides f.
circinelloides
Mucor circinelloides f.
lusitanicus
Mucor dimorphosporus
Mucor dimorphosporus f.
dimorphosporus
Mucor dimorphosporus f.
sphaerosporus
Mucor hiemalis f. *corticulus*
Mucor hiemalis f. *hiemalis*
Mucor petrinsularis
Mucor plumbeus
Mucor wosnessenskii
Myceliophthora thermophila
Mycena croata
Mycena polygramma
Mycetinis alliaceus
Mycocladus corymbifer
Mycosphaerella graminicola
Nectria cinnabarina
Neonectria galligena

Neosartorya hiratsukae
Nodulisporium sp.
Oculimacula acuformis
Oculimacula yallundae
Ogataea polymorpha
Oidiodendron sp.
Oidium neolycopersici
Omphalina mutila
Omphalotus japonicus
Onnia tomentosa
Oxyporus latemarginatus
Paecilomyces
dactylethromorphus
Paecilomyces marquandii
Paecilomyces variotii
Pachylepirium corbonicola
Penicillium atosanguineum
Penicillium bilaiae
Penicillium brasilianum
Penicillium brevicompactum
Penicillium camemberti
Penicillium capsulatum
Penicillium carneum
Penicillium cf. *solitum*
Penicillium citreonigrum
Penicillium citrinum
Penicillium clavigerum
Penicillium commune
Penicillium coprobium
Penicillium coprophilum
Penicillium corylophilum
Penicillium crustosum
Penicillium digitatum
Penicillium echinulatum
Penicillium expansum
Penicillium glabrum
Penicillium griseofulvum
Penicillium hirsutum
Penicillium hordei
Penicillium chrysogenum
Penicillium janthinellum
Penicillium minioluteum
Penicillium nalgiovensis
Penicillium olsonii

Penicillium oxalicum
Penicillium polonicum
Penicillium pulvillorum
Penicillium purpurogenum
Penicillium raistrickii
Penicillium resedanum
Penicillium roqueforti
Penicillium scabrosum
Penicillium spinulosum
Penicillium thomii
Penicillium verrucosum
Penicillium viridicatum
Pezicula cinnamomea
Phaeosphaeria nodorum
Phanerochaete chrysosporium
Phanerochaete sanguinea
Phanerochaete sordida
Phellinus alni
Phellinus baumii
Phellinus hartigii
Phellinus chrysoloma
Phellinus igniarius
Phellinus igniarius
Phellinus linteus
Phellinus pomaceus
Phellinus punctatus
Phellinus robustus
Phellinus sp.
Phellopilus nigrolimitatus
Phialophora sp.
Phlebia chrysocreas
Pholiota adiposa
Pholiota aurivella
Pholiota nameko
Pholiota squarrosa
Phoma macdonaldii
Phomopsis mali
Phomopsis sp.
Phomopsis viticola
Phytophthora alni alni
Phytophthora alni uniformis
Phytophthora bilobang
Phytophthora cactorum
Phytophthora cambivora

Phytophthora cinnamomi
Phytophthora citrophthora
Phytophthora cryptogea
Phytophthora gallica
Phytophthora gonapodyides
Phytophthora gregata
Phytophthora hedraiaandra
Phytophthora infestans
Phytophthora lacustris
Phytophthora megasperma
Phytophthora multivora
Phytophthora nicotianae
Phytophthora palmivora
Phytophthora plurivora
Phytophthora polonica
Phytophthora ramorum
Phytophthora rosacearum
Phytophthora spp.
Phytophthora syringae
Pichia anomala
Pichia jadinii
Pichia membranaefaciens
Pichia polymorpha
Pichia quilliermondii
Pichiamembranifaciens
Pithomyces chartarum
Plasmopara halstedii
Pleurophoma cava
Pleurotus
Pleurotus calyptratus
Pleurotus cf. opuntiae
Pleurotus citrinopileatus
Pleurotus cornucopiae
Pleurotus cystidiosus
Pleurotus cystidiosus
Pleurotus djamor
Pleurotus dryinus
Pleurotus eryngii
Pleurotus flabellatus
Pleurotus nebrodensis
Pleurotus ostreatus
Pleurotus pulmonarius
Podosphaera macularis
Podosphaera xanthii
Pochonia chlamydosporia

Polyporus brumalis
Polyporus ciliatus
Polyporus lepideus
Polyporus squamosus
Porodaedalea pini
Prosthemia sp.
Prosthemia sp. 2
Pseudoperonospora cubensis
Psilocybe arcana
Psilocybe cubensis
Psilocybe cyanescens
Psilocybe subaeruginosa
Ptychoverpa bohemica
Puccinia graminis f.sp. tritici
Puccinia striiformis f.sp. tritici
Puccinia triticina
Purpureocillium lilacinum
Pycnoporus sanguineus
Pyrenophora teres
Pyrenophora tritici-repentis
Pythium citrinum
Pythium helicoides
Pythium chamaehyphon
Pythium intermedium
Pythium ultimum
Pythium vexans
Ramularia collo-cygni
Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis
Rhizopus oryzae
Rhizopus stolonifer
Rhodocollybia butyracea
Rhodocollybia maculata
Rhodotorula glubini
Rhodotorula mucilaginosa
Rhodotorula sp.
Saccharomyces bayanus
Saccharomyces carlsbergensis
Saccharomyces cerevisiae
Saccharomyces exiguus
Saccharomyces kluyveri
Saccharomyces pastorianus
Saccharomyces pombe var. pombe
Saccharomyces sp.

Saccharomyces uvarum
Saccharomycodes ludwigii
Sacchromycopsis lipolytica
Sarocladium strictum
Sclerotinia sclerotiorum
Scolecobasidium sp.
Scopulariopsis brumptii
Seimatosporium cf.
pestalotioides
Seimatosporium sp. 2
Serpula himantoides
Schizophyllum commune
Schizosaccharomyces
octosporus
Sordaria fimicola
Sparassis crispa
Spicellum roseum
Sporendocladia bactrospora
Stachybotrys bisbyi
Stachybotrys eucylindrospora
Stachybotrys chartarum
Stereum gausapatum
Stropharia rugosoannulata
Syncephalastrum racemosum
Talaromyces atroroseus
Talaromyces islandicus
Talaromyces trachyspermus
Talaromyces variabilis
Thamnidium elegans
Thysanophora sp.
Tiarosporella phaseolina
Torula herbarum
Torulopsis ethanolitolerans
Torulasporea delbrueckii
Torulopsis azima
Torulopsis ethanolitolerans
Torulopsis lactis
Torulopsis sp.
Torulopsis sphaerica
Torulosporea globosa
Trametes elegans
Trametes gibbosa
Trametes hirsuta
Trametes ochracea

Trametes pubescens
Trametes sanguinea
Trametes trogii
Trametes versicolor
Trametopsis cervina
Trichoderma cf. *harzianum*
Trichoderma reesei
Tricholoma mongolicum
Tricholoma sejunctum
Trichosporon montevideense
Trichothecium roseum
Tyromyces chioneus
Ulocladium atrum
Venturia inaequalis
Verpa conica cerebriformis
Verpa conica conica
Verticillium albo-atrum
Verticillium dahliae
Verticillium sp.
Williopsis saturnus
Zygosaccharomyces bailli
Zygosaccharomyces mellis
Zygosaccharomyces rouxii

10.3.4. Živočichové

Acanthoscelides obtectus
Acarus siro
Acyrtosiphon pisum
Aeroglyphus robustus
Ahasverus advena
Aleuroglyphus ovatus
Aleyrodes proletella
Alphitobius diaperinus
Amara convexior
Archimandrita tessellata
Arion lusitanicus
Armadillidium vulgare
Blaberus cranifer
Blaptica dubia
Blatta orientalis
Blattella germanica
Blomia tropicalis

Brachycaudus schwartzi
Brevicoryne brassicae
Bysotria fumigata
Calathus melanocephalus
Callosobruchus maculatus
Caloglyphus redicorzevi
Carpoglyphus lactis
Coccinella septempunctata
Cryptolestes capensis
Cryptolestes ferrugineus
Cryptolestes pusilloides
Cryptolestes pusillus
Cryptolestes turcicus
Culex quinquefasciatus
Cydia pomonella

Cylindrojulus caeruleocinctus

Delia radicum
Dermatophagoides farine
Dermatophagoides
pteronisinus
Drosophila sp.
Dysaphis plantaginea
Dytylenchus dipsaci
Ephestie kuehniella
Globodera pallida
Globodera rostochiensis
Glyciphagus domesticus
Gnathocerus cornutus
Gnathocerus maxillosus

Gromphadorhina portentosa
Harmonia axyridis
Cheyletus eruditus
Chortoglyphus arcuatus
Lachesilla pedicularia
Lasioderma serricorne
Latheticus oryzae
Lepidoglyphus destructor
Lepinotus patruelis
Lepinotus reticulatus
Leptinotarsa decemlineata
Liposcelis bostrychophila
Liposcelis brunnea

Liposcelis corrodens
Liposcelis decolor
Liposcelis entomophila
Liposcelis paeta
Macrostelles laevis
Mamestra brassicae
Meloidogyne hapla
Metopolophium dirhodum
Monomorium pharaonis
Musca domestica
Myzus persicae
Nauphoeta cinerea
Oryzophilus surrinamensis
Palorus subdepresus

Paratemnopteryx coulöniana
Periplaneta americana
Periplaneta australasiae
Periplaneta brunnea
Periplaneta fuliginosa
Phoetalia pallida
Platynus assimilis
Plodie interponctela
Plutella xylostella
Prostephanus truncatus
Psammotettix alienus
Pterostichus aethiops
Pterostichus melas
Pterostichus niger

Pterostichus oblongopuctatus

Pycnoscelis surinamensis
Reesa vesputa
Rhyparobia maderae
Rhytoperta dominica
Sciaridae sp.
Sitophilus granarius
Sitophilus oryzae
Sitophilus zeamays
Spodoptera littoralis
Stegobium paniceum
Supella longipalpa
Symploce pallens
Tenebrio molitor
Tenebroides mauritanicus
Tetranychus urticae

Trialeurodes vaporariorum
Tribolium castaneum
Tribolium confusum
Tribolium destructor
Trogoderma glabrum
Trogoderma granarium
Typhaea stercorea
Tyroborus lini
Tyrophagus putrescens

10.3.5. Sinice a řasy (Cyanobacteria, Chlorophyta, Charophyta)

Anabaena perturbata
Coelastrum astroideum
Cosmarium meneghinii
Graesiella vacuolata
Chlamydomonas reinhardtii
Chlorella kessleri
Chlorella sorokiana
Chlorella vulgaris
Chlorotetraedron bitridens

Chroococcus minutus
Klebsormidium flaccidum
Lagerheimia marssonii
Leptolyngbya nostocorum
Microcystis cf. incerta
Microcystis sp.
Merismopedia glauca
Nodularia sphaerocarpa
Nostoc muscorum
Oocystis cf. nephrocytioides
Pediastrum boryanum
Pediastrum tetras
Phormidium tergestinum
Pseudoanabaena galeata
Pseudococcomyxa sp.
Raphidocelis subcuspicate
Scenedesmus quadricauda
Scenedesmus subspicatus
Symploca muralis
Tetraedron minimum
Trentepohlia aurea
Trichomus variabilis

