„Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí “

Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Biologické a genetické aspekty rezistence rostlin (k biotickým stresům)

Petr Smýkal
Katedra botaniky
PřF UP, Olomouc
LS 2014/2015

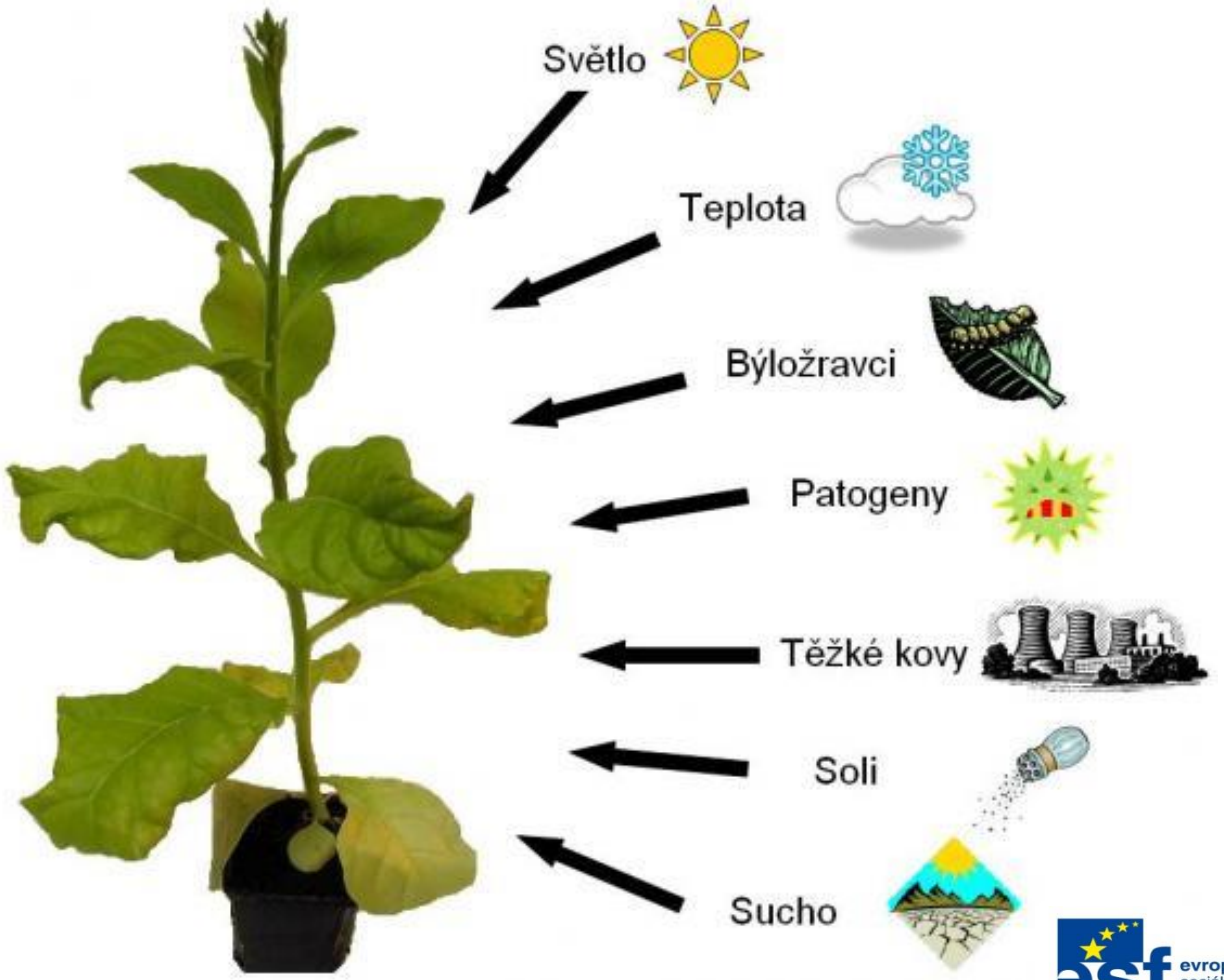
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Struktura přednášky

- Přirozené obranné mechanismy rostlin
- Mapování a využití rezistence ve šlechtění
- Důležitost diverzity pro rezistenci
- Transgenose (GMO) a rezistence

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Na rozdíl od živočichů, kteří mohou před nevhodnými podmínkami do jisté míry utéci, jsou rostliny pevně spjaty s místem svého růstu, a proto musí být jejich genetická výbava natolik plastická, aby si s touto nevýhodou poradily.



Abiotické stresy

- **Nízká a vysoká teplota** – chladové a heat shock proteiny
- **sucho a vodní deficit** – fysiologické adaptace, dehydriny
- **iontový a osmotický stres, odolnost rostlin k zasolení**
- **Zaplavení a anaerobióza, nedostatek kyslíku - hypoxie a anoxie**
- **Toxický efekt těžkých kovů a pH prostředí**
- **Oxidační stres, kyslíkový stres, vznik reaktivních forem kyslíku**
- **Záření UV, světelné**

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Houby

Přirozené otvory

poranění

Aktivní proniknutí

Bakterie

Nematody

Biotický stres - Patogenní organismy

Viry

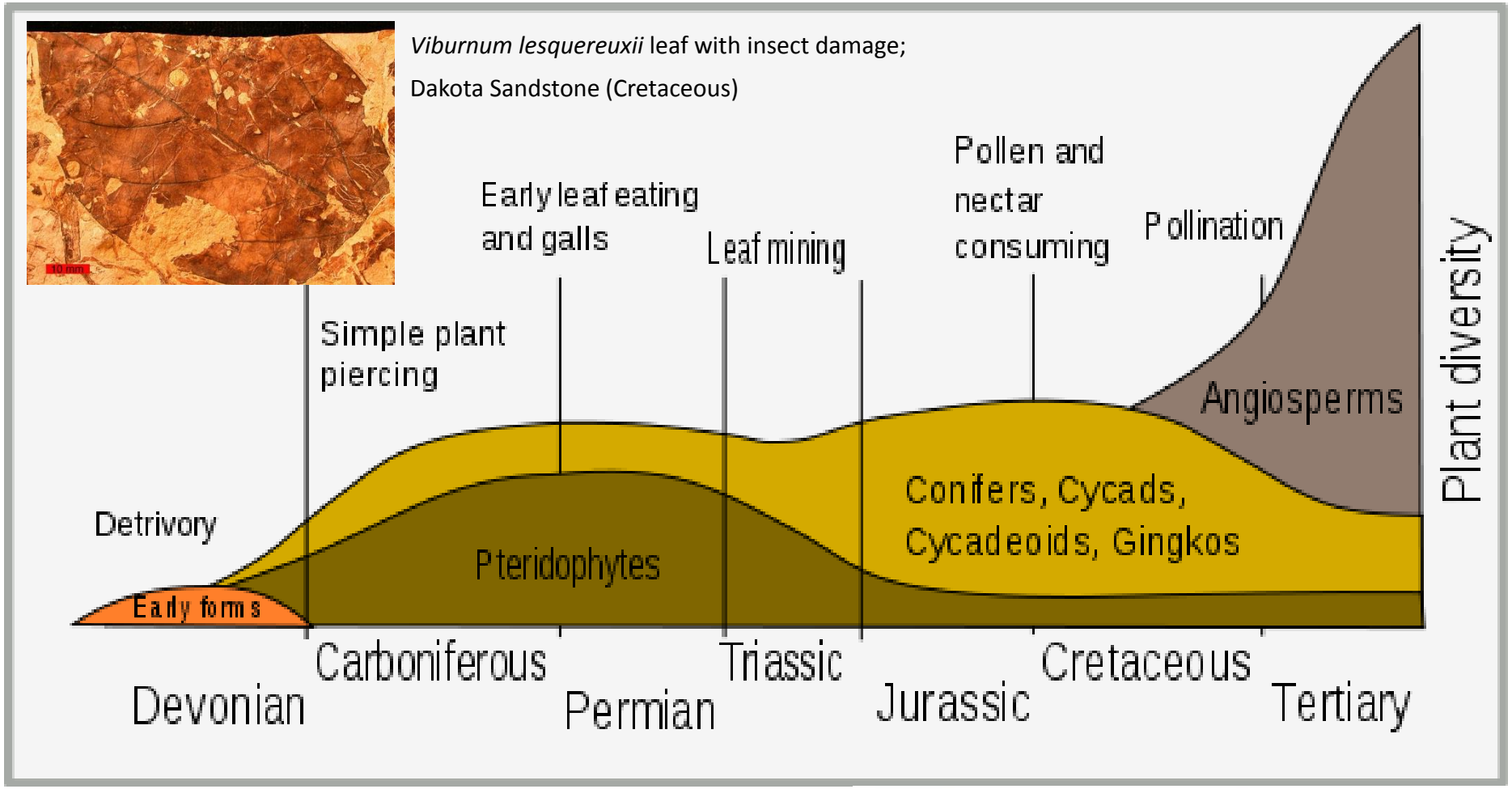
Hmyz

Mechanicky

Roubování

Fytoplazmy

Evoluce obranných mechanismů



Genetické založení rezistence

Konstitutivní mechanizmy rezistence

Produkty (toxiny) konstitutivních genů rezistence lze zjistit i bez přítomnosti patogena.

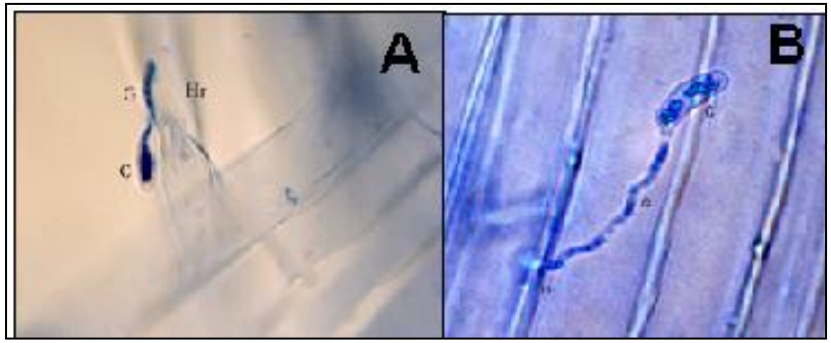
Induktivní mechanizmy rezistence

Produkty adaptabilních genů (fytoalexiny, R-geny) vznikají až v interakci s patogenem.

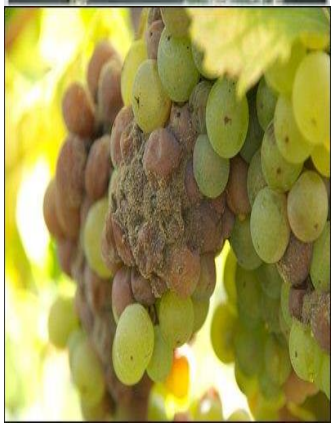
Proces infekce

Biologická specializace byla použita jako základ pro taxonomickou klasifikaci hostitelů a parazitů a tvoří část procesu koevoluce mezi patogenem a jeho hostitelem.

Růst a reprodukce patogena se odehrává buď uvnitř, nebo na povrchu infikované rostliny. Například ektoparazitické houby (padlí travní) produkují všechny vegetativní a reprodukční orgány, kromě haustoria, na povrchu rostlin.



Podle způsobu jejich výživy můžeme patogeny rostlin rozdělit na:



biotrofní - získávají živiny z žijících buněk (padlí travní *Blumeria graminis* a rzi)

nekrotrofní - usmrcují buňky hostitele a získávají živiny z odumřelých pletiv (*Fusarium solani*)

hemibiotrofní - mají zpočátku biotrofní způsob výživy, ale po krátké době přecházejí do nekrotrofní fáze, kdy usmrcují své hostitele.

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Někteří houboví původci chorob, jako např. rzi mají dva různé hostitele:

„**primárního hostitele - hostitele**“ a „**alternativního hostitele - mezihostitele**“.

Například u rzi travní (*Puccinia graminis*), která napadá obilniny a trávy, je primárním hostitelem pšenice nebo různé druhy trav a mezihostitelem je dřišťál.

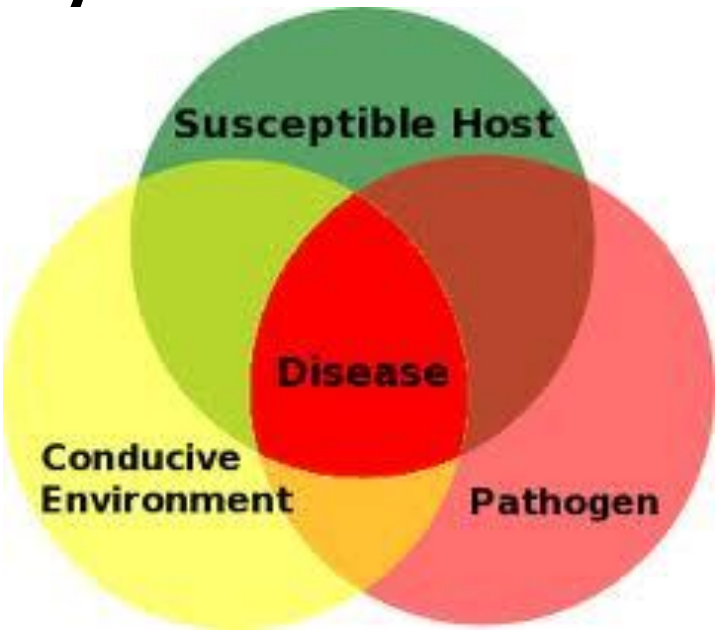
U rzi pšeničné je mezihostitelem rod žluťucha (*Thalictrum* spp.).

Vliv vnějšího prostředí / ontogeneze na vznik a rozvoj chorob

zeměpisná šířka, nadmořská výška, oblasti pěstování, pro které jsou charakteristické faktory počasí, jako jsou teplota, srážky, sluneční záření, vítr, apod.

Důležité je také **vývojová fáze rostliny**.

Teplota prostředí ovlivňuje nejen intenzitu rozvoje choroby, ale i vnímavost rostlin.



evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Rezistence rostlin k chorobám a škůdcům

Mechanismy rezistence

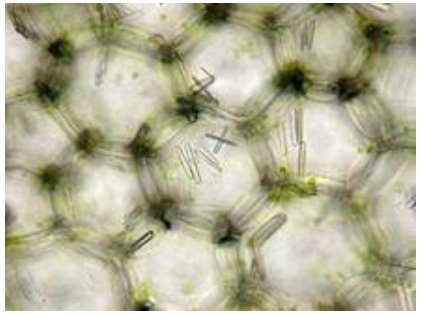
Struktury a obsahové látky existující před napadením rostliny

- pokožka
- buněčná stěna
- antimikrobiální látky - metabolity (glukosidy, saponiny)
- antimikrobiální proteiny
- inhibitory enzymů (proteázy)
- enzymy rozkládající toxiny produkované patogeny
- receptory reagující na přítomnost patogena a aktivující obranné mechanismy

Mechanická obrana

Produkované látky tvoří obrannou vnější vrstvu – pryskyřice, latex, vosk, lignin, vnější lepkavé šťávy – gumové klejotoky apod.



Trichomy, trny, chlupy, rafidy obsahující toxické šťavelany, uhličitany vápenaté




Thigmonastie

Mimosa pudica, reakce listů na dotek a jiné podněty

Rostliny takto ukazují spíše „zvadlý“ neatraktivní fenotyp pro herbivory, tato reakce může také přímo fyzicky odmrštit malý hmyz

Mimikry a kamufláž

Listy mučenky (*Passiflora*) mají výrůstky imitující nakladená vajíčka hmyzu, což odrazuje další od klazení (ovidepozice).

Nepřímá obrana

Obrana pomocí poskytnutí útočiště nepřátelům svým vlastních nepřátel - mutualismus

„nepřítel mého nepřítele je můj přítel„.

Některé druhy *Acacia* mají trny poskytující úkryt mravencům na navíc produkují pro ně nektar na bázi svých listů

Chemické látky produkované konstitutivně

Druhy chemických obranných látek / toxinů 1

Alkaloidy - deriváty aminokyselin

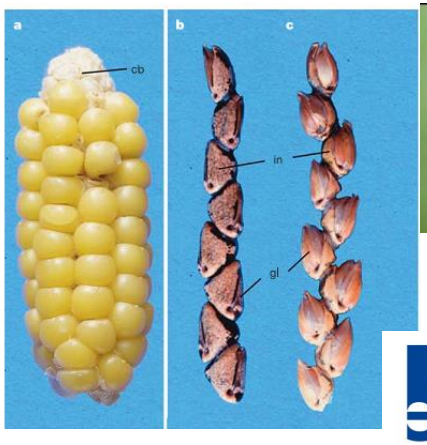
nicotin, caffein, morphin, colchicin, ergolin, strychnin, and quinin. Inhibují nebo aktivují enzymy, nebo mění zásobní cukry a tuky inhibicí tvorby fosfodiesterových vazeb. Váží se na nukleové kyseliny a inhibují syntézu proteinů a ovlivňují opravu DNA. Mění také funkci buněčných membrán a cytoskelu.

Kyanogenní glykosidy – uloženy v neaktivní formě ve vakuole. Jejich toxicity je spouštěna narušením stěny, po kontaktu s cytoplasmatickými enzymy kdy dochází k uvolnění kyanovodíku, který blokuje buněčnou respiraci.

Terpenoidy - organické látky příbuzné terpenům. Monoterpenoidy, se 2 isopreními jednotkami jsou těkavé olejové látky- citronel, limonen, menthol, camphor, and pinen. Diterpenoidy, 4 isopreními jednotkami, jsou obsaženy v latexu and pryskyřicích.

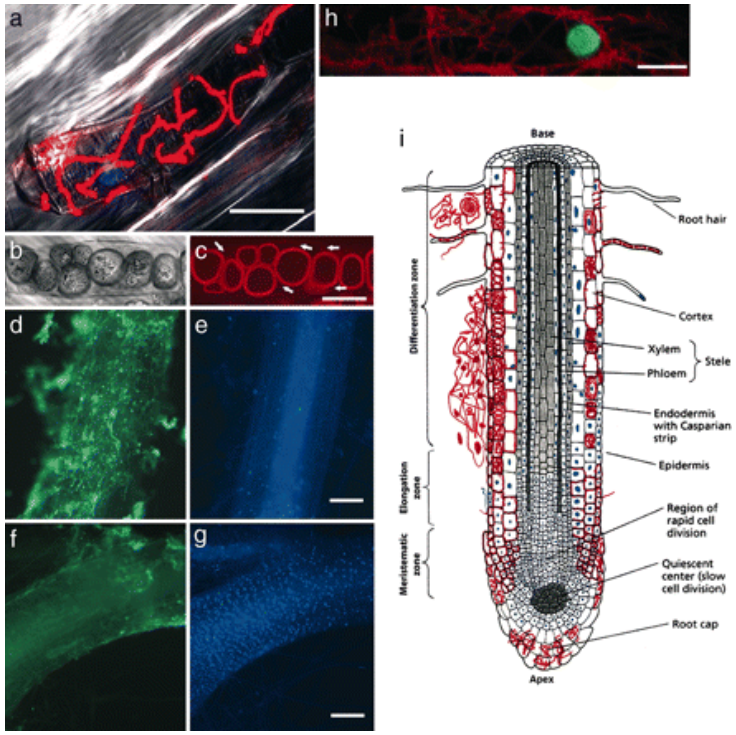
Druhy chemických obranných látek 2

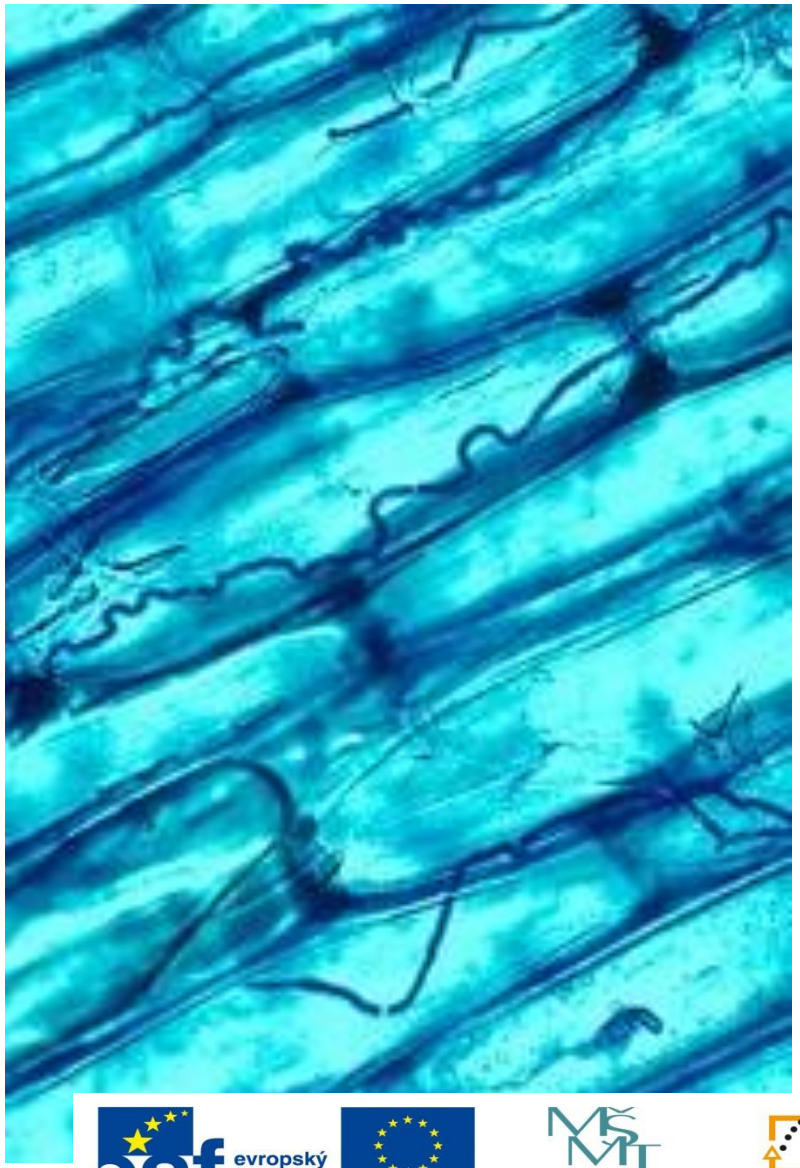
- **Fenolické látky** – mající aromatické jádro se 6 uhlíky spojené hydroxy skupinou. Široké spektrum látek od jednoduchých taninů ke složitějším flavonoidům
- Např. **lignin, silymarin a cannabinoidy**, kondensované taniny, polymery složené ze 2 až 50 flavonových molekul, inhibující trávení herbivorů vazbou na proteiny, inhibicí trávících enzymů.
- **Silikáty a ligniny**, obrušující kusadla hmyzu



Využití endofytických hub v obraně

Endofytické houby mohou pomoci rostlinám prostřednictvím toxinů inhibujících další organismy.





evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

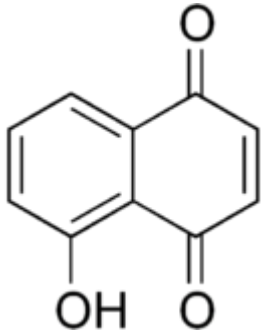
Allelopatie

biologický fenomén, kdy organismus produkuje chemické látky ovlivňující růst, životaschopnost a reprodukci jiného organismu.

Allelochemikálie jsou sekundární metabolity, které nejsou potřebné pro vlastní organismus (růst, vývoj a reprodukci).

Mohou mít **kladný** (positive allelopathy) nebo **negativní** (negative allelopathy) vliv na cílový organismus.

juglone



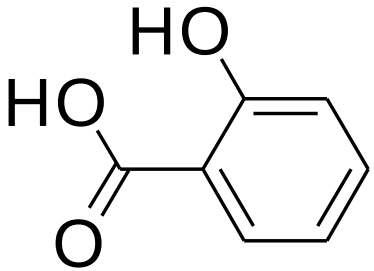
Junglas nigra

Eucalyptus

Juglon

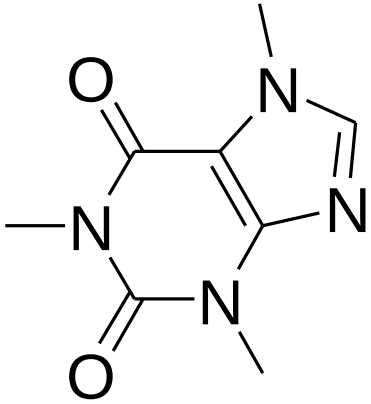
- vodorozpustný hnědý pigment
- ve stromu vázán ve formě netoxického glykosidu
- přítomen nejenom v kořenech, ale i listech a slupkách plodů
- detekovatelný ještě v hloubce 8 m a vzdálenosti až 27 m od kmene
- toxicita vůči ostatním rostlinám
- zabraňuje klíčení semen jiných rostlin (100 % inhibice u semen salátu při dávce 0,002 %)
- některé rostliny jsou schopny allelopathické toxiny tolerovat

Další zajímavé látky produkované rostlinami a inhibující klíčení semen či růst jiných rostlin



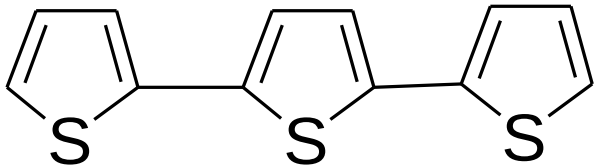
kyselina salicylová

dub (*Quercus*)



kofein

- má autotoxický efekt
- pravděpodobně autoregulace hustoty porostu
- přírodní střídání vegetace na jedné lokalitě
- udržení biodiversity



α-terthienyl

aksamitník (*Tagetes*)

Allelopatické látky jsou přírodním modelem pro syntetické herbicidy.

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

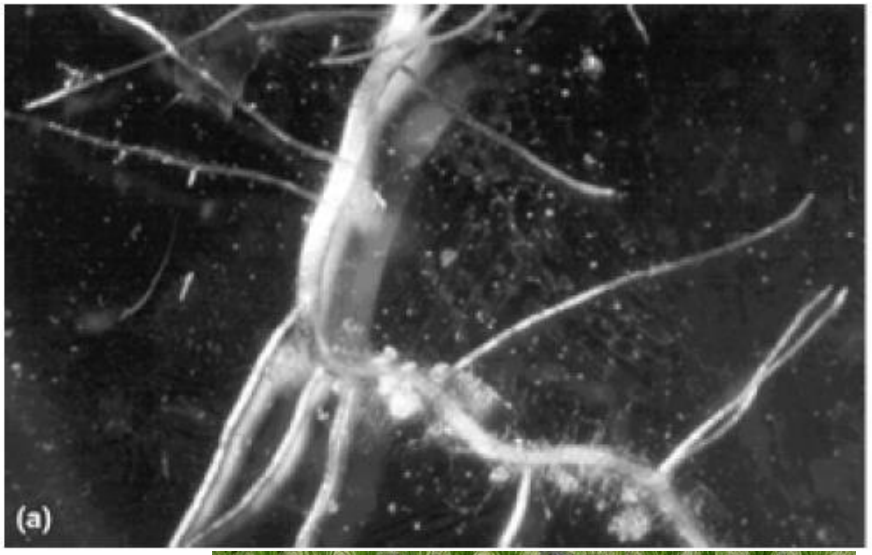
Allelopatie

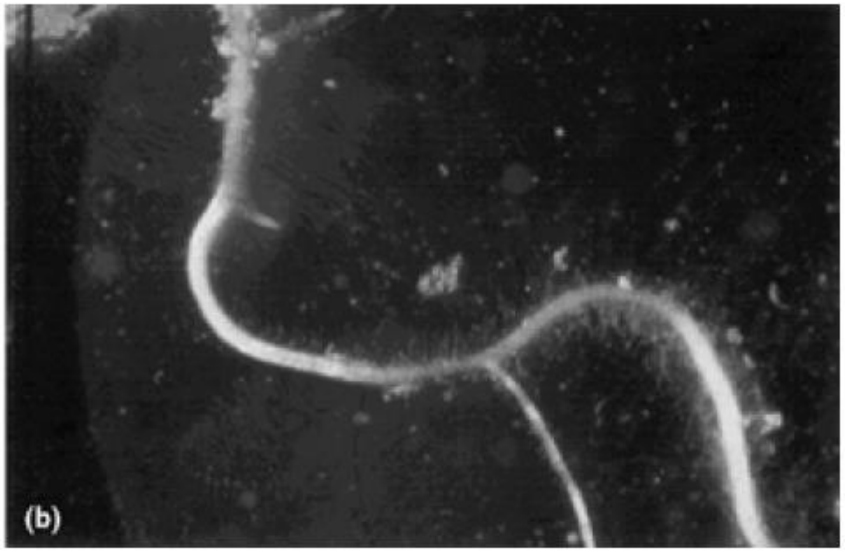
Table 1: Allelochemicals of some important crops

Crops	Scientific name	Allelochemicals	Referrences
Rice	*Oryza sativa* L.	Phenolic acids	Rimando et al., 2001
Wheat	*Triticum aestivum* L.	Hydroxamic acids	Niemeyer, 1988
Cucumber	*Cucumis sativus* L.	Benzoic and Cinnamic acids	Yu and Matsui, 1994
Black mustard	*Brassica nigra* L.	Allyl isothiocyanate	Weston, 1996
Buck wheat	*Fagopyrium esculentum* L.	Fatty acids	Weston, 1996
Clovers and Sweet clover	*Trifolium spp.* *Melilotus spp.*	Isoflavonoids and Phenolics	Weston, 1996
Oat	*Avena sativa* L	Phenolic acids & Scopoletin	Weston, 1996
Cereals	-	Hydroxamic acids	Weston, 1996
Sudangrass		Phenolic acids and Dhurrin	Weston, 1996
Sorghum	*Sorghum bicolor* L.	Sorgoleone	Netzley and Butler (1986)

Rýže *versus* ježatka (*Echinochloa crusgalli*)

Fig. 1: Photomicrographs of *Echinochloa crus-galli* roots grown together with (a) non-allelopathic rice `Aus 196' or (b) allelopathic rice `IR 64'. Secondary root growth is inhibited by the allelopathic rice cultivar (Source: Olofsdotter et al., 2002)





Smíšené kultury (intercropping)

Chemické látky produkované

po napadení patogenem

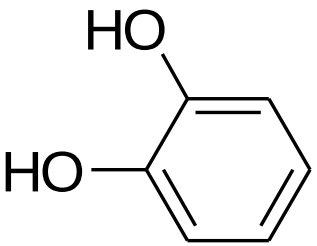
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Obranné mechanismy indukované po napadení/infekci

- **zesílení buněčné stěny:** kalosa, lignin, suberin, proteins
- **antimikrobiální sloučeniny:** reactive oxygen species hydrogen peroxide, or peroxynitrite, phytoalexiny – genistein, camalexin
- **antimikrobialní proteiny :** defensiny, thioniny
- **antimikrobialní enzymy**: chitinasy, beta-glukanasy, peroxidasy
- **hypersensitivní reakce** – rychlá buněčná odezva pomocí R-genů
- **pomoc endofytů**: exudace sloučenin přitahující baktérie účinných proti patogenním organismům

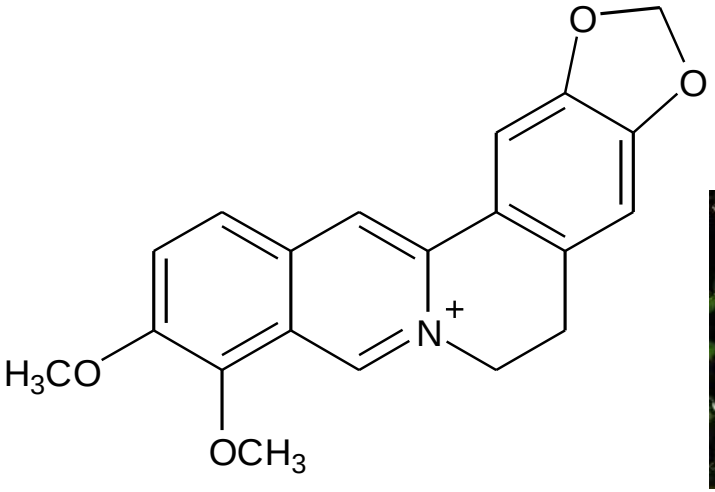
Fytoalexiny a fytotoxiny

- interakce mezi rostlinami a mikroorganismy
- planě rostoucí druhy rostlin jsou obvykle přirozeně rezistentní vůči chorobám způsobeným mikroorganismy



katechol, prohibitin z odolných odrůd cibule

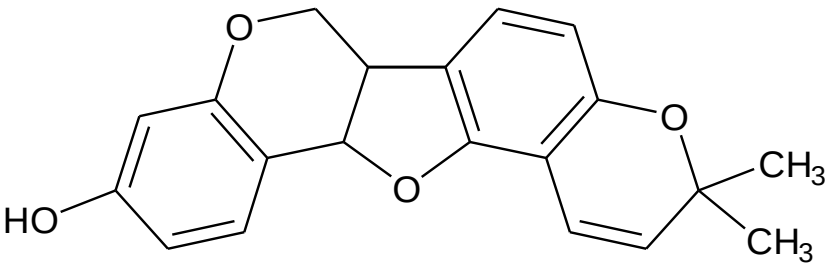
- strukturní základ anthokyanů (barviva), přítomných v různých rostlinách a majících fungicidní účinky
- isoflavonoidy a flavonoidy jsou účinnými fungicidy; vyskytují se např. v rostlinách rodu *Lupinus*



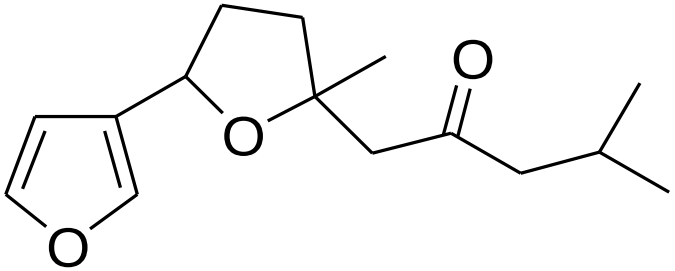
berberin

kořeny mahonie, dřišťálu

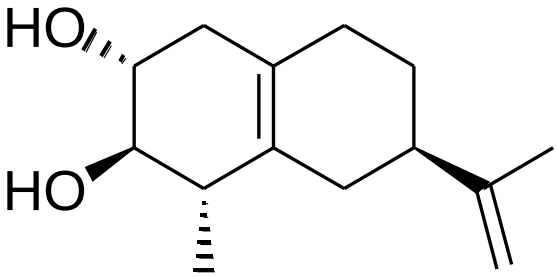
Příklady fytoalexinů



phaseollin, jeden z prvních identifikovaných fytoalexinů; fazol obecný (*Phaseollus vulgaris*)



ipomeamaron (batáta, *Ipomea*)



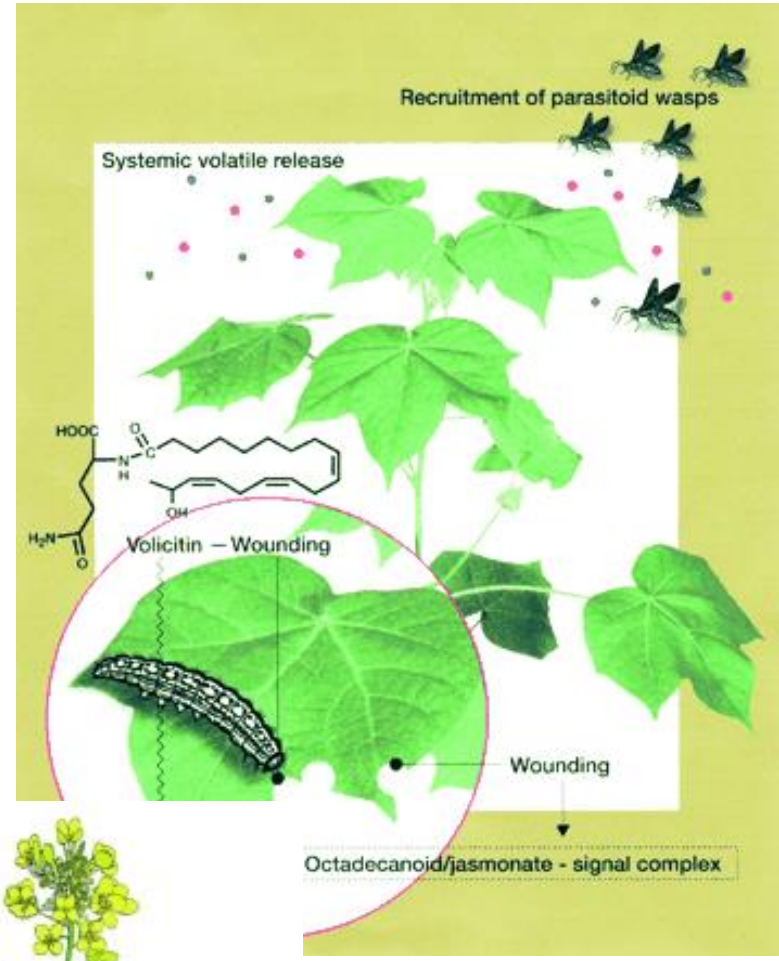
rishitin
(brambory, *Solanum tuberosum*)

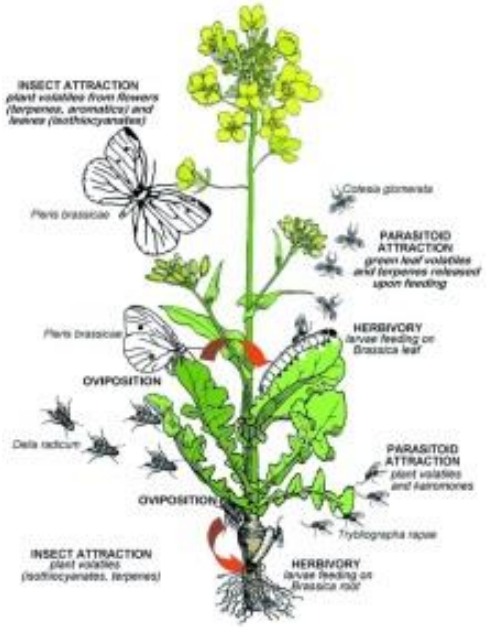
Těkavé sloučeniny

sloužící ke komunikaci mezi organismy.

Allelosloučeniny - allomony, mající obrannou roli v mezidruhové komunikaci

kairomony, využívané druhy vyšších trofických vztahů k nalezení potravních zdrojů





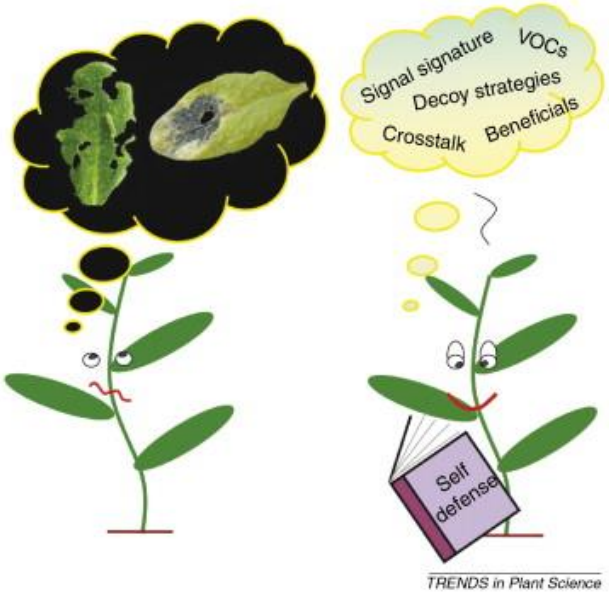
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

I obrana něco stojí
aneb cena za ochranu a výhody

Obranné struktury a chemické látky jsou nákladné a vyžadující energii, která by se jinak mohla investovat do maximalizace růstu a reprodukce.

$$E=mc^2$$

Albert Einstein, 1905.



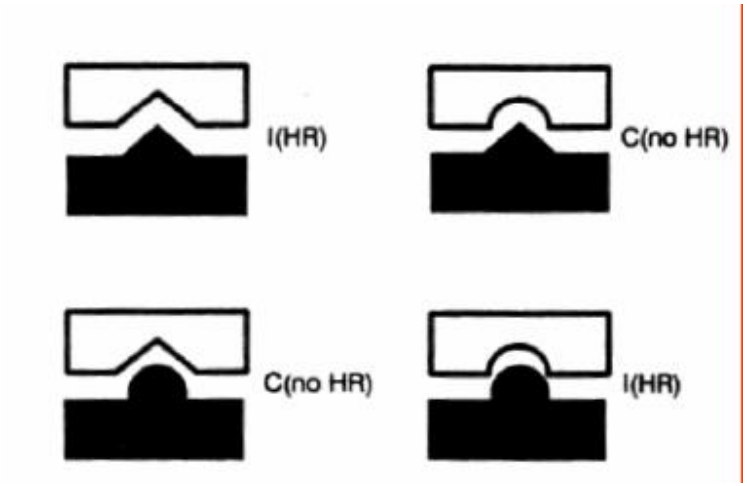
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Mezi rostlinou a jejím patogenem se odehrává evoluční souboj.

Efektory potlačující vrozenou imunitu mohou být rozpoznány NB-LRR receptory rostliny, které spustí další obranné mechanismy.

Patogen se pak vyhne rozpoznání modifikací efektoru nebo jeho náhradou za jiný, a tak se interakce mezi rostlinou a patogenem neustále přesouvá od náchylnosti k rezistenci a zpět.

„**cik-cak model**“ (JONES A DANGL 2006).



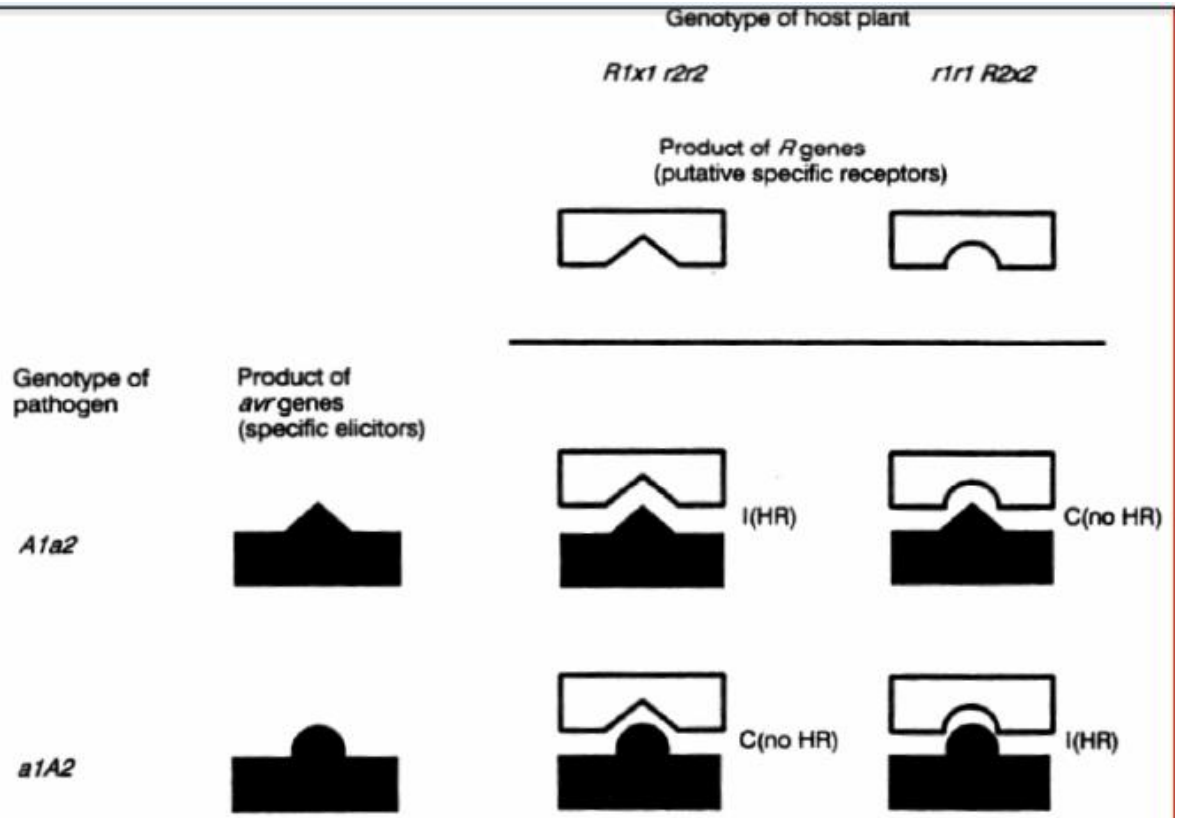


Fig. 1. Diagram illustrating the gene-for-gene hypothesis for *avr* ('avirulence') and *R* ('resistance') genes. The designation *x1* indicates that this allele can be either *R1* or *r1*; *x2* indicates that this allele can be either *R2* or *r2*. Abbreviations: I, incompatible interaction associated with the hypersensitive response (plant is resistant); C, compatible interaction not associated with the hypersensitive response (plant is susceptible); HR, hypersensitive response.

Produktem genu rezistence je specifický proteinový **RECEPTOR** na rostlinném povrchu

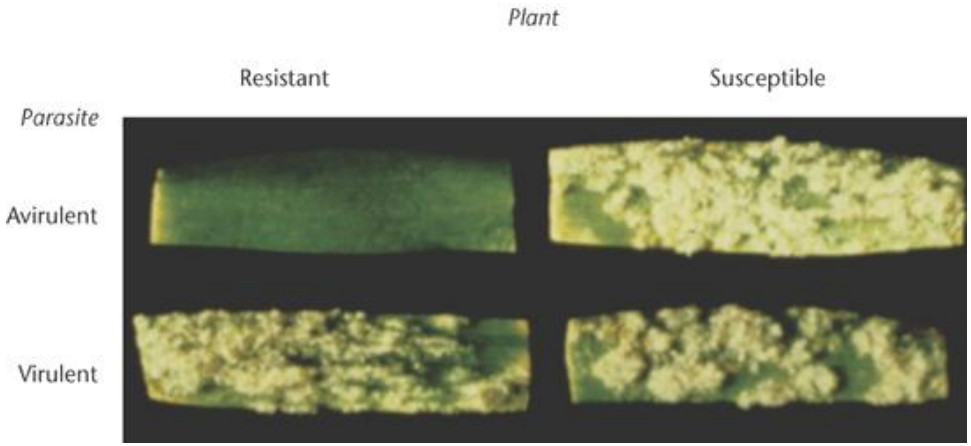
a produktem genu avirulence specifické glykoproteinové molekuly –**ELICITOR** na povrchu houby.

Genetika virulence patogena a rezistence hostitele
Koncepce gen proti genu (gene-for-gene)

H.H. Flor, 1947
Linum usitatissimum– Melampsora lini

Vznikl koncept „**gen proti genu**“

Podle něj existuje ke každému genu rezistence korespondující gen avirulence v genomu patogena. Pokud se setká rostlina nesoucí gen rezistence s patogenem nesoucím příslušný gen avirulence, dojde k inkompatibilní interakci, patogen je rozpoznán a spuštěním obranných mechanizmů je mu zabráněno v kolonizaci rostliny.

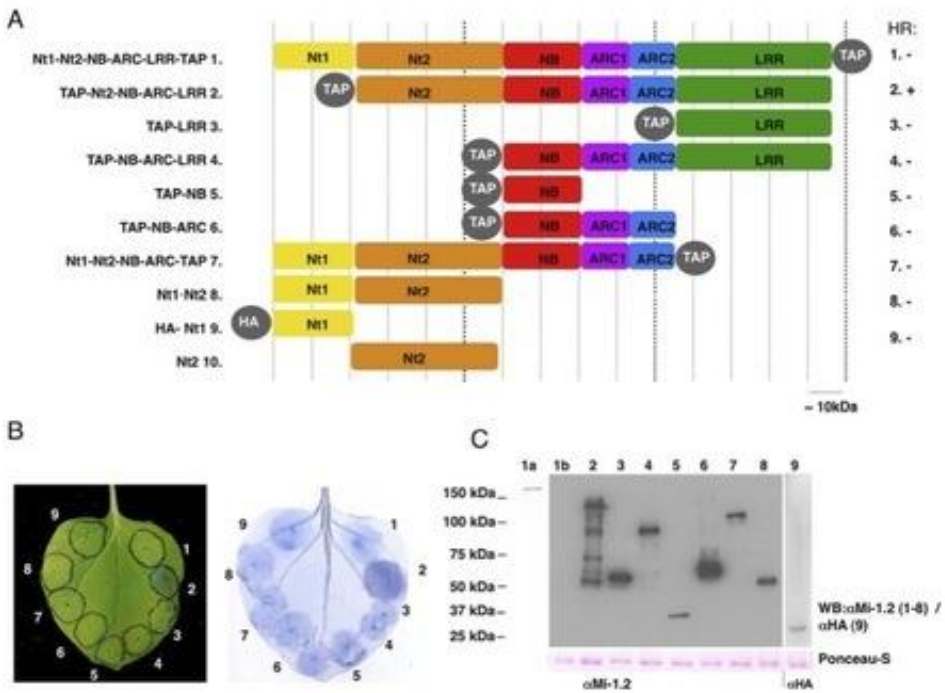


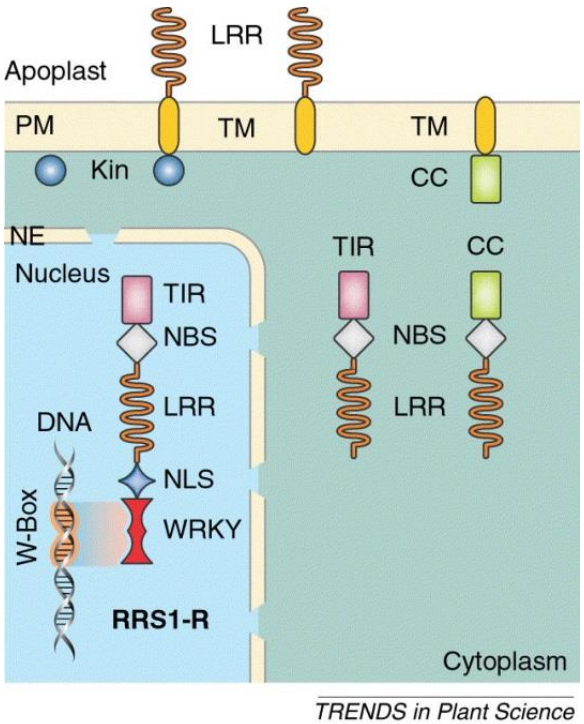
Její aplikace umožňuje stanovit pravděpodobný počet genů rezistence a virulence a jejich kombinací ve studovaných systémech hostitel- patogen a usnadňuje genetickou analýzu faktorů rezistence. Možnost využití v transgenosi.

Geny rezistence (R-Geny)

Jsou geny zodpovídající za rezistence rostlin vůči patogenům Hlavní skupinou těchto proteinů jsou - **nucleotide binding domain (NB) a leucine rich repeat (LRR) domain = (NB-LRR)** R-genes.

NB doména váže ATP nebo GTP. LRR doména často zodpovídá za protein-protein interackci a vazbu liganů.



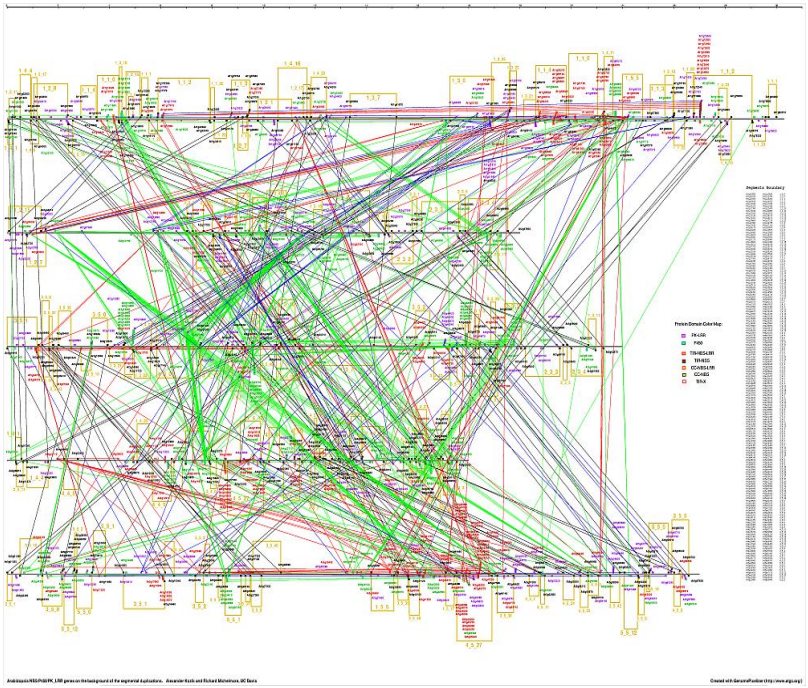


Jelikož R geny zodpovídají za resistenci vůči specifickým patogenům, je možné je přenést z jednoho druhu rostliny na jiný a navodit tak rezistenci.

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Resistance může být zprostředkována řadou mechanismů:

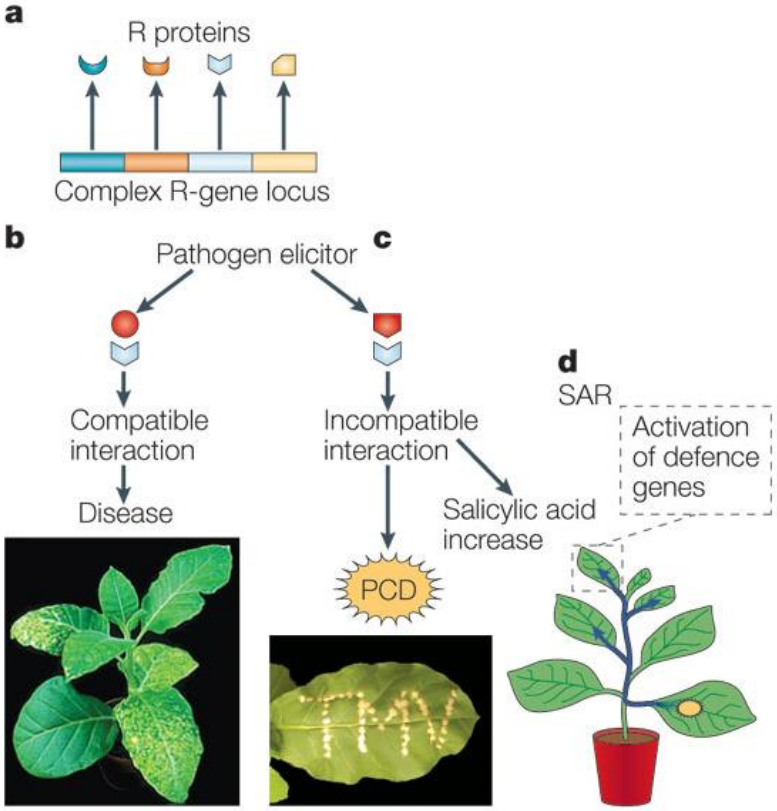
- R protein se váže přímo na Avr gen (Avirulence gene) produkovaný patogenem
- R protein ochraňuje jiné proteiny které jsou jinak degradovány Avr genem
- R protein může detekovat Pathogen-Associated Molecular Pattern nebo PAMP (alternatively called MAMP for microbe-associated molecular pattern).
- R protein kóduje enzym degradující toxin produkovaný patogenem.



V rostlinném genomu jsou stovky těchto genů,
např. *Arabidopsis thaliana* má kolem 700 NBS-LRR genů

Hypersensitivní reakce (HR)

V tomto rostlinou řízeném procesu odumírají buňky v bezprostřední blízkosti patogena a vytvářejí se tak mikroskopické až okem viditelné ostrůvky nekrotického pletiva, ve kterých zůstává patogen uvězněn.
Z tohoto důvodu je hypersenzitivní reakce účinná především proti biotrofním patogenům.
Nekrotrofové mohou naopak celý mechanismus využívat ve svůj prospěch.



Klíčové regulační prvky v tomto procesu jsou především reaktivní formy kyslíku (ROS), oxid dusnatý, kyselina salicylová a změna koncentrace Ca2+ v cytosolu.

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Kyselina salicylová a systémově získaná rezistence

Kyselina salicylová (SA) je v rostlinách indukována zejména při napadení biotrofními patogeny a exogenní aplikace SA zvyšuje rezistenci rostlin proti této skupině patogenů. SA je v rostlinách syntetizována z isochorismátu, jehož syntéza je katalyzována enzymem isochorismát syntázou.
S kyselinou salicylovou je přímo spojen i **fenomén systémově získané rezistence**. Právě při jejím studiu byla SA objevena. Rostliny po inokulaci zpravidla avirulentním patogenem, mohou i v částech vzdálených od místa inokulace vykazovat značnou míru rezistence k virulentním patogenům. Taková rezistence pak může v rostlinách přetrvávat po dlouhou dobu.

Kyselina jasmonová (JA) je indukována především nekrotrofními patogeny a herbivory. Prekurzorem JA je kyselina α-linolenová, která vzniká hydrolýzou membránových fosfolipidů katalyzovanou fosfolipázou A.

Plyn etylén je považován za hormon, který při obranných reakcích rostliny kooperuje s JA a společně antagonizují signální dráhu SA

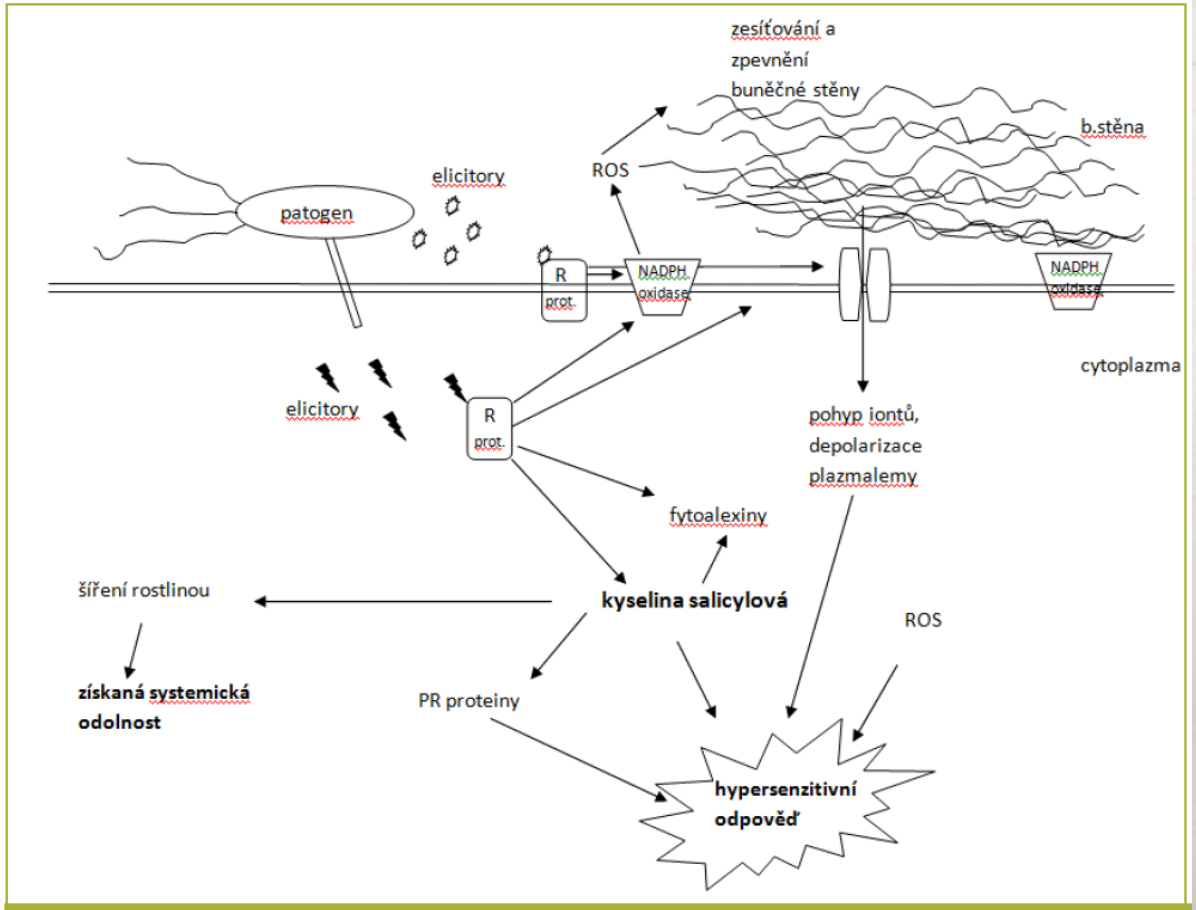
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Imunitní systém rostlin a signalizační dráhy rostlin

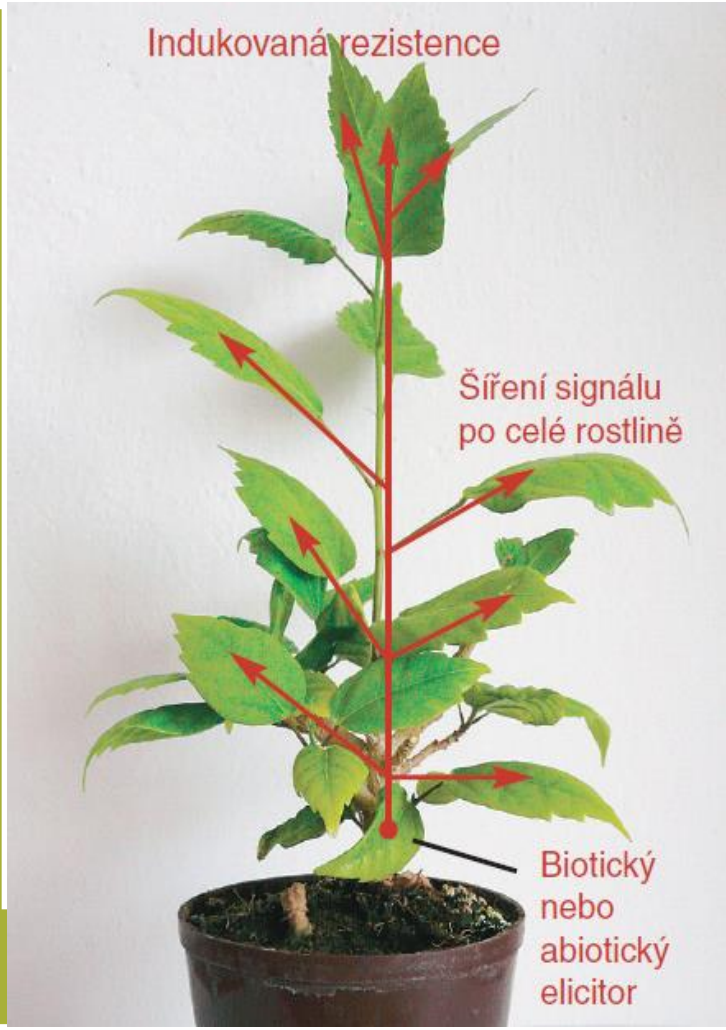
Již Bohumil Němec a Silvestr Prát ve svých pokusech s inokulovanými listy rostlin zelí bakterií *Pseudomonas aeruginosa* pozorovali, že při následné inokulaci vzdálené části listu byly rostliny k infekci odolné.

Imunitní systém rostlin odrážející útoky mikrobů je založen na receptorech umístěných na povrchu buněk. Tyto receptory rozpoznávají konzervované molekuly patogenů označované obecně jako **MAMPs (microbe-associated molecular patterns).**
Imunita vyvolaná MAPMs je zodpovědná za likvidaci většiny potenciálních parazitů. Patogeni jsou charakterističtí tím, že ji dokáží překonat. Rostliny nesoucí mutace v genech receptorů MAMPs a proteinů následných signálních kaskád jsou často náchylné k celé řadě patogenů, pro které jsou za normálních okolností nehostitelské.

Mezi nejlépe popsané MAMPs patří **chitin** jakožto hlavní složka buněčné stěny hub a **flagelin**, peptid utvářejí bičík mnoha fytopatogenních bakterií.



Obr. 1. Souhrnné schéma průběhu odpovědi buňky na přítomnost patogena



Koevoluce hostitele a patogena – narušena člověkem během domestikace a především pak globalizace

Mšička révokaz
Daktulosphaira vitifoliae, Phylloxera vitifoliae

Zavlečena do Evropy díky botanickým sběrů severoamerických druhů révy (1850) – devastace evropských neodolných druhů révy (*V. vinifera*)
Nutnost roubování na podnož amerických druhů *Vitis aestivalis, V. rupestris, a V. riparia*

OPEN ACCESS Freely available online

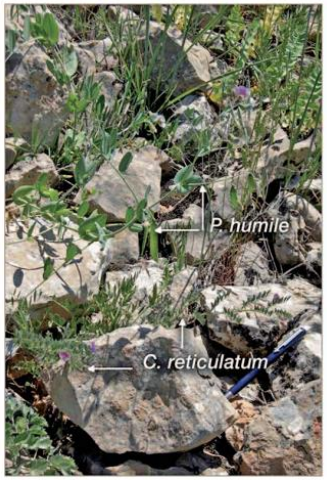
PLoS one

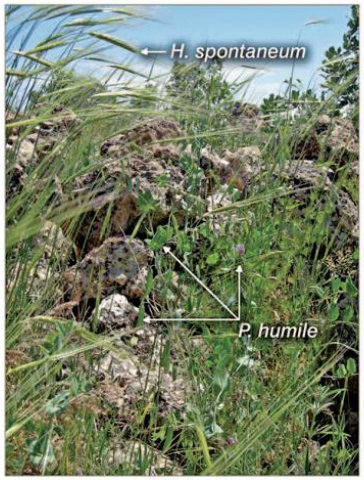
The Prehistory of Potyviruses: Their Initial Radiation Was during the Dawn of Agriculture

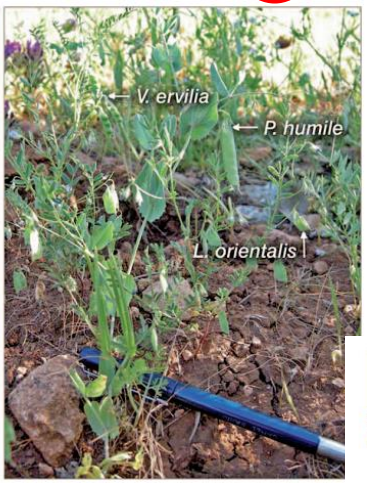
Adrian J. Gibbs[1]*, Kazusato Ohshima[2], Matthew J. Phillips[3], Mark J. Gibbs[4]

Table 5. Estimates of the date of the major radiation of potyviruses.

Virus[1]	Rate of evolution ($\times 10^{-4}$ ns/s/yr)	Length of branch from radiation (ns/s)	Estimate[2] of radiation date (YBP)	Calibration node date[3] (YBP)	Accuracy[4]: radiation years per node decade.
PPV	1.40	0.6354	4532	100	453
Australian potyviruses	1.173	0.7452	6353	75	847
American CAbMVs	1.397	0.778	5565	500	111
American PRSVs	1.25	0.747	5976	300	198
Mean of viruses #2-4	1.273	0.7567	5965	-	-

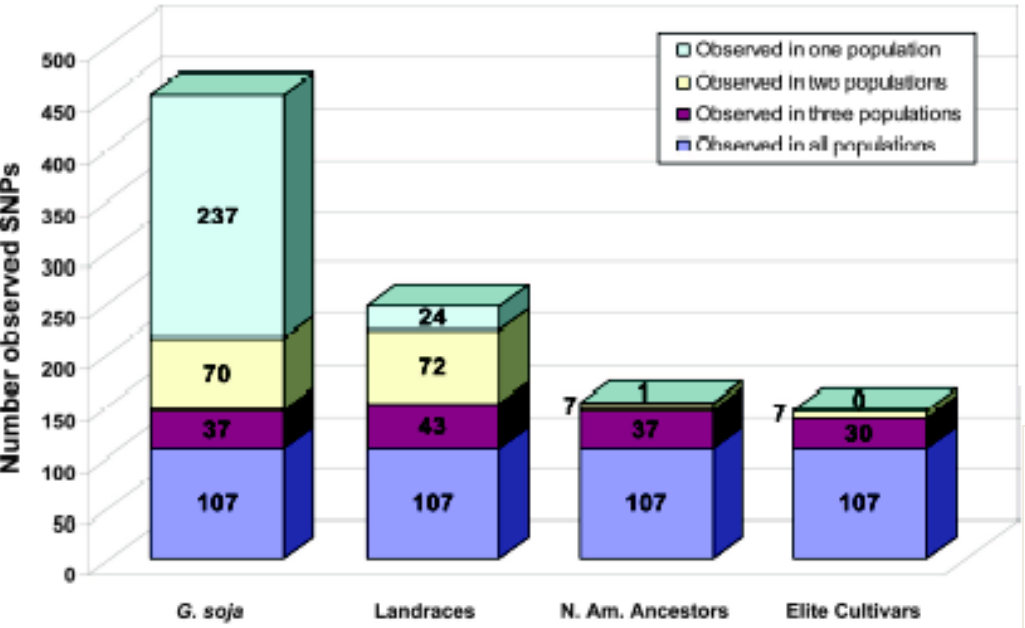


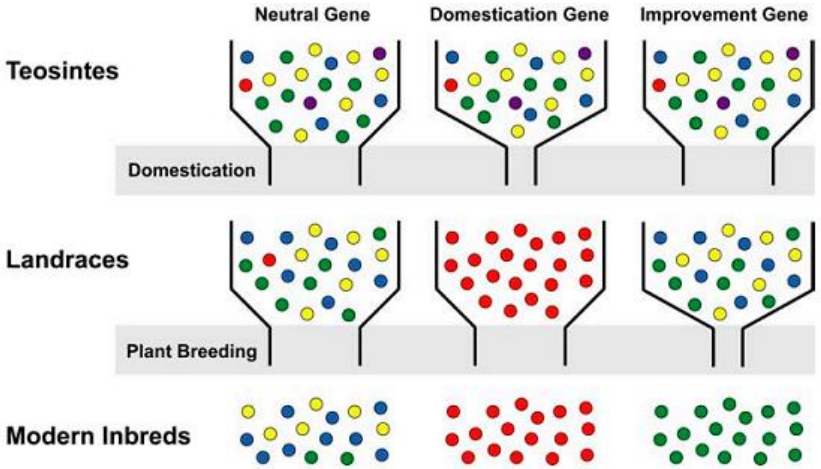


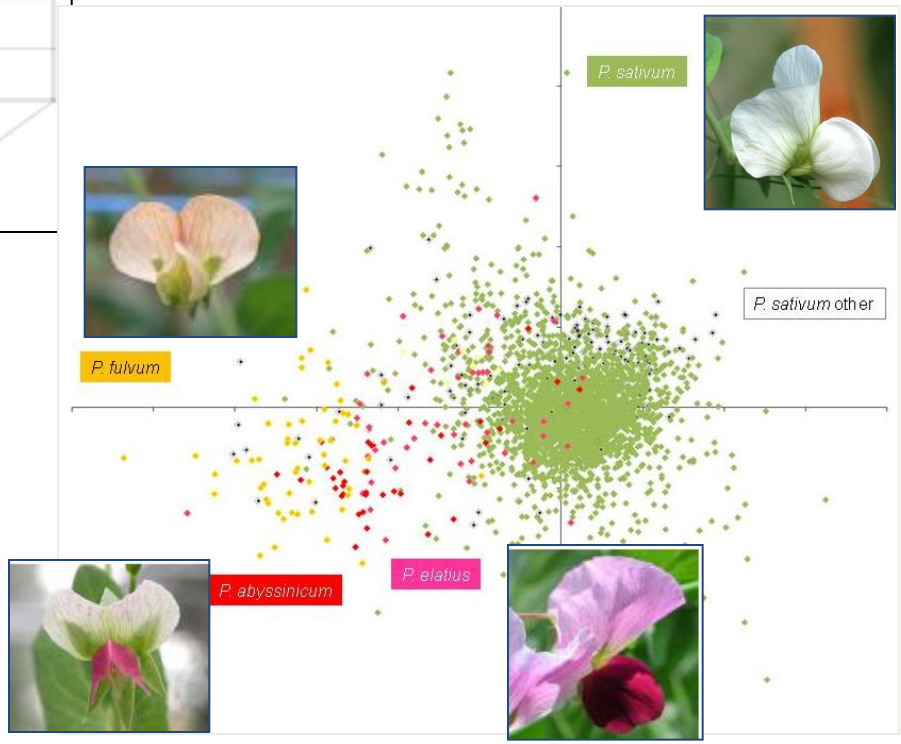


evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Domestikace a výběr







Pěstované formy/druhy
70% diverzity
planých druhů

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

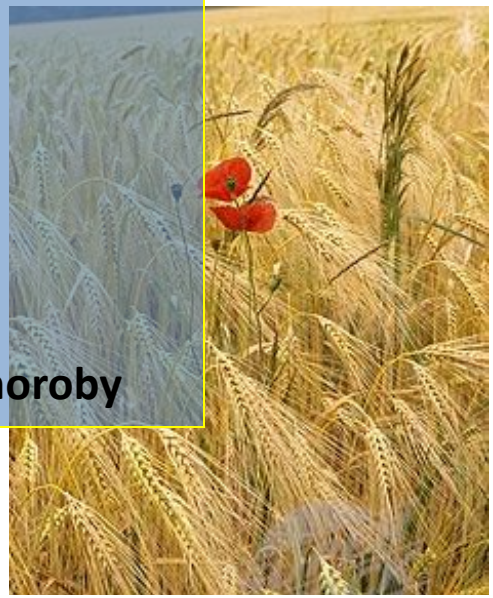
Význam genetické diversity

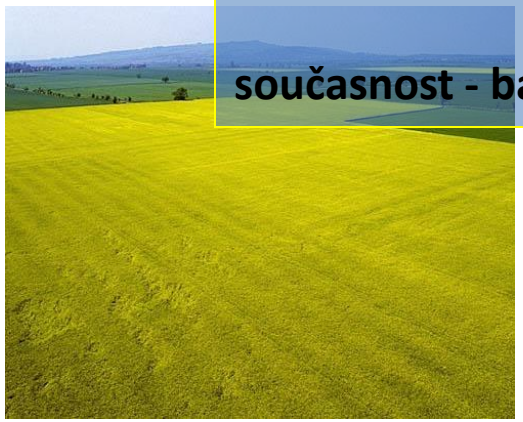
Mayové - monokultura kukuřice - choroby/škůdci/eroze

Irsko (1846) - *Phytophtora infestans* u brambor

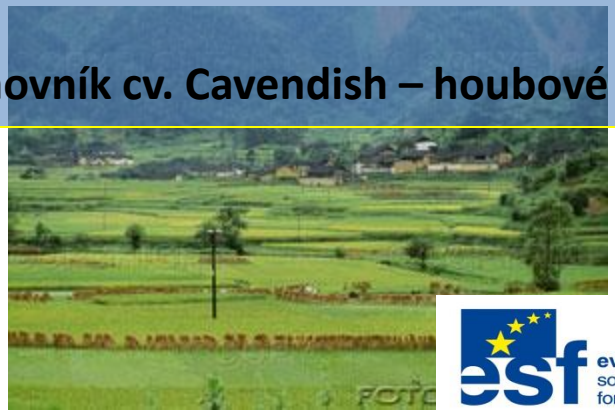
USA (1970) - kukuřice x *Helminthosporium maydis*
T typ CMS ve vazbě na gen náchylnosti

USA - *Xanthomonas* campestris u citrusů



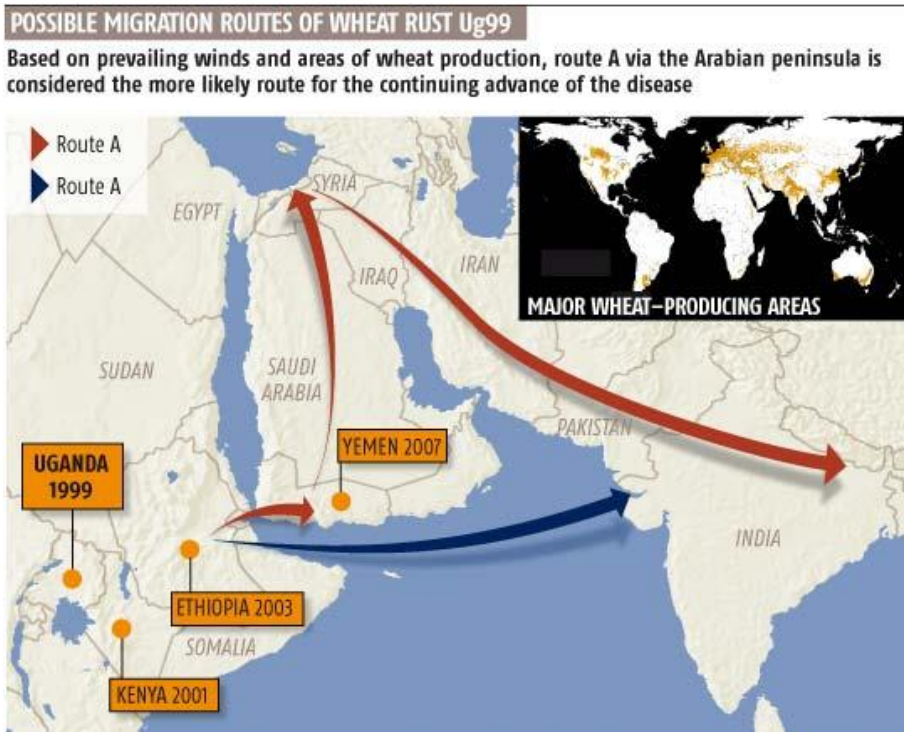


současnost - banánovník cv. Cavendish – houbové choroby

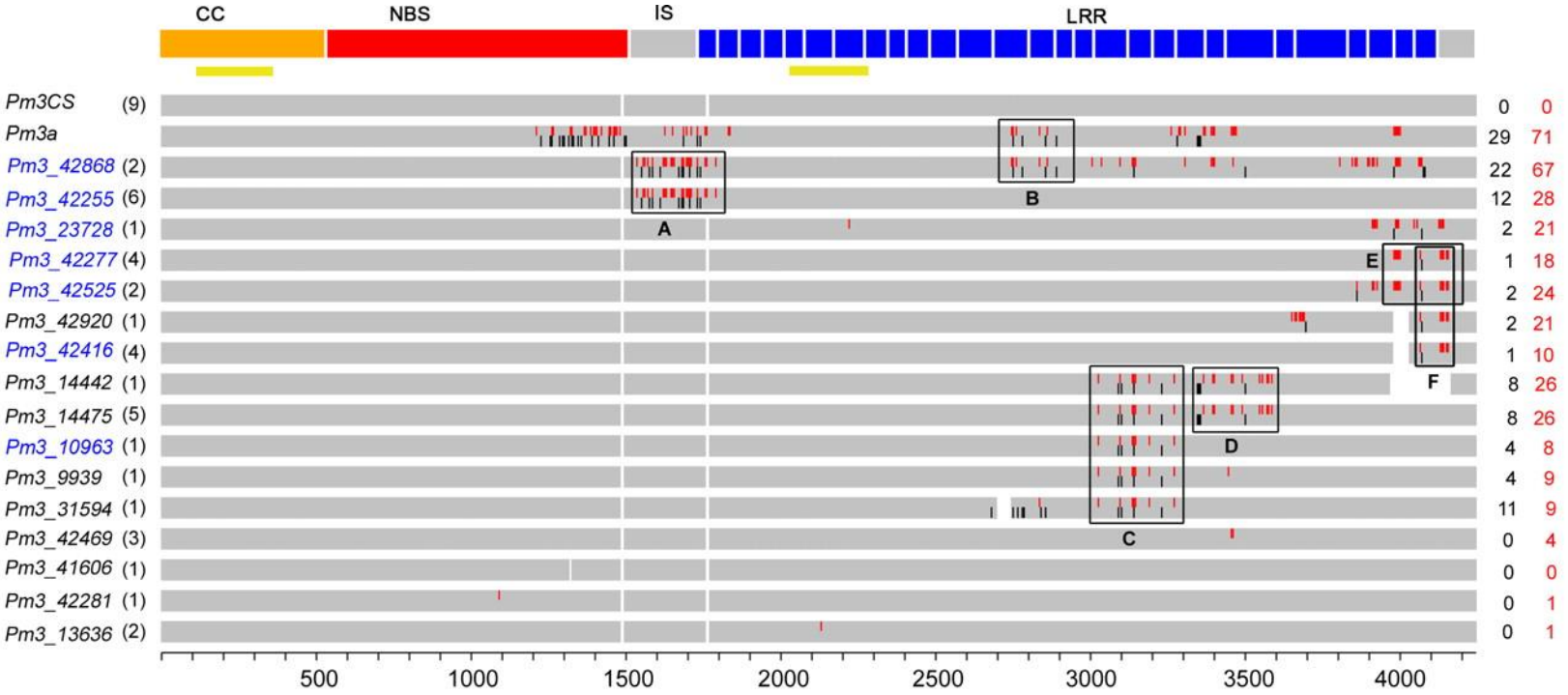


evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Důsledek zelené revoluce
pšenice x rez travní (*Puccinia graminis*)

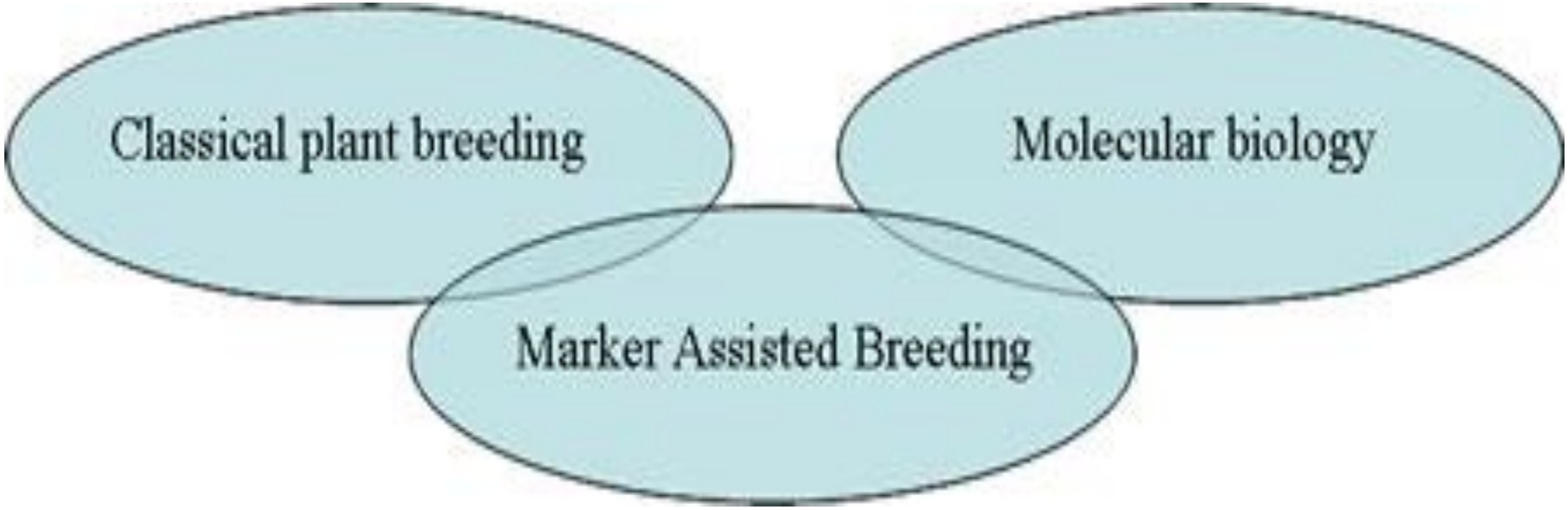


Genové banky – zdroj alelických forem genů rezistence
Příklad Pm3 genu rezistence pšenice k padlí



Bhullar N K et al. PNAS 2009;106:9519-9524

Využití rezistence ve šlechtění rostlin



Marker Assisted Breeding/Selection (MAS)

Laboratorní, skleníkové, polní testování fenotypu

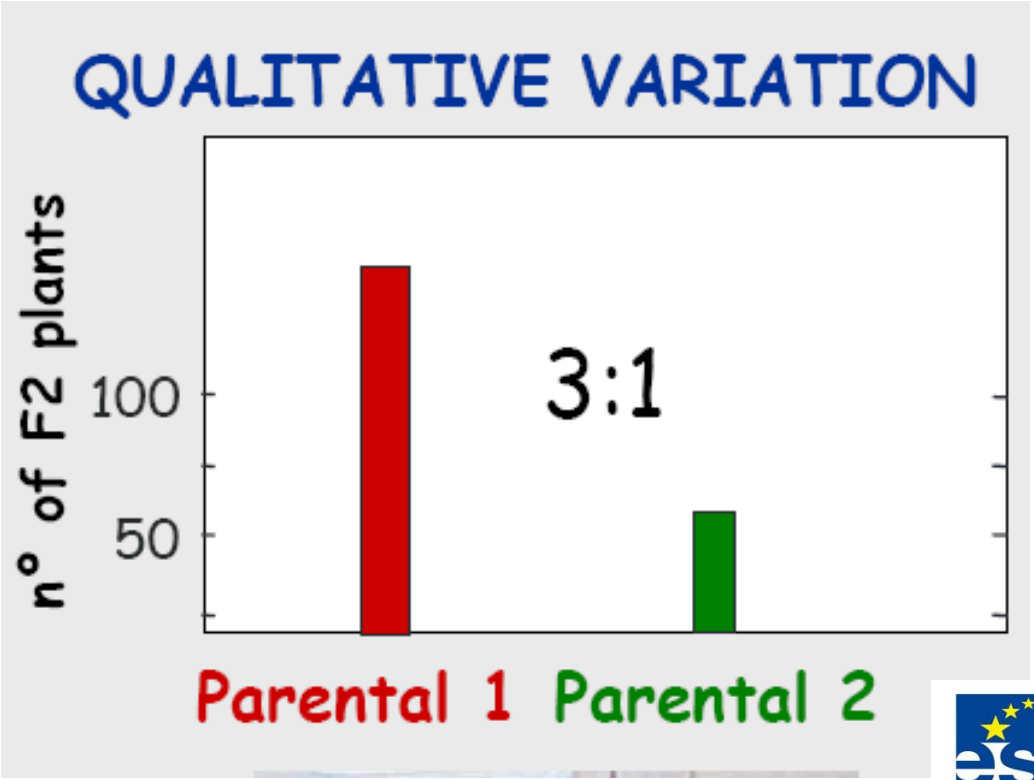
inokulace

pěstování

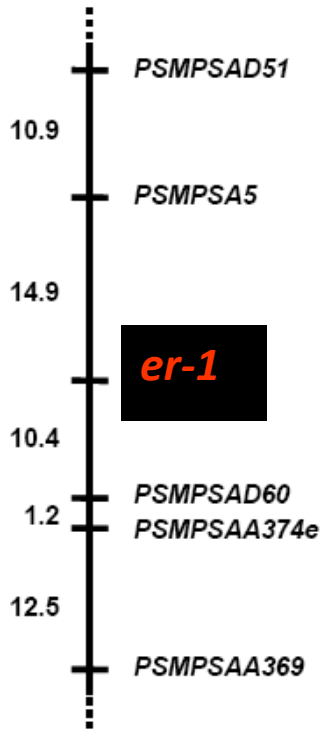
hodnocení

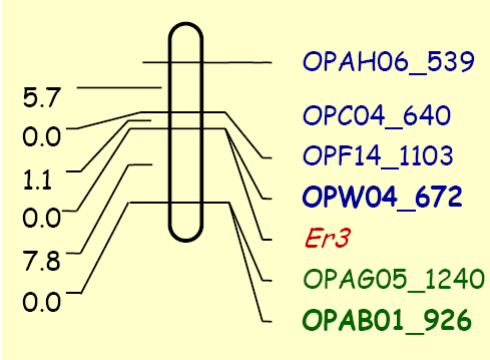
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Kvalitativní znaky

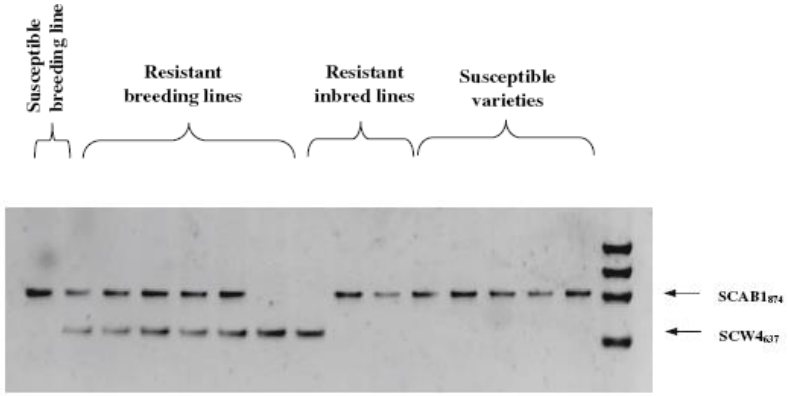


Padlí hrachu (*Erysiphe pisi*)



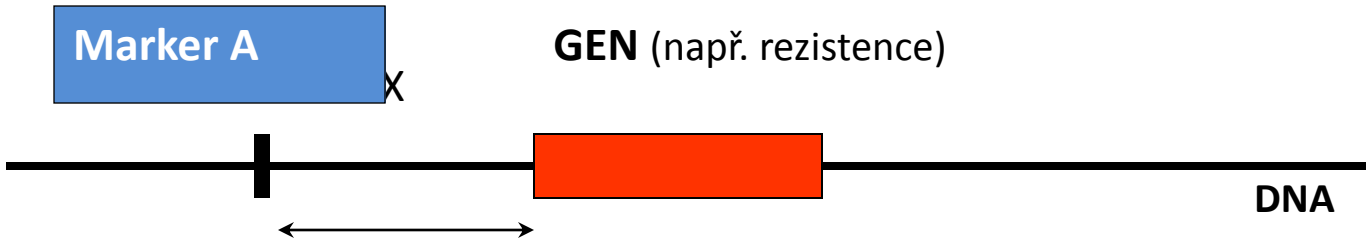


***P. fulvum* – dominantní Er-3 gen**



Recesivní *er-1* gen

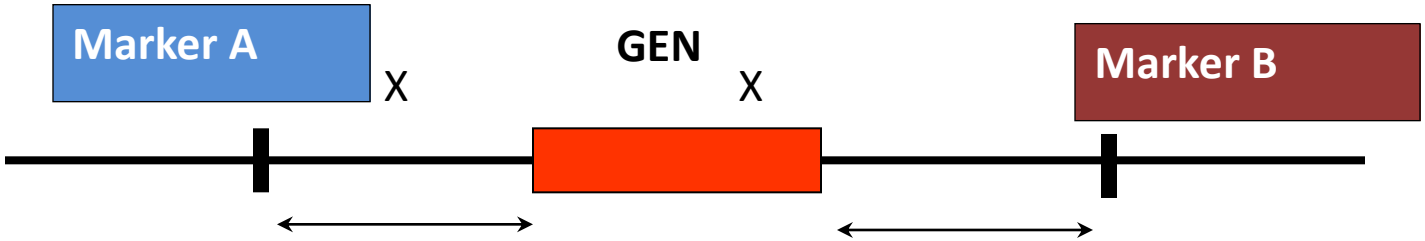
Vazba markeru se znakem – nepřímý marker



5 cM (vzdálenost)

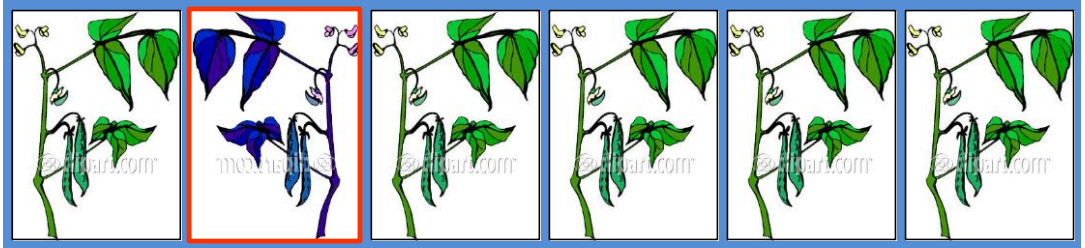
Spolehlivost při selekci : **95%**

Spolehlivost při selekci: **99,5%**



5 cM (vzdálenost) 5 cM

Výsledek selekce s použitím nepřímého markeru



Rezistentní | **Náchylná** | Rezistentní | Rezistentní | Rezistentní | Rezistentní

Viruses - the crop devastating agents

- 73 recognized plant virus genera
- Crop losses around 30- 50% of yield (FAO)
- *Potyvirus* (family *Potyviridae*) contain over 15% of species

Potyviruses

- infect species of most angiosperm taxa in all temperate and tropical climes
- they are transmitted by aphids, especially species of *Aphidinae*
- some are also transmitted in seeds to the progeny of infected plants.
- agriculture may have triggered the prehistoric emergence of potyviruses and fostered their speciation

Crop (pea) protection

Agricultural:

- control of vectors – aphids – pesticides
- certified seeds
- crop rotation

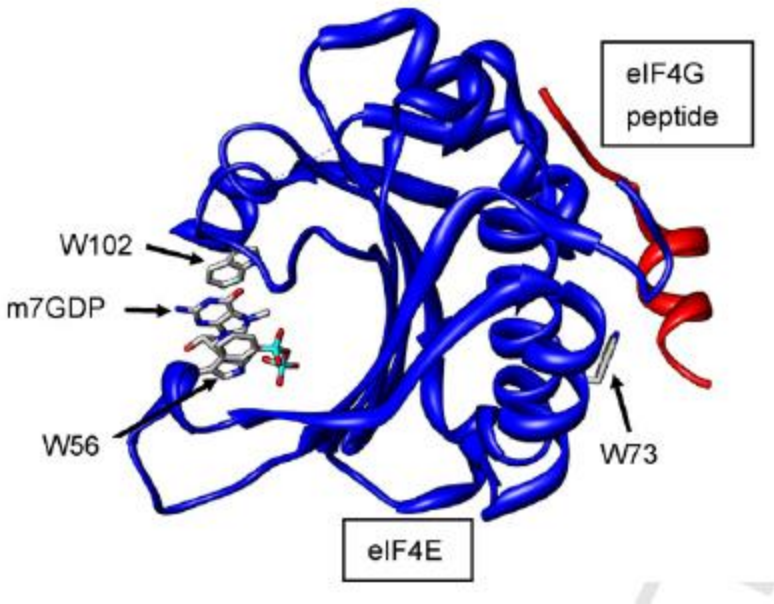
Genetical - breeding:

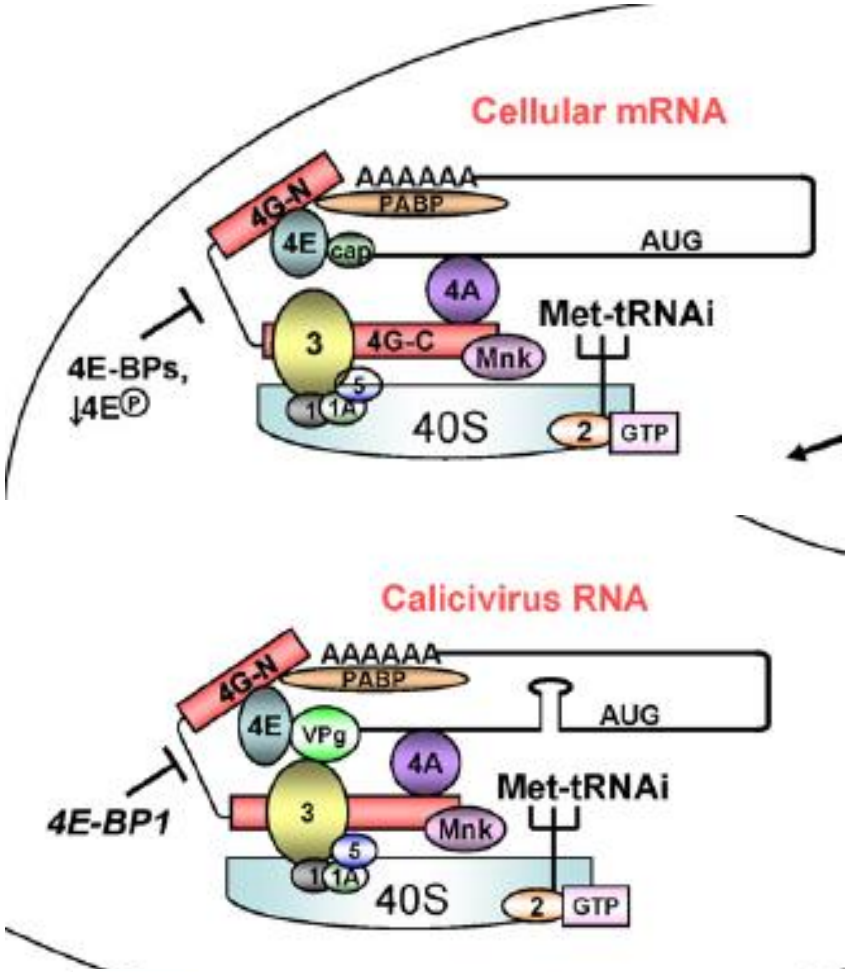
- source of plant (host) resistance gene/-s

Biotechnological - genetic engineering:

- transgenic (GMO) crop

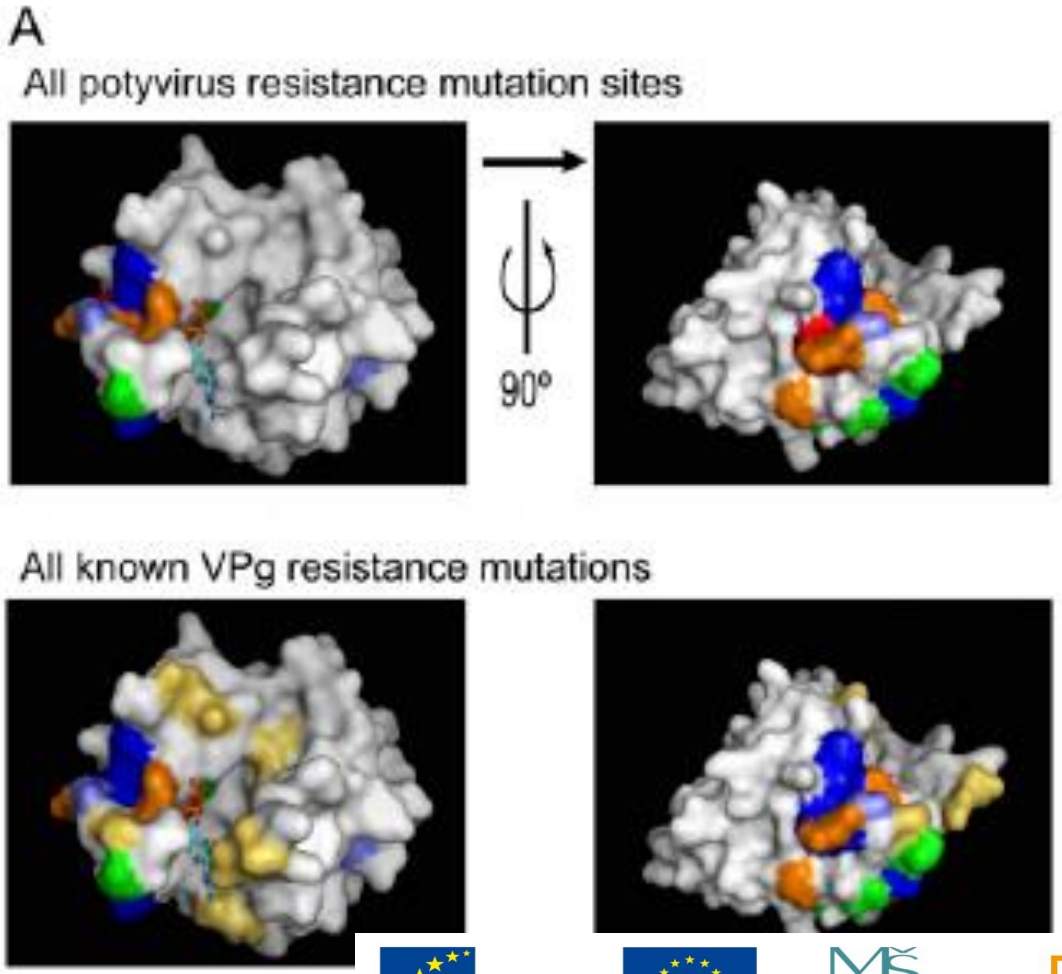
Eukaryotic translation initiation factor 4E





- **cap-dependent protein synthesis**
- **nuclear export**
- **translation of uncapped viral mRNAs**

Plant *eIF4E* and viral VPg interaction



Monzingo *et al.* 2007

Pea seed borne mosaic virus (PSbMV)

Hostitelské rostliny (47 druhů):

- hrách (*Pisum sativum)*
- čočka (*Lens culinaris)*
- cizrna (*Cicer arietinum)*
- bob (*Vicia faba)*

Symptomy:

- rolování listů
- žloutnutí žilek
- zkracování internodií
- zakrslost
- deformace semen

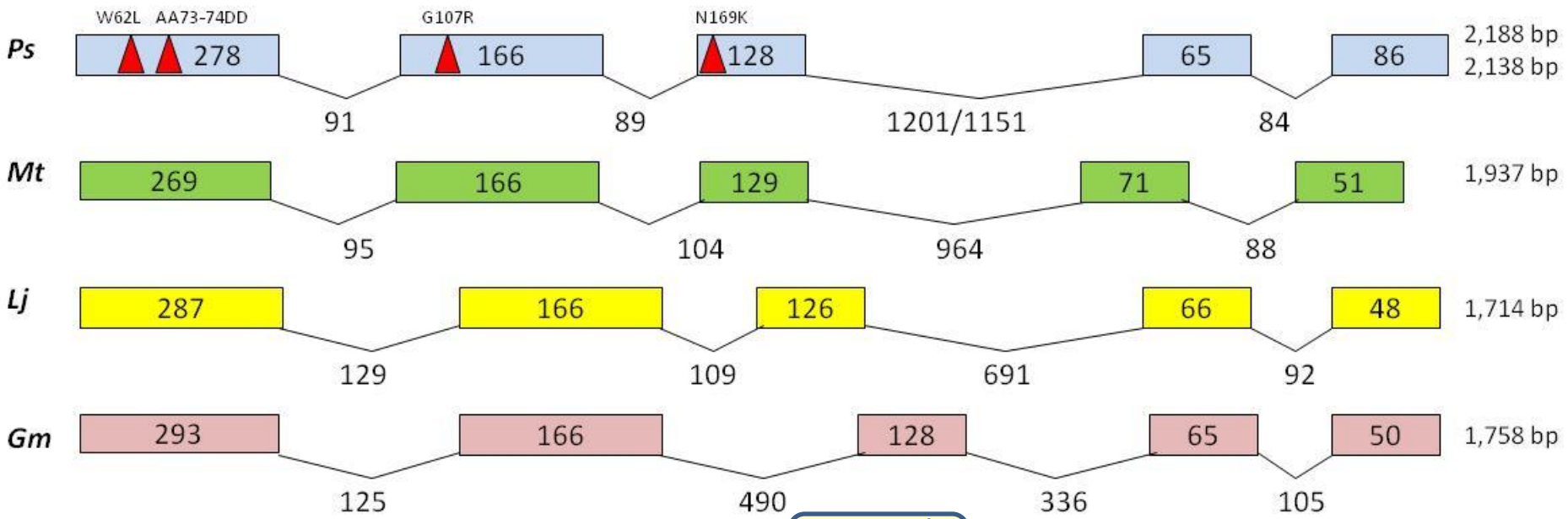
Přenos:

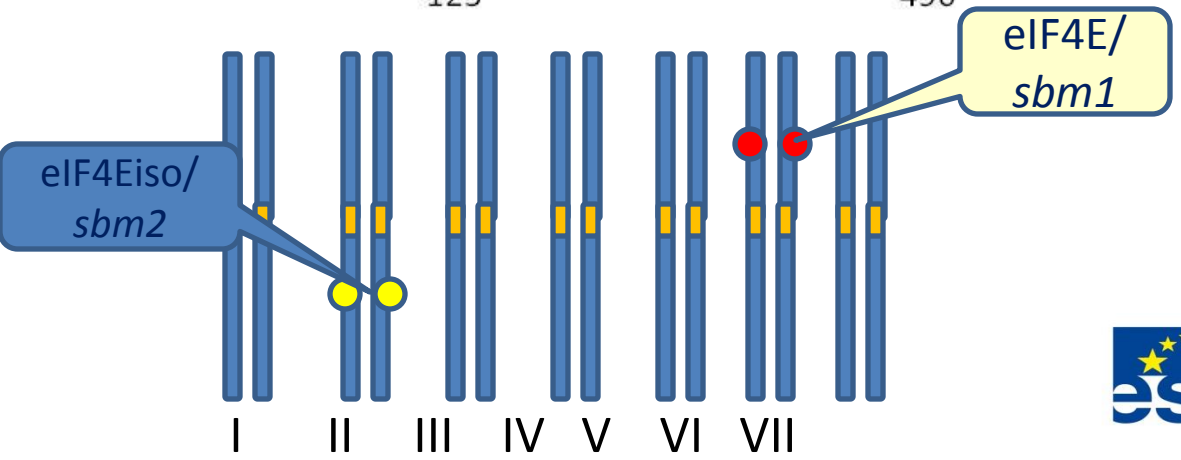
- mšicemi
- semeny
- mechanicky

Classical testing of phenotype during the breeding process

Time, space and resources consuming process

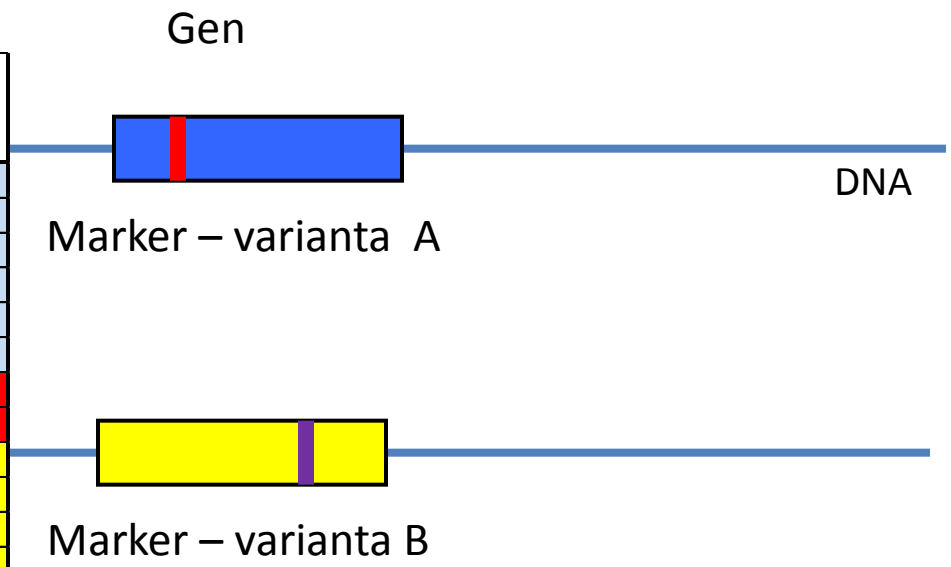
Schéma eIF4E genu vybraných zástupců *Fabaceae*

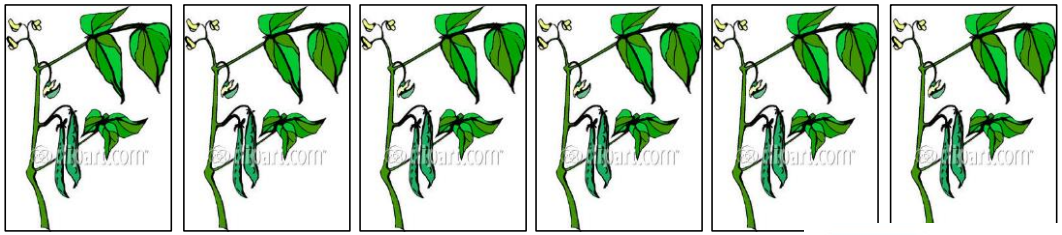




Genově specifický (ideální) marker

Detected *eIF4E* allele	W62L	AA73-74DD	S78	G107R	N169K	Intron 3 size (bp)
SBM-1	W	AA	S	G	N	1,201
SBM-1	W	AA	S	G	N	1,201
SBM-1	W	AA	S	G	N	1,201
SBM-1	W	AA	S	G	N	1,201
sbm-1	W	PD	_	G	N	1,201
sbm-1	W	PD	_	G	N	1,201
sbm-1	W	PD	_	G	N	1,257
sbm-1	W	PD	_	G	N	1,257
sbm-1	L	DD	S	R	K	1,151
sbm-1	L	DD	S	R	K	1,151
sbm-1	L	DD	S	R	K	1,151
sbm-1	L	DD	S	R	K	1,151



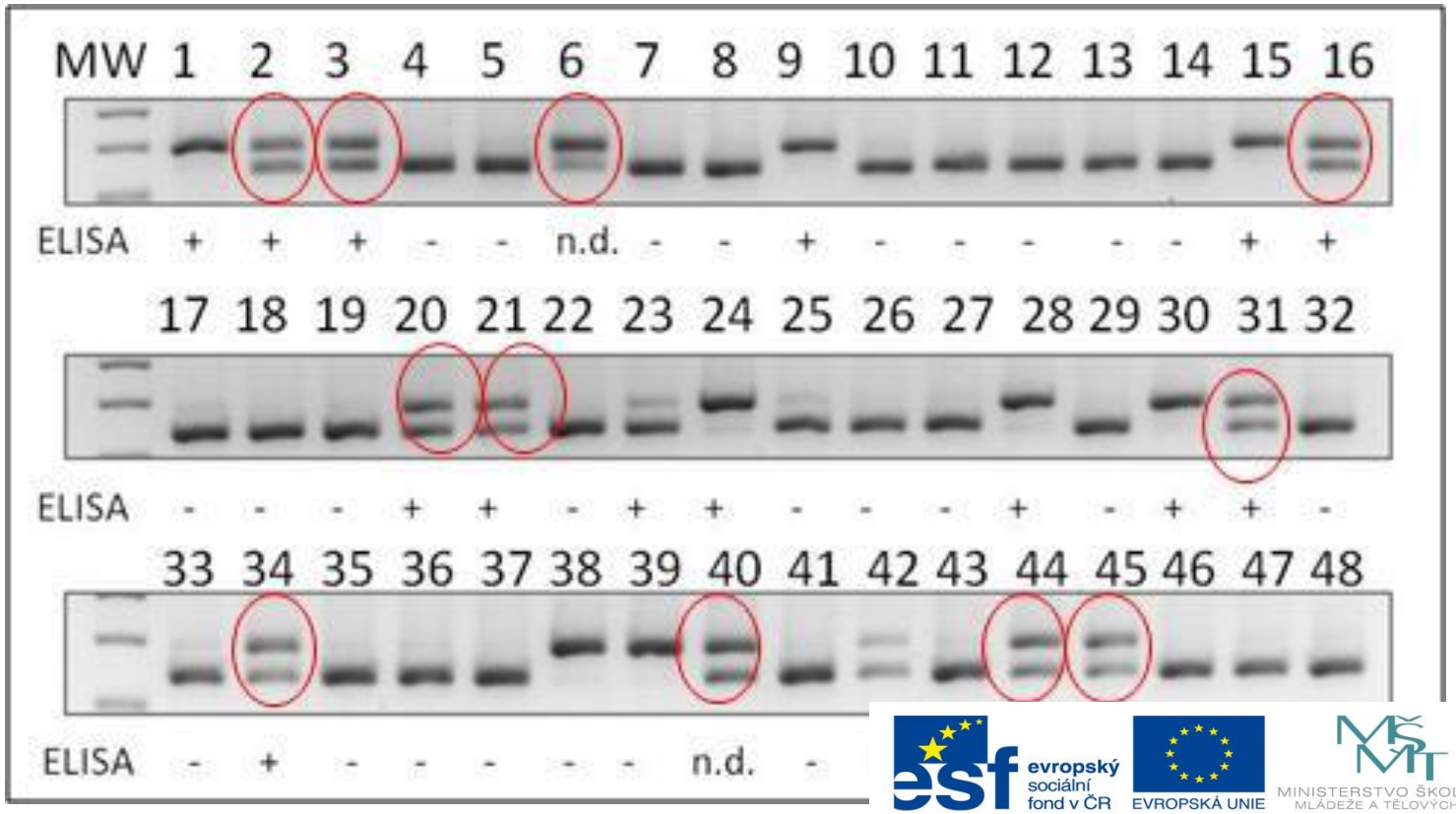


R R R R

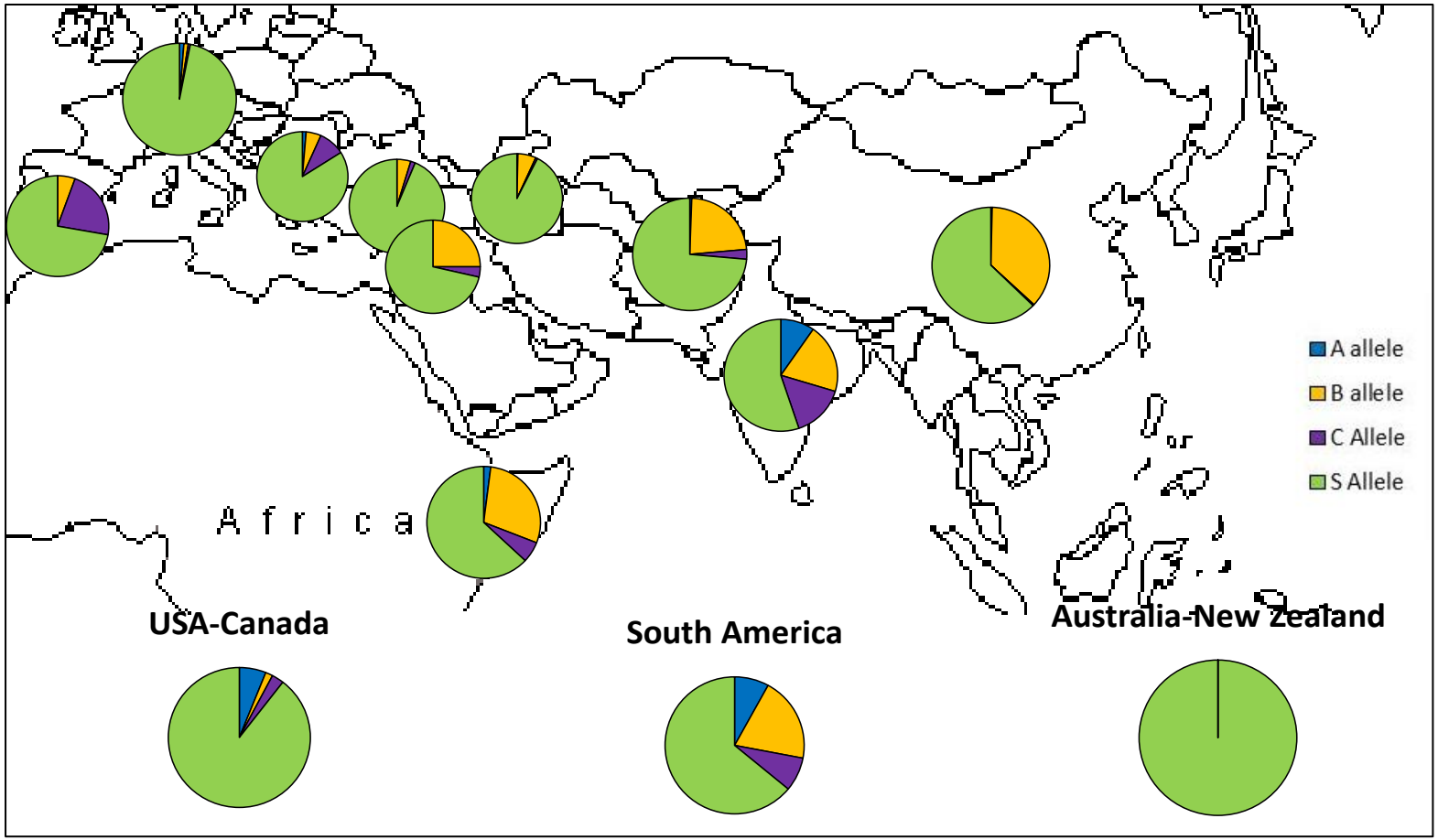
Selekční spolehlivost 100 %

75% spolehlivost fenotypového hodnocení versus 100% DNA testování

příklad rezistence (*eIF4E*) hrachu k PSbMV viru

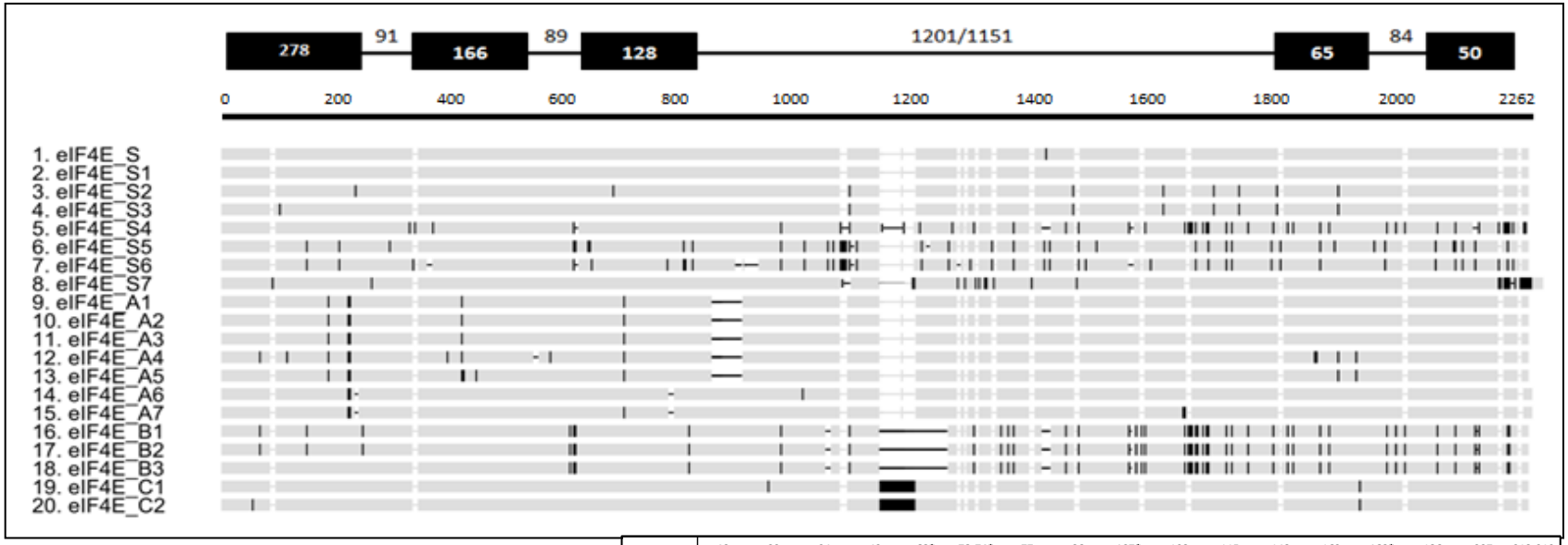


Geographical distribution of *eIF4E* alleles in 2803 pea accessions



Konečná et al. 2014

New *eIF4E* alleles found within cultivated pea germplasm

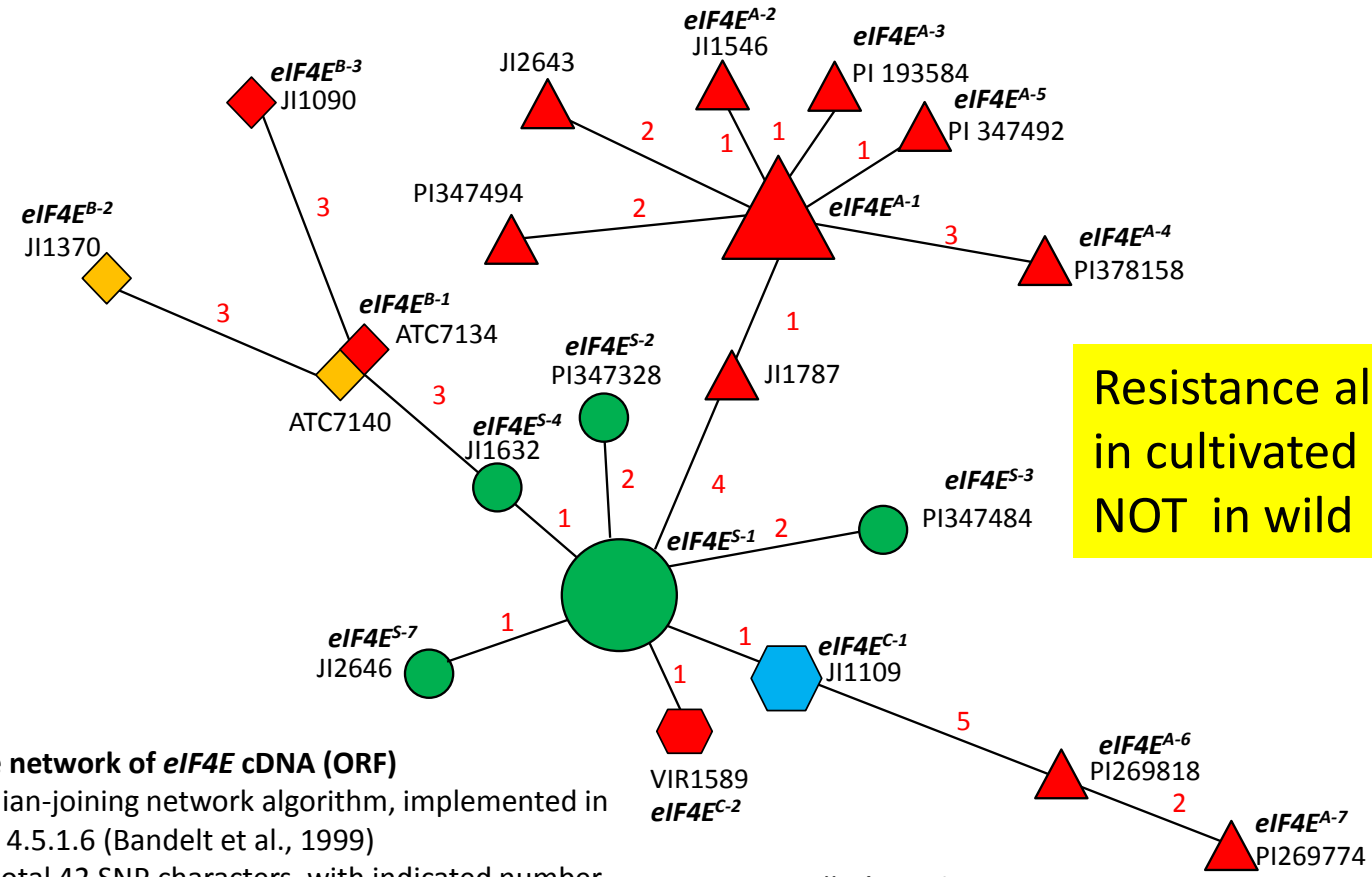


Konečná et al. 2014

	19	23	34	49	62*	73-74*	77	86	107*	108	115	148	163	169*	186	207	218-219
S allele																	
eIF4E $^{S-1}$	N	V	E	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{S-2}$	N	V	E	V	W	AA	R	S	G	A	H	L	T	N	N	M	LD
eIF4E $^{S-3}$	N	V	A	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{S-4}$	N	V	E	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	I	LD
eIF4E $^{S-5}$	N	V	E	A	W	AA	S	S	G	A	H	W	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{S-6}$	N	V	E	A	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{S-7}$	N	V	E	V	W	AA	S	C	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
A allele																	
eIF4E $^{A-1}$	N	V	E	V	L	DD	S	S	R	A	H	L	I	K	N	M	LD
eIF4E $^{A-2}$	N	V	E	V	L	DD	S	S	R	A	H	L	I	K	H	M	LD
eIF4E $^{A-3}$	N	V	E	V	L	DD	S	S	R	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{A-4}$	N	A	E	V	L	DD	S	S	R	A	H	L	I	K	N	M	LD
eIF4E $^{A-5}$	N	V	A	V	L	DD	S	S	R	P	R	L	I	K	N	M	LD
eIF4E $^{A-6}$	N	V	E	V	W	PD	_	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{A-7}$	N	V	E	V	W	PD	_	S	G	A	H	L	I	K	N	M	LD
B allele																	
eIF4E $^{B-1}$	N	V	E	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	I	QE
eIF4E $^{B-2}$	N	D	E	A	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	I	QE
eIF4E $^{B-3}$	N	D	E	A	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	I	LD
C allele																	
eIF4E $^{C-1}$	N	V	E	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD
eIF4E $^{C-2}$	I	V	E	V	W	AA	S	S	G	A	H	L	I	N	N	M	LD

P. Smýkal, Palacký University in Olomouc, CZ

Evolution of resistance alleles



Resistance alleles find only in cultivated genepool NOT in wild

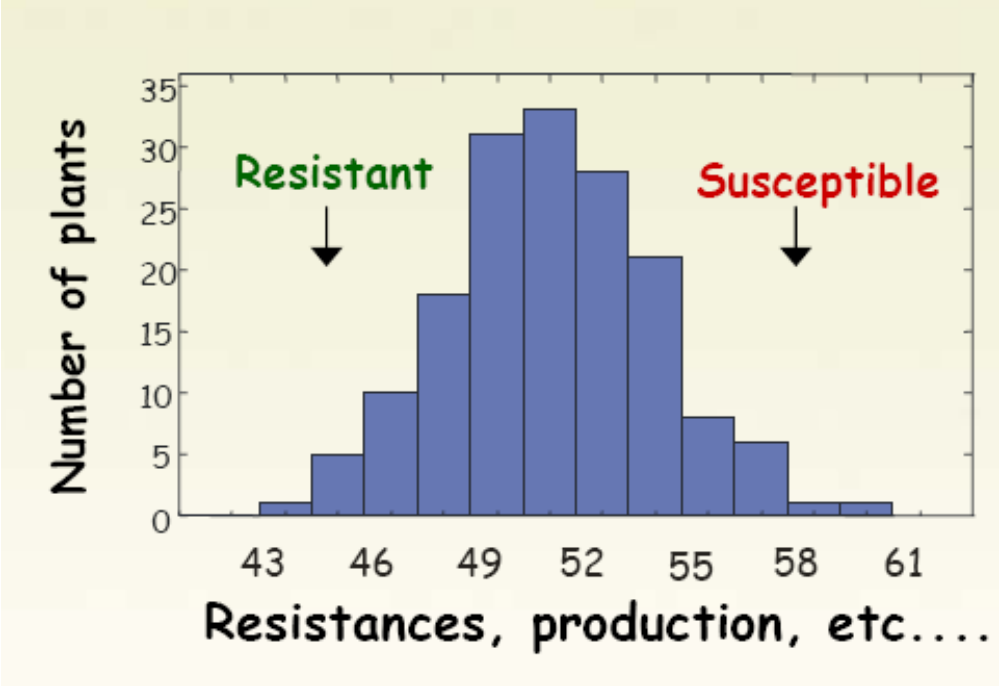
Haplotype network of *eIF4E* cDNA (ORF)
Using median-joining network algorithm, implemented in NETWORK 4.5.1.6 (Bandelt et al., 1999)
Based on total 42 SNP characters, with indicated number of mutated positions (in red)

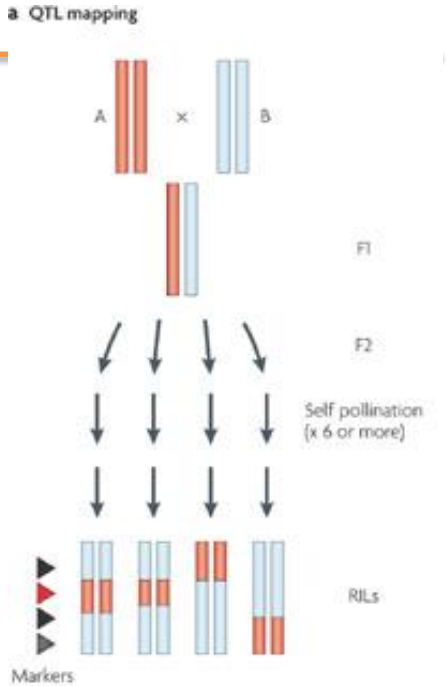
Konečná et al. 2014

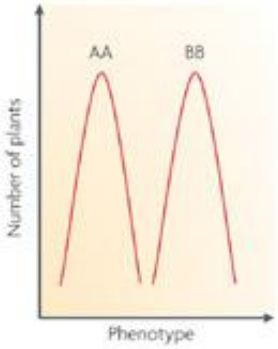
Kvantitativní znaky (QTLs)

Potřeby:

- Mapovací populace (min F2:3, ale spíše F8)
- Markery (desítky, stovky, lépe pak tisíce)
- Fenotypový popis



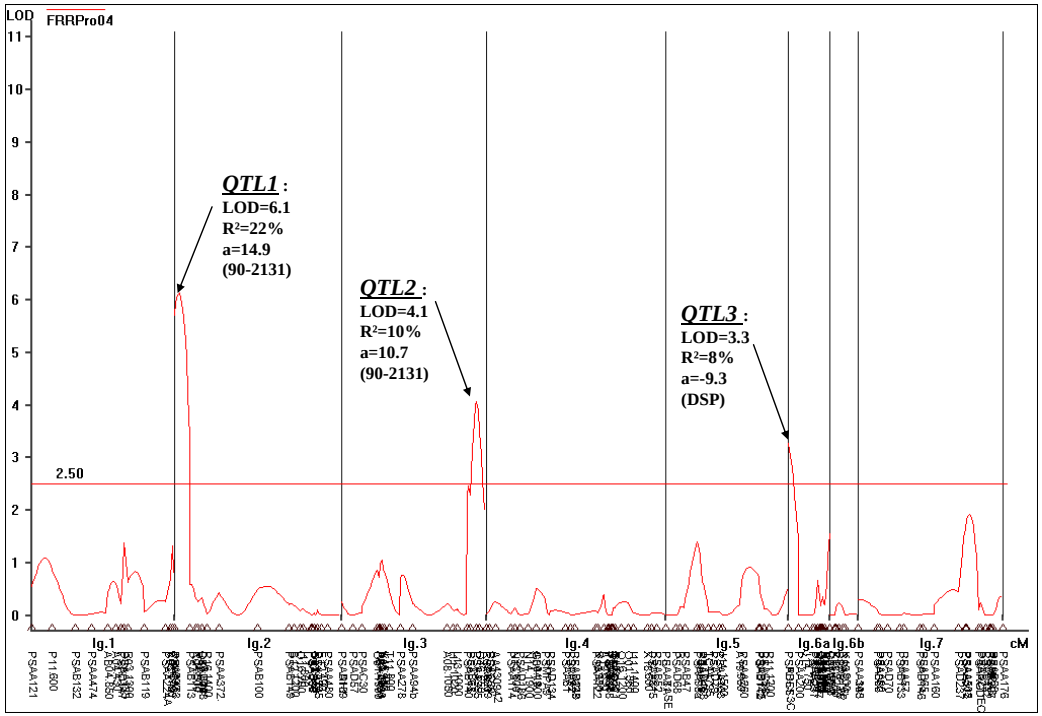




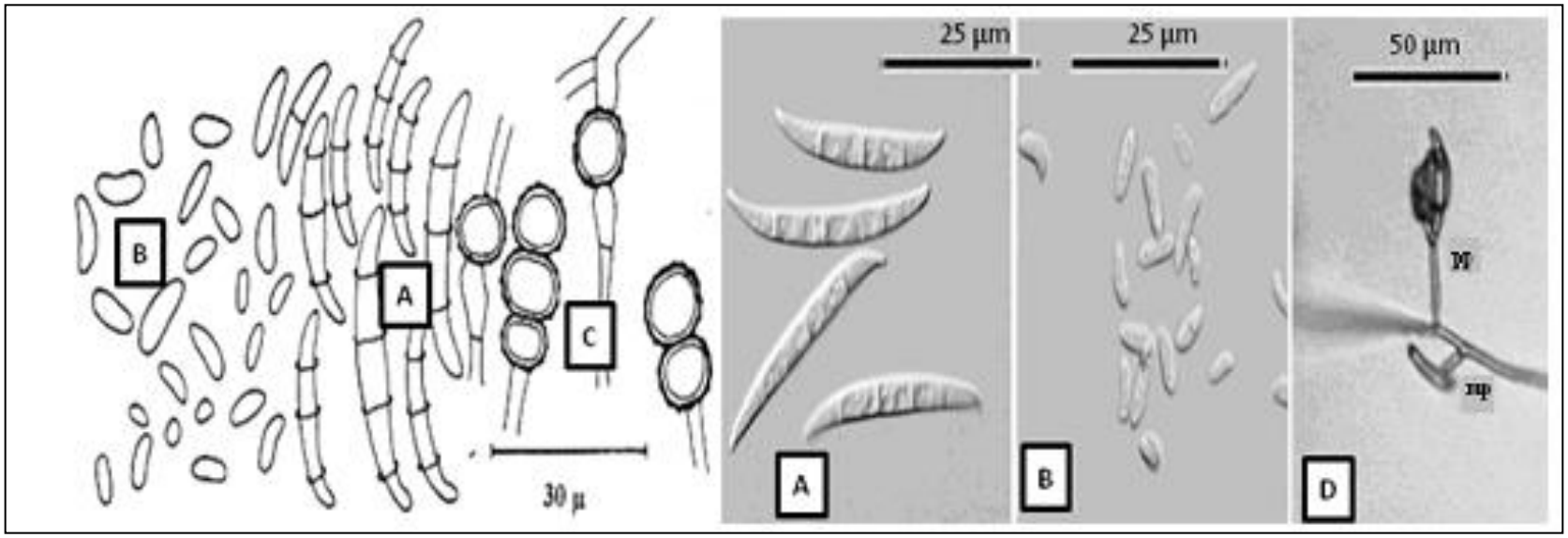
Kvantitativní znaky (QTLs)

2		Fwr1	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C
3		Fwr1	280	210	195	180	150	140	125
4	Marker	*Fw*	*A1*	*A2*	*A3*	*A4*	*A5*	*A6*	*A*
5	Green Arrow	A	A	A	A	A	A	A	A
6	PI 179449	B	B	B	B	B	B	B	E
7	PRIL7-01	A	B	B	B	B	B	A	A
8	PRIL7-02	B	A	A	A	A	B	A	A
9	PRIL7-03	B	B	B	A	B	B	B	E
10	PRIL7-04	B	B	A	A	A	A	A	E
11	PRIL7-05	B	B	B	A	B	B	B	E
12	PRIL7-06	A	B	A	A	A	A	B	A
13	PRIL7-07	A	A	A	A	A	A	B	A
14	PRIL7-08	A	B	A	B	A	B	B	E
15	PRIL7-09	B	B	B	B	B	B	B	E
16	PRIL7-10	B	B	B	B	B	B	A	A
17	PRIL7-11	B	A	A	A	A	A	A	E
18	PRIL7-12	B	A	A	A	B	B	A	A
19	PRIL7-13	A	A	A	A	B	B	B	A
20	PRIL7-14	A	B	A	B	A	A	B	A
21	PRIL7-15	A	A	B	B	B	B	A	A
22	PRIL7-16	A	A	A	A	A	A	B	A
23	PRIL7-17	A	A	B	A	B	B	B	A
24	PRIL7-18	A	B	B	A	B	B	B	A
25	PRIL7-19	B	B	A	B	A	A	A	E
26	PRIL7-20	B	A	B	A	B	B	A	E
27	PRIL7-21	A	B	B	A	B	B	B	A
28	PRIL7-22	A	B	B	A	B	B	A	A
29	PRIL7-23	B	A	A	B	A	A	B	E
30	PRIL7-24	B	A	A	A	A	A	B	E
31	PRIL7-25	A	B	B	B	B	B	B	A
32	PRIL7-26	A	A	A	B	A	A	B	A
33	PRIL7-27	B	B	A	A	A	A	A	E

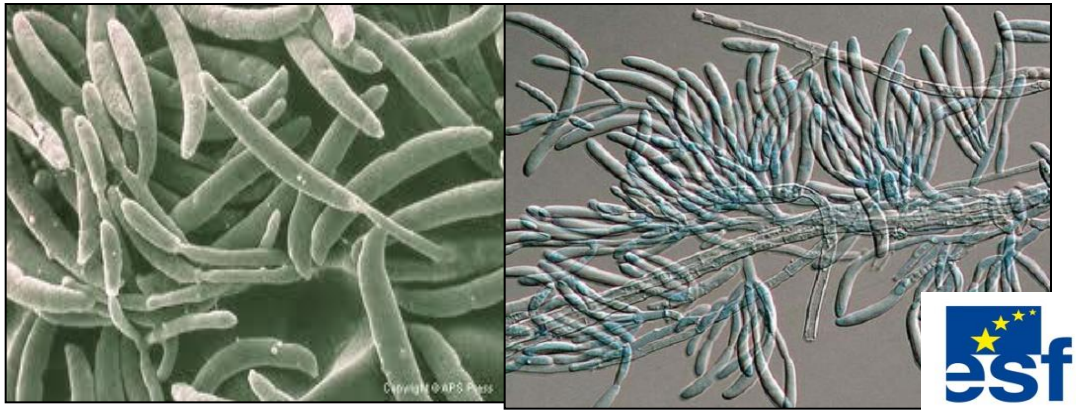
Spočívá v analýze statistické závislosti mezi kvantitativními znaky a genetickými markery



Fusarium oxysporum f.sp. pisi

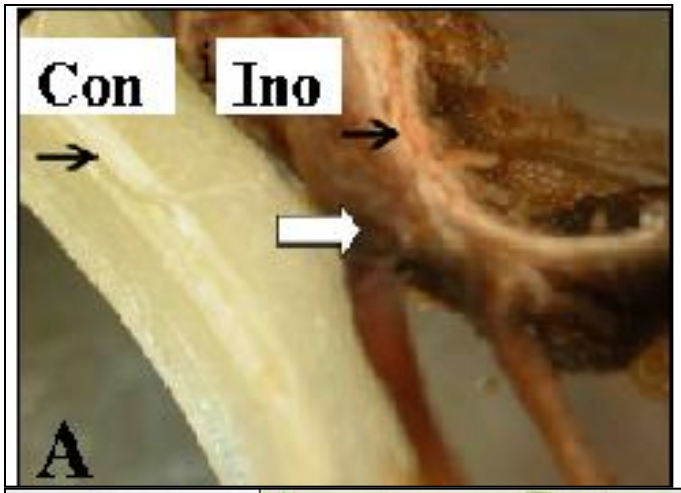


F. oxysporum (A: macroconidia, B: microconidia, C: chlamydospores, D: monophialide (Leslie et Summerell, 2006)



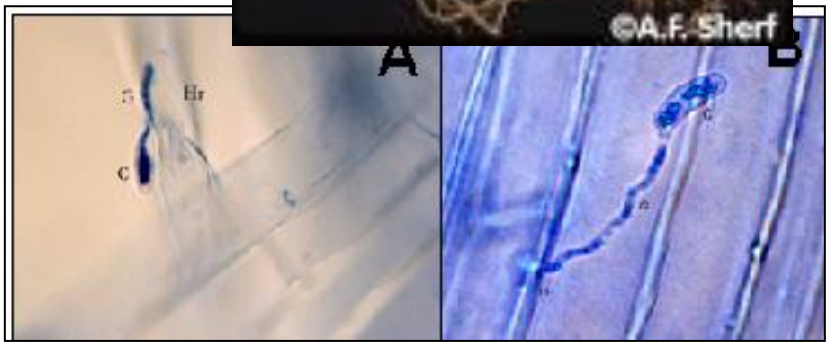
Fusarium solani

Fuzáriová spála (*Fusarium solani*)



Fuzáriové vadnutí

(*Fusarium oxysporum f.sp. pisi)*

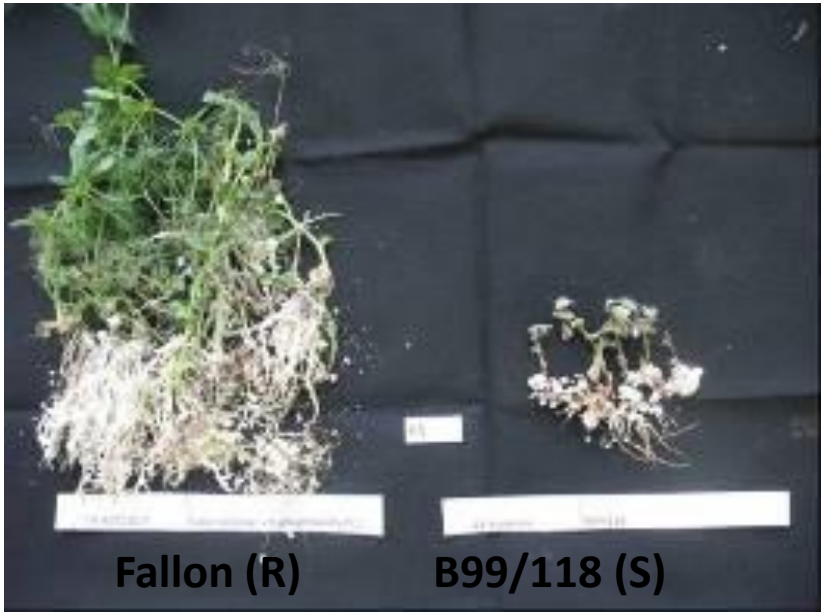


M. Bani-Master Thesis 2010

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inokulační testy- hodnocení fenotypu rekombinantních linií a vybraných položek kolekce k infekci *Fusarium solani* v kontrolovaných laboratorních testech

		Genotyp	DI (FS)	kontrola
1		Terno	2,27	0
2		Prophet	3,31	0
3		Slovan	2,00	0
4		Sully	2,40	0
5		Starter	1,92	0
6		Velvet	2,58	0
7		Atlas	2,66	0
8		Audit	1,95	0
9		Avantgarde(LAN 4180)	3,04	0
10		Salamanca	2,95	0
11	kontrola	Fallon	1,82	0
12	kontrola	B99/118	3,50	0
13		Gambit	2,67	0
14		SG-L 4794	2,44	0
15		SG-L 5190	2,64	0
16		LN 4206	2,03	0
17		LN 1109	2,10	0
18	AGT210/2	Terno x Starling	2,08	0
19	AGT210/3	GA93P127 x SCHW978935	2,44	0
20	AGT210/4	Kamelot x Mozart	3,00	0
21	AGT210/5	Kamelot x Lifter	3,50	0
22	AGT210/6	SG-L74(06)(SG-L4753) x CDC Golde	2,28	0
23	kontrola	Fallon	2,16	0
24	kontrola	B99/118	3,63	0
25		DSP	3,67	-
26		90-2131	1,50	-
27		PI 180693	1,70	-
28		Baccara	3,50	-
29		linie 260	1,63	-
30	kontrola	Fallon	2,20	0
31	kontrola	B99-118	3,78	0

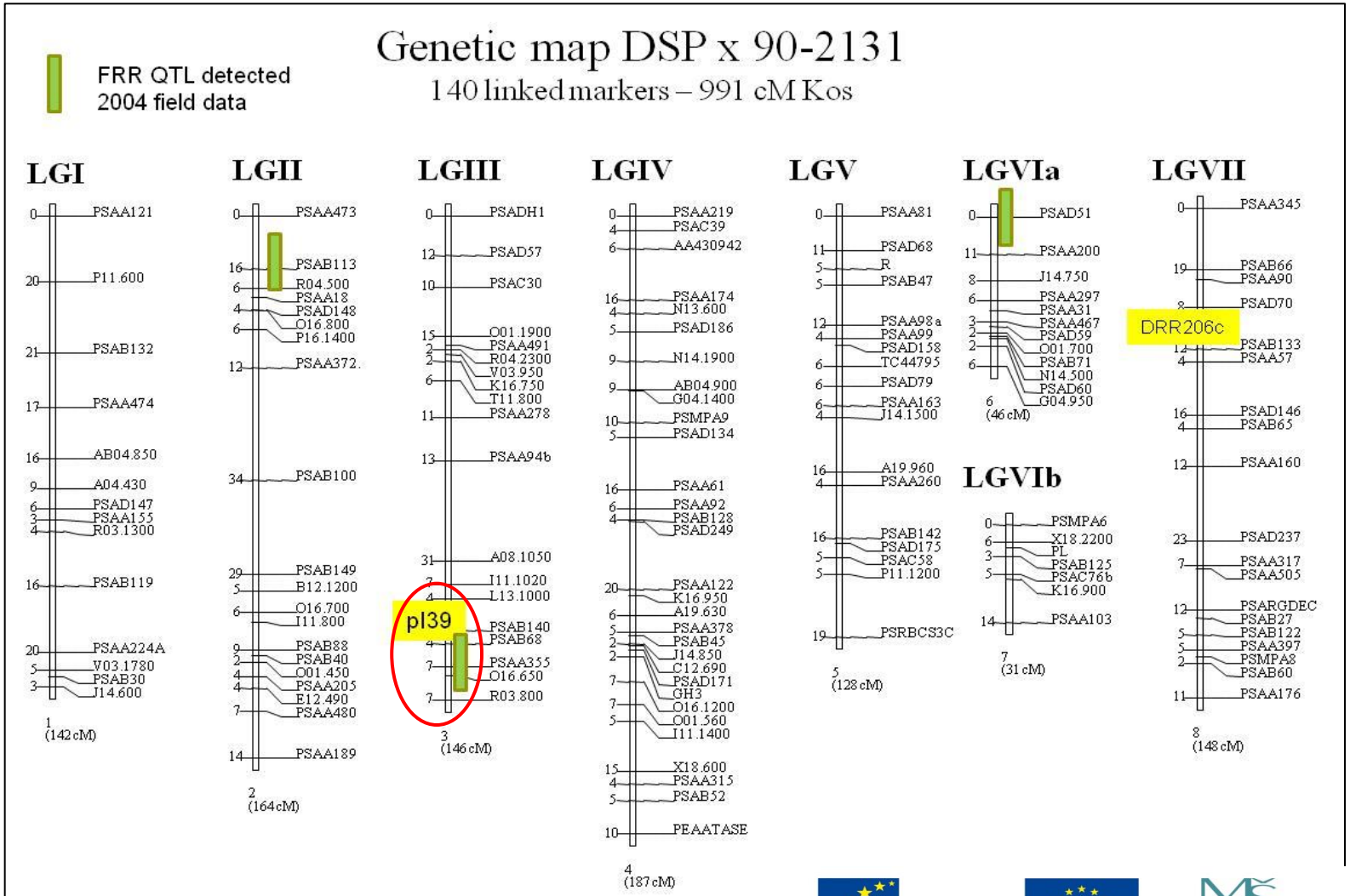


F. solani (FSVG4 isolát)

genotypy DSP a 90_2131
použité k tvorbě RIL populace

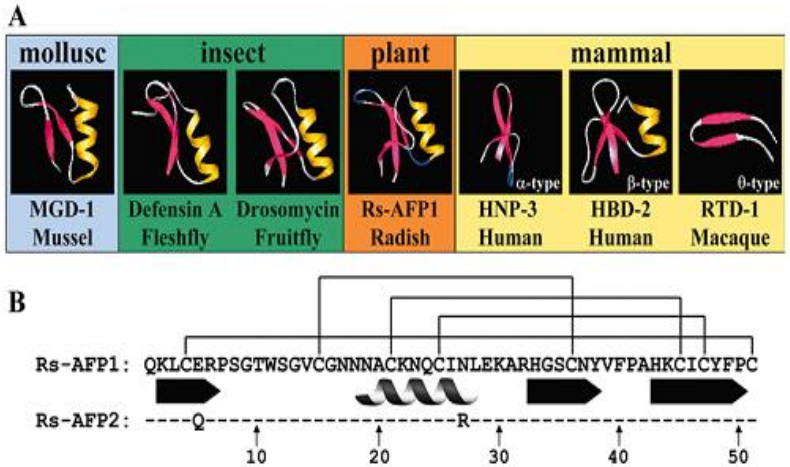
evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

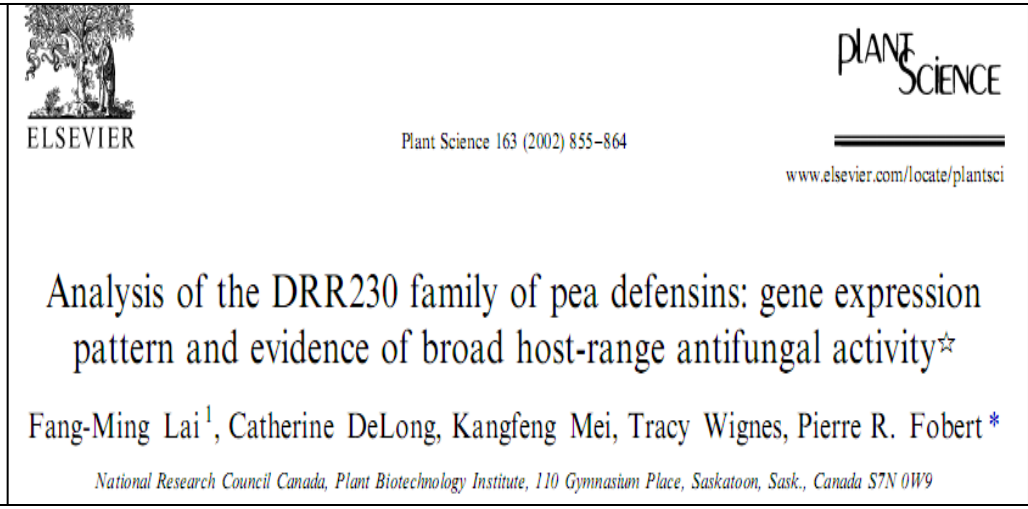
Lokalizace pI39 genu na LG III



Remaining gaps on LGI (bottom) and LGVI /Loridon et al. 2005
Unsufficient covering in the middle of LGII and LGIII

Lokalizace pI39 na LG III vazebnou skupinu do místa FRR2 QTL lokusu a potvrzení tohoto kandidátního genu





ELSEVIER

Plant Science 163 (2002) 855–864

PLANT SCIENCE

www.elsevier.com/locate/plantsci

Analysis of the DRR230 family of pea defensins: gene expression pattern and evidence of broad host-range antifungal activity☆

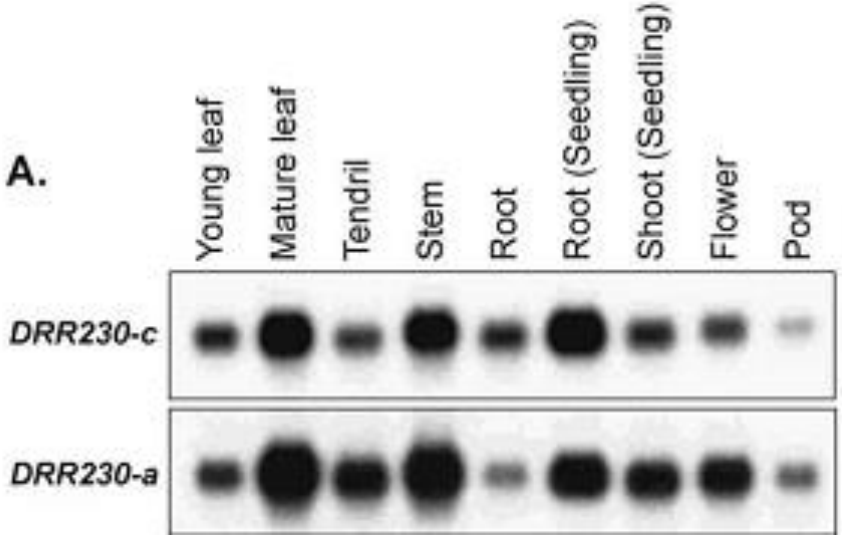
Fang-Ming Lai[1], Catherine DeLong, Kangfeng Mei, Tracy Wignes, Pierre R. Fobert *

National Research Council Canada, Plant Biotechnology Institute, 110 Gymnasium Place, Saskatoon, Sask., Canada S7N 0W9

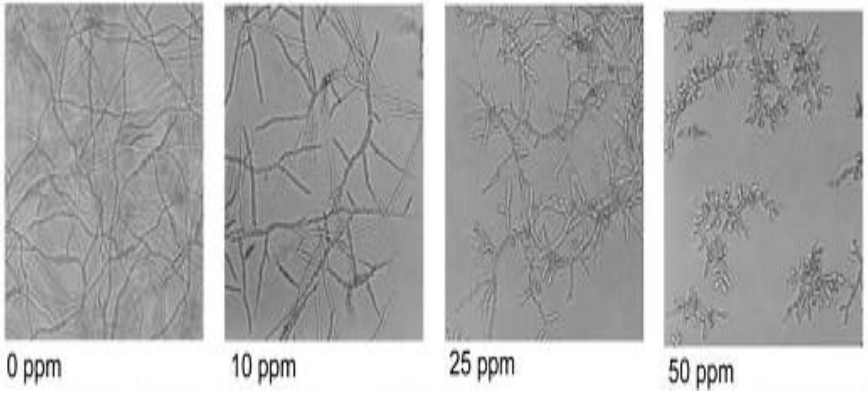
Jedná se o malou genovou rodinu defensinů (Chiang and Hadwiger 1991, Lai et al. 2002), s expresí indukovanou po infekci houbovým (*Ascochyta pinodes*) i bakteriálním patogenem (*Pseudomonas syringae*) a především pak cílovým organismem tohoto projektu *Fusarium solani* (Chiang and Hadwiger 199

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Exprese pI39/DRR230 genů

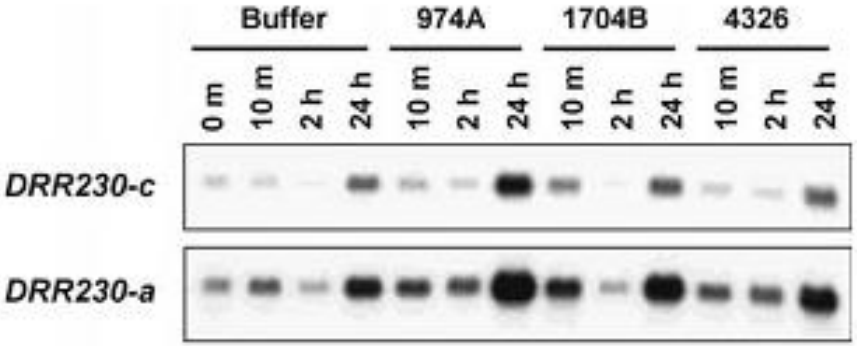


Homologní Medicago Mt defensin 2.1 inhibuje růst Fusarium sp.

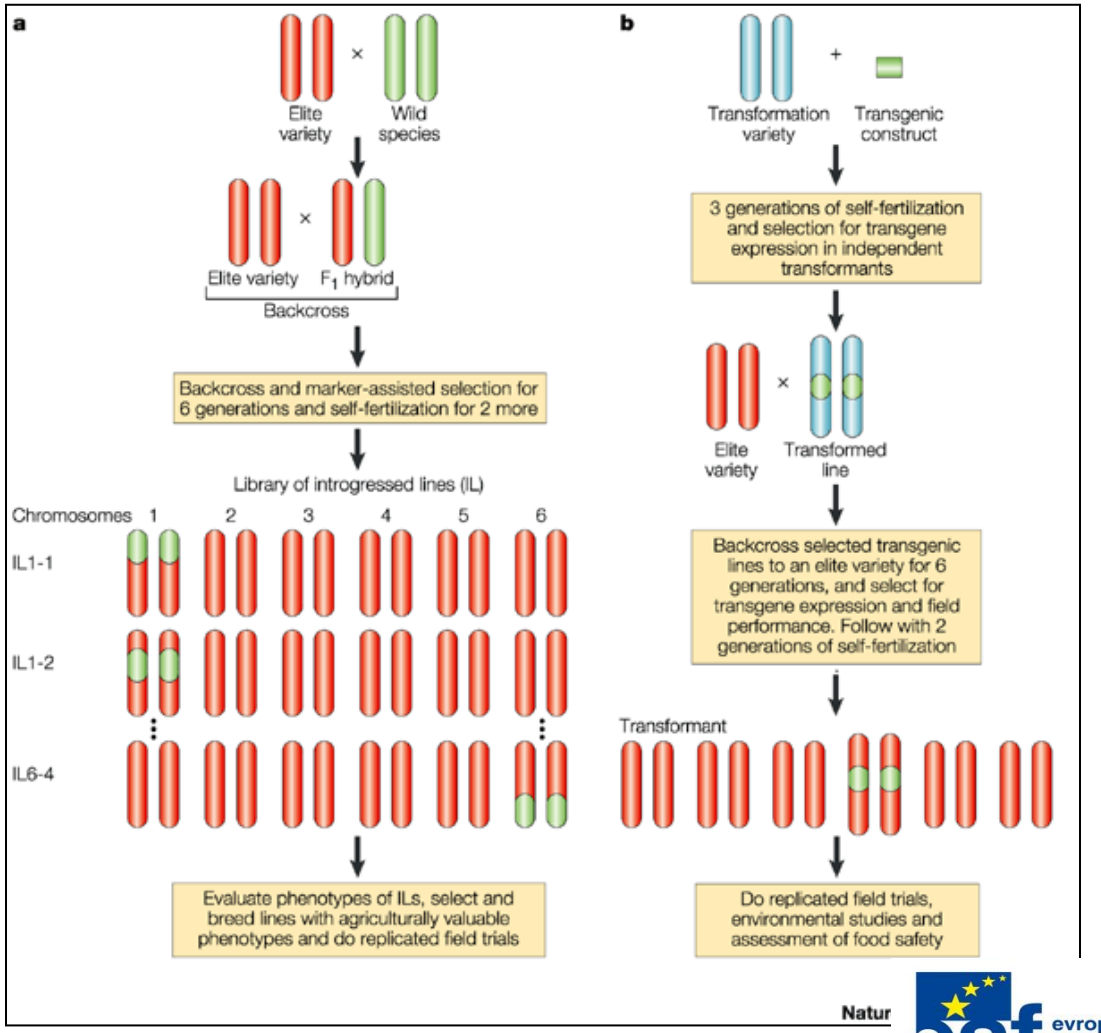


F.-M. Lai et al. / Plant Science 163 (2002) 855–864

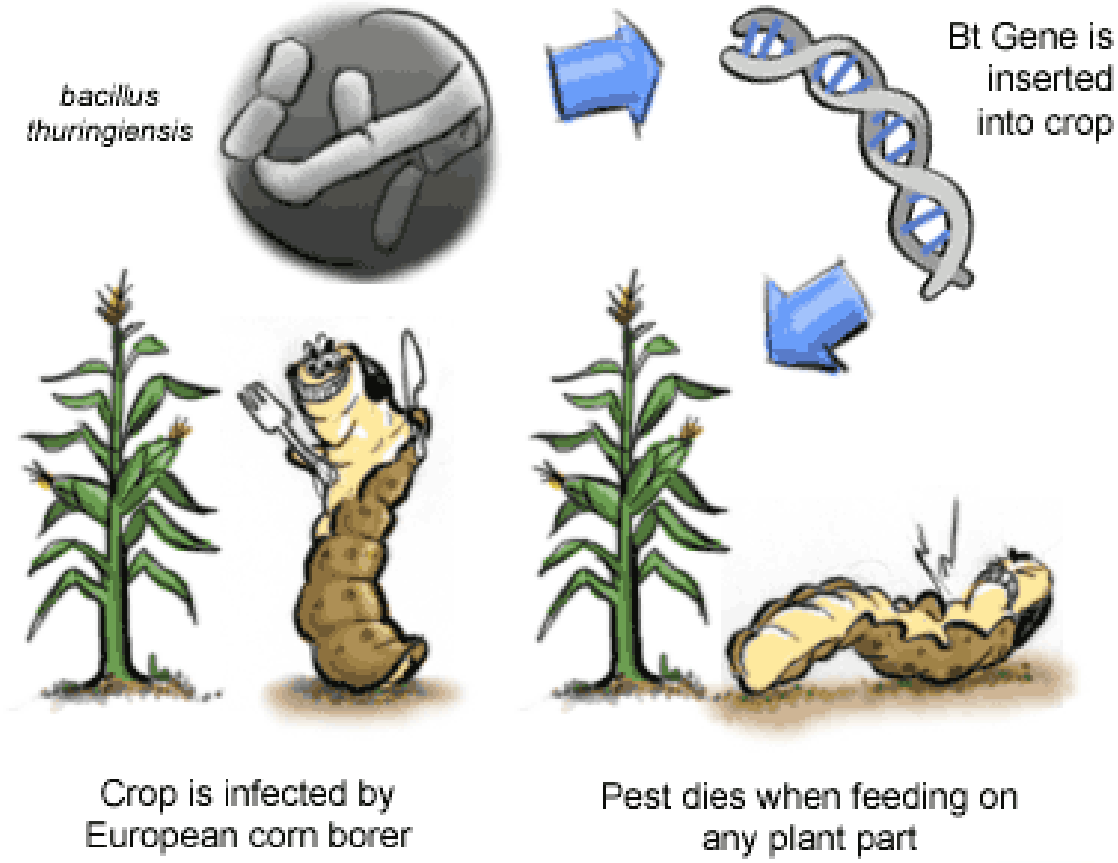
Exprese pI39/DRR230 genů po infekci F. solani



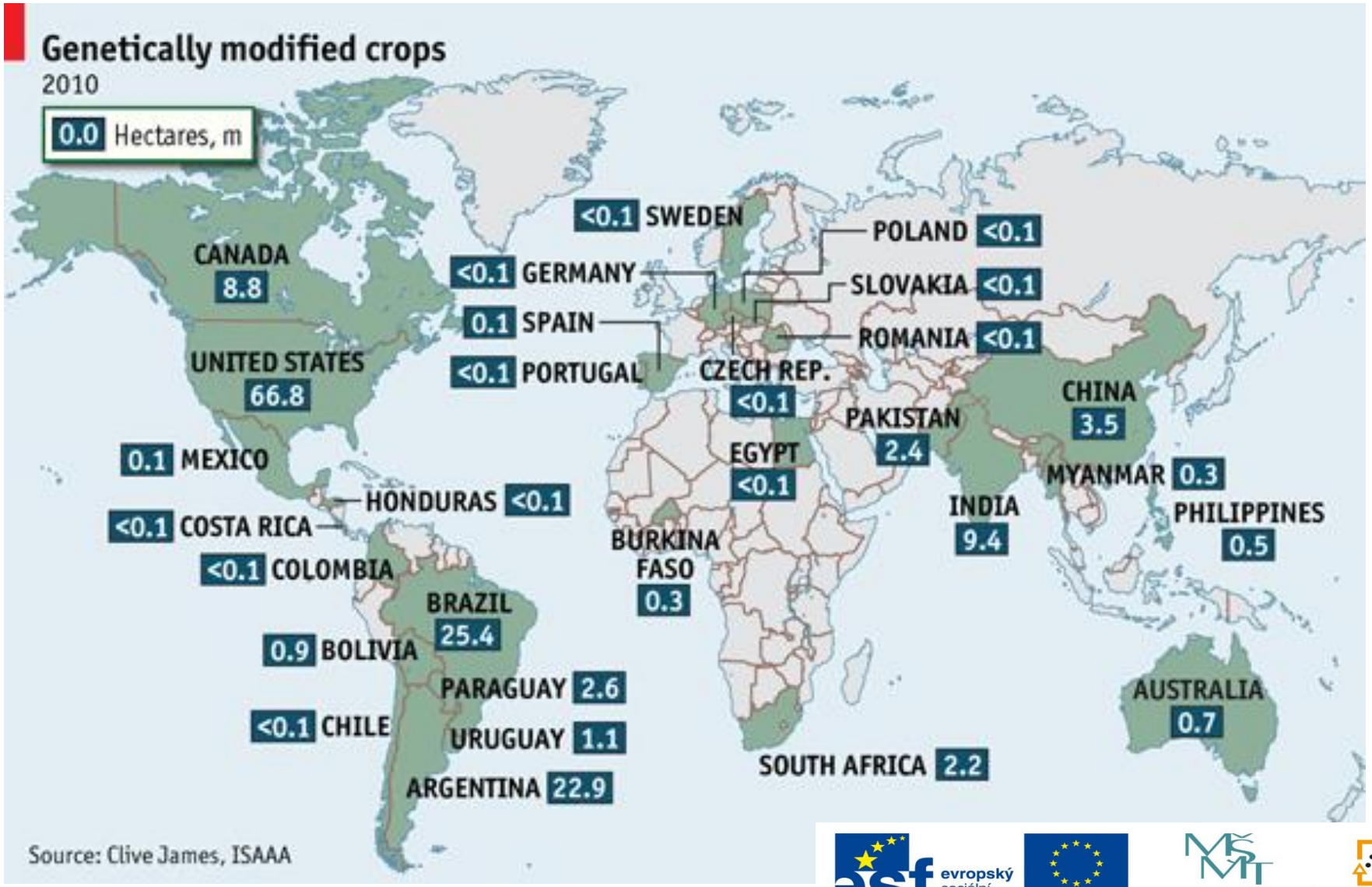
Získání rezistentních plodin introgrese a transgenose



Transgenose (GMO)
mezi vědou, etikou a politikou



Pěstování GMO rostlin



Pěstování GMO rostlin

Sója	69 miliónů hektarů	79%
Bavlník	25 miliónů hektarů	49%
Kukuřice	55 miliónů hektarů	31%
Řepka	7 miliónů hektarů	25%




1959 *Agrobacterium* tvorba nádoru

1973 první GMO organismus *E.coli*

1976 Ti plasmid (Mary-Dell Chilton)

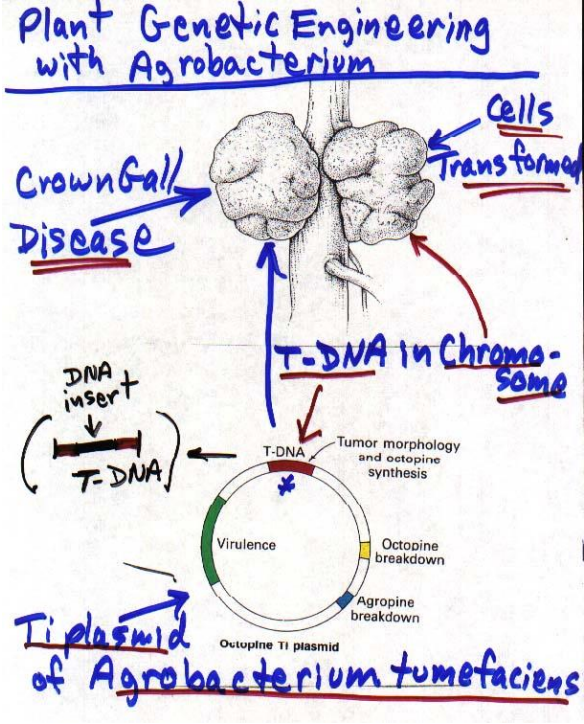
1980 Ti plasmid jako vektor cizorodé DNA

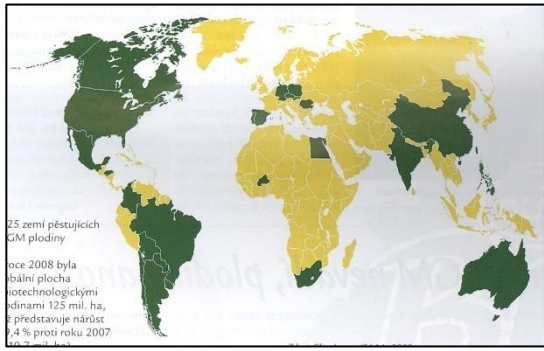
1983 první GMO rostlina s využitím T-DNA

1986 transgenní *Bt* tabák (Plant Genetic Systems, Belgie)

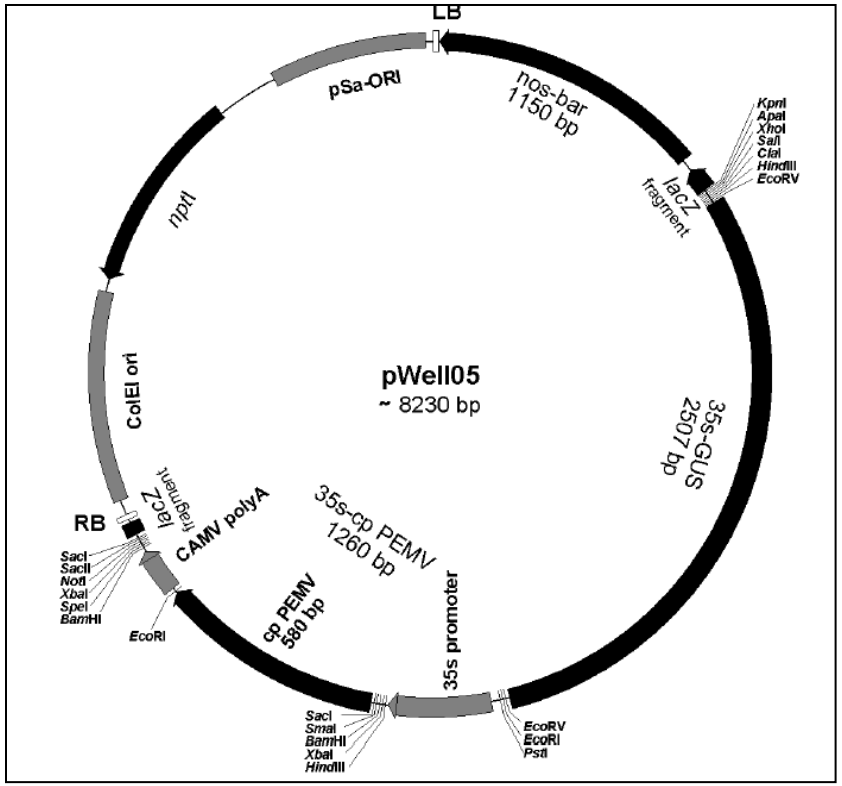
1994 FlavrSavr rajče (USA)

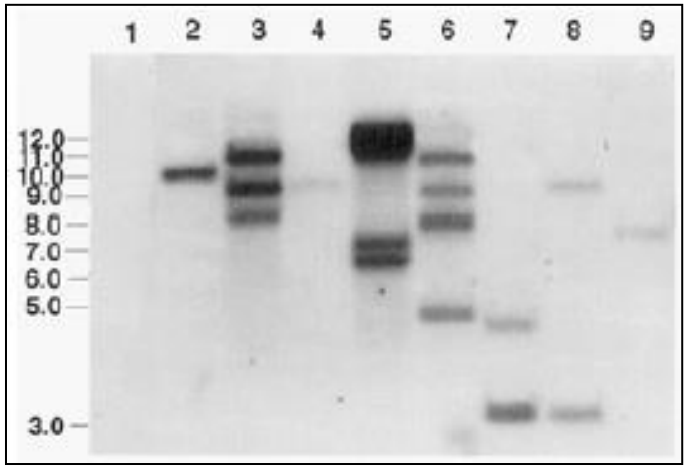
2009 11 transgeních plodin pěstováno na 150 miliónech hektarů ve 25 zemích





T-DNA transgenose





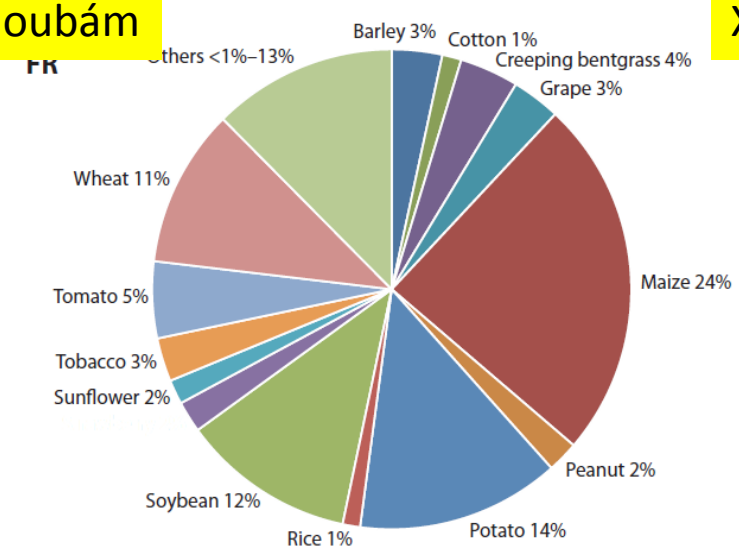
T-DNA

- selekční marker - NPTII/BAR
- reporterový gen - GUS/GFP
- užitný gen
- promotory

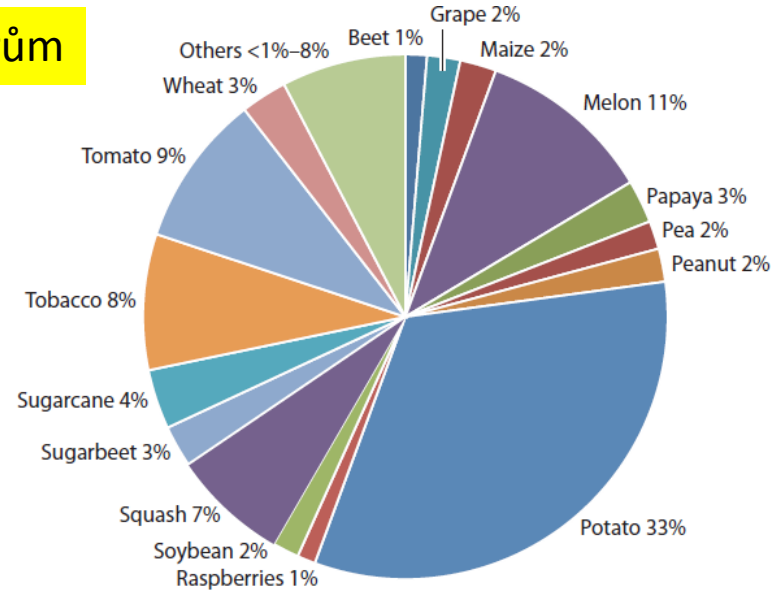
Biolistická metoda transformace

Počet testovaných transgenních rostlin v USA (1987 – 2009)

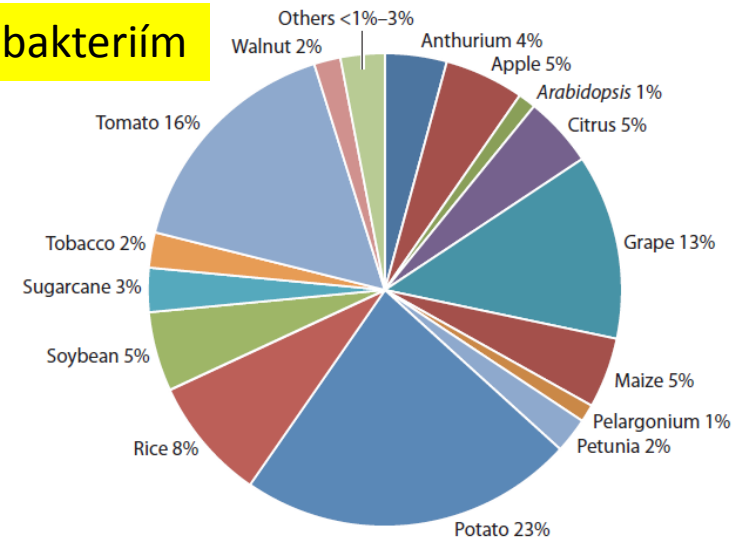
X houbám



X virům



X bakteriím



Distribution of transgenic crops with fungal (FR), viral (VR), and bacteria (BR) disease resistance in the U.S. field trials application from 1987 to 2009. In total, there have been 15,850 field test release applications for transgenic crops in the United States. Out of these, 2003 occurrences deal with disease resistance: 853 for fungal, 983 for virus, and 167 for bacterial resistance.

Fungus resistant GM plants

Genetic engineering enables new ways of managing fungal infections. Several approaches have been taken:

- Introducing genes from other plants or bacteria encoding enzymes like chitinase or glucanase: These enzymes break down chitin or glucan, respectively, which are essential components of fungal cell walls.

- Introducing plant genes to enhance innate plant defense mechanisms (e.g. activing phytoalexins, proteinase inhibitors, or toxic proteins).

- Invoking the hypersensitive reaction: Plants varieties that are naturally resistant to specific types of fungal diseases are often programmed to have individual cells quickly die at the site of fungal infection. This response, known as the hypersensitive reaction, effectively stops an infection in its tracks. Genetic engineering can help plant cells 'know' when a fungus is attacking.

No commercial cultivars available today use these approaches.

Virus resistant GM plants

In some cases, biotechnology can be used to make virus resistant crops. The most common way of doing this is by giving a plant a viral gene encoding the virus' 'coat protein'. The plant can then produce this viral protein before the virus infects the plant. If the virus arrives, it is not able to reproduce.

The explanation for this is called co-suppression. The plant has ways of knowing that the viral coat protein should not be produced, and it has ways of eventually shutting down the protein's expression. When the virus tries to infect the plant, the production of its essential coat protein is already blocked.

All genetically modified virus resistant plants on the market (e.g. papayas and squash) have coat protein mediated resistance. It may also be possible to confer resistance by taking a resistance gene naturally found in one plant and then transferring it to an important crop.

Table 1 The most common genes used for transgenic disease-resistant crops in U.S. field trials application

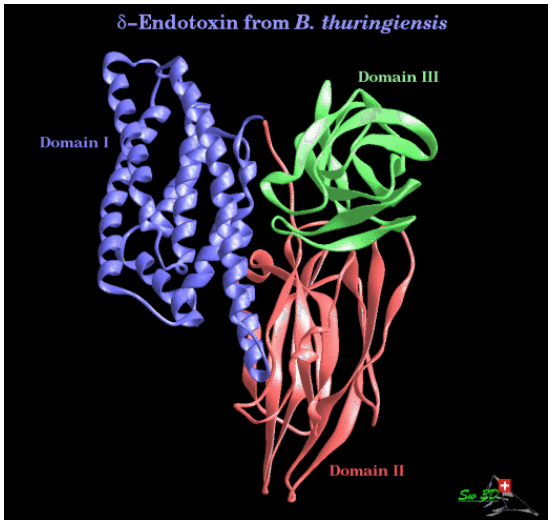
Gene/trait	Description	Donor(s)	Examples of transgenic crop
Fungal disease resistance			
Polygalacturonase inhibitor protein	Inhibitor of polygalacturonase	Bean, pear	Grape, raspberry, tomato
Protein kinase	Resistance gene	Soybean	Soybean
R-gene	Resistance gene	Barley (*Rpg1*), rice (*Pi9*), *Solanum bulbocastanum* (*RB2*), soybean (Rps1-k)	Barley, festuca, potato, soybean
Cell death regulator	Cell death regulator	Baculovirus, chicken, nematode	Wheat
Toxin detoxifier	*Fusarium* toxin detoxifier	*Fusarium sporotrichioides* (Deoxynivalenol acetyltransferase, 3-hydroxyl trichoecene acetyltransferase)	Barley, wheat
PR proteins	Pathogenesis-related proteins	Alfalfa (*PR-2*), *Arabidopsis* (*PR-2*), grape (*PR-5*), pea (*PR-2*), rice (*PR-5*), tobacco (*PR-1*)	Cotton, barley, grape, peanut, potato, rice, sweet potato, sorghum, tobacco, wheat
Chitinase	Chitin degradation	Alfalfa, barley, bean, petunia, rice, tobacco	Alfalfa, apple, carrot, cotton, melon, onion, papaya, peanut, rice, squash, tobacco, tomato, wheat
Oxalate oxidase	Reactive oxygen production	Barley, wheat	Cowpea, bean, lettuce, peanut, potato, soybean, sunflower, tobacco
Thionin	Plant defensin	Barley, tobacco	Barley, potato, rice
Antimicrobial peptide	Antimicrobial proteins	African clawed frog (*Xenopus laevis*) (magainin), cow (lactoferrin), *Gastrodia elata* (mannose-binding lectin, gastrodianin), *Ustilago maydis* (*KP4*), wheat (PGL)	Cotton, grape, plum, poplar, tobacco, wheat
Cecropin	Antimicrobial proteins	Giant silk moths (*Hyalophora cecropia*)	Cotton, maize, papaya
Stilbene synthase	Polyphenol	Grape	Potato, tobacco
Antimicrobial metabolite	Antimicrobial metabolite	Pea (lignan biosynthesis protein), tomato (coenzymeA reductase, divinyl ether synthase)	Grape, potato, strawberry, tobacco

Viral disease resistance			
G5	Single-stranded DNA binding protein	Bacteriophage M13	Cassava
Movement protein	Viral movement protein	Raspberry bushy dwarf virus, tomato mosaic virus	Raspberry, tomato
Ribonuclease	RNA degradation	Yeast (*Schizosaccharomyces pombe*)	Pea, potato, wheat
Replicase	RNA replication	Cauliflower mosaic virus, papaya ringspot virus, potato leaf roll virus, tomato yellow leaf curl virus	Cassava, papaya, potato, tomato
Nuclear inclusion protein	Nuclear located protein	Papaya rinspot virus, potato virus Y, wheat streak mosaic virus	Melon, potato, squash, wheat
Coat protein	Capsid protein	More than 30 different plant viruses	Alfalfa, barley, beet, grape, lettuce, maize, melon, papaya, pea, peanut, pepper, pineapple, plum, potato, raspberry, soybean, squash, sugarcane, tobacco, tomato, wheat
Gene/trait	**Description**	**Donor(s)**	**Examples of transgenic crop**
Bacterial disease resistance			
Attacin	Antibacterial proteins	Giant silk moths (*Hyalophora cecropia*)	Apple
Cecropin	Antimicrobial proteins	Giant silk moths (*Hyalophora cecropia*)	Apple, papaya, pear, potato, sugarcane
Hordothionin	Antimicrobial proteins	Barley	Rice, tomato
Indolicidin	Antibacterial proteins	Cow	Tobacco
Lysozyme	Antibacterial proteins	Cow, chicken	Citrus, potato, sugarcane
Magainin	Antimicrobial proteins	African clawed frog (*Xenopus laevis*)	Grape
Protein kinase	Resistance gene	Rice, tomato	Rice, tomato
R-gene	Resistance gene	Pepper, tomato, rice	Tomato
Transcription factor	Promote resistance	Rice, tomato	Tomato

Bt kukuřice (MON 810) - komerční story by

MONSANTO

B. thuringiensis
objeveno v roce 1901 v Japonsku
1911 v Německu
Ernst Berliner nemoc housenek motýlů (Schlaffsucht)



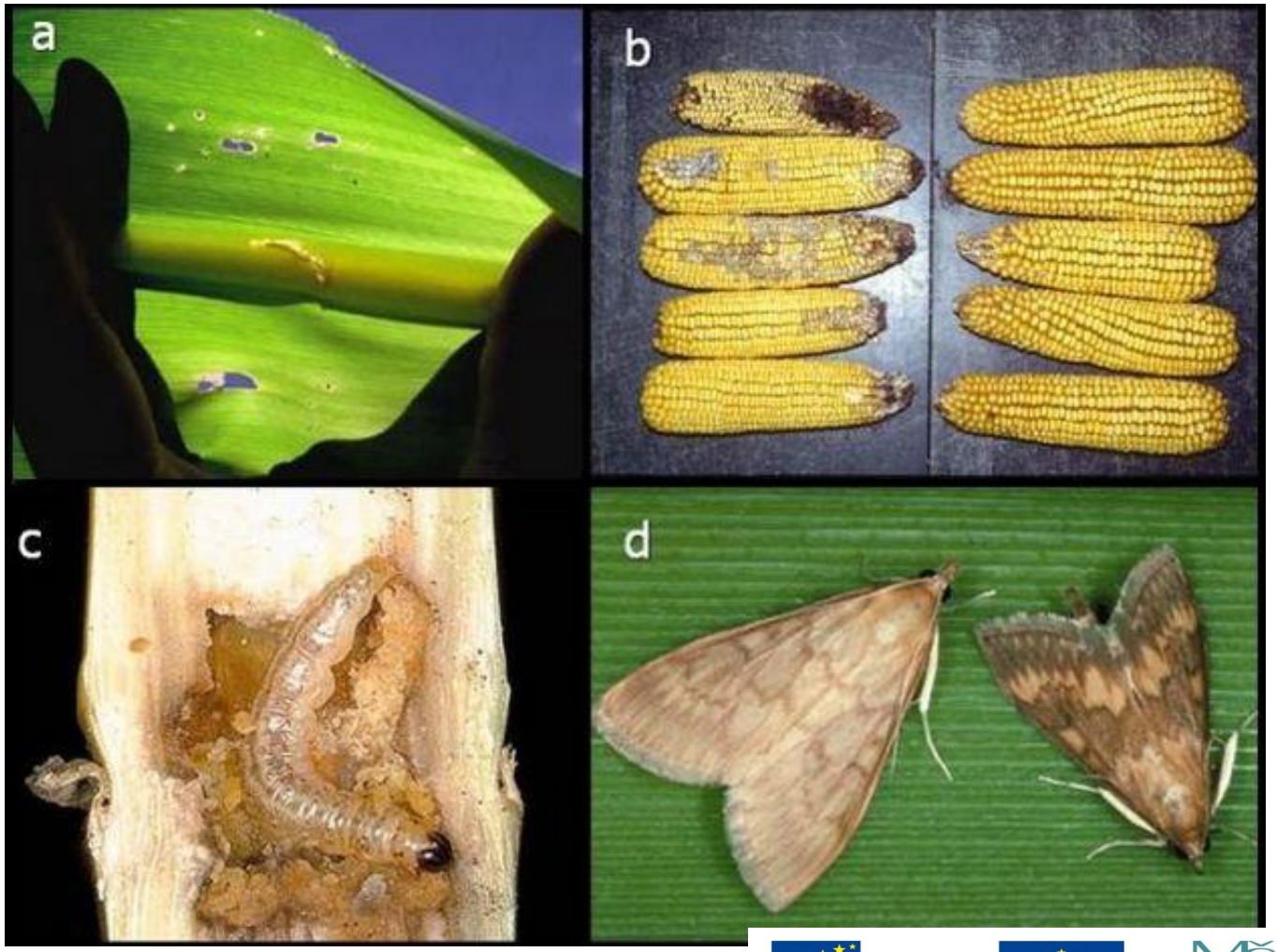
***cry* gen - protein**

StarLink ® kukuřice (Aventis crop Science) 2002

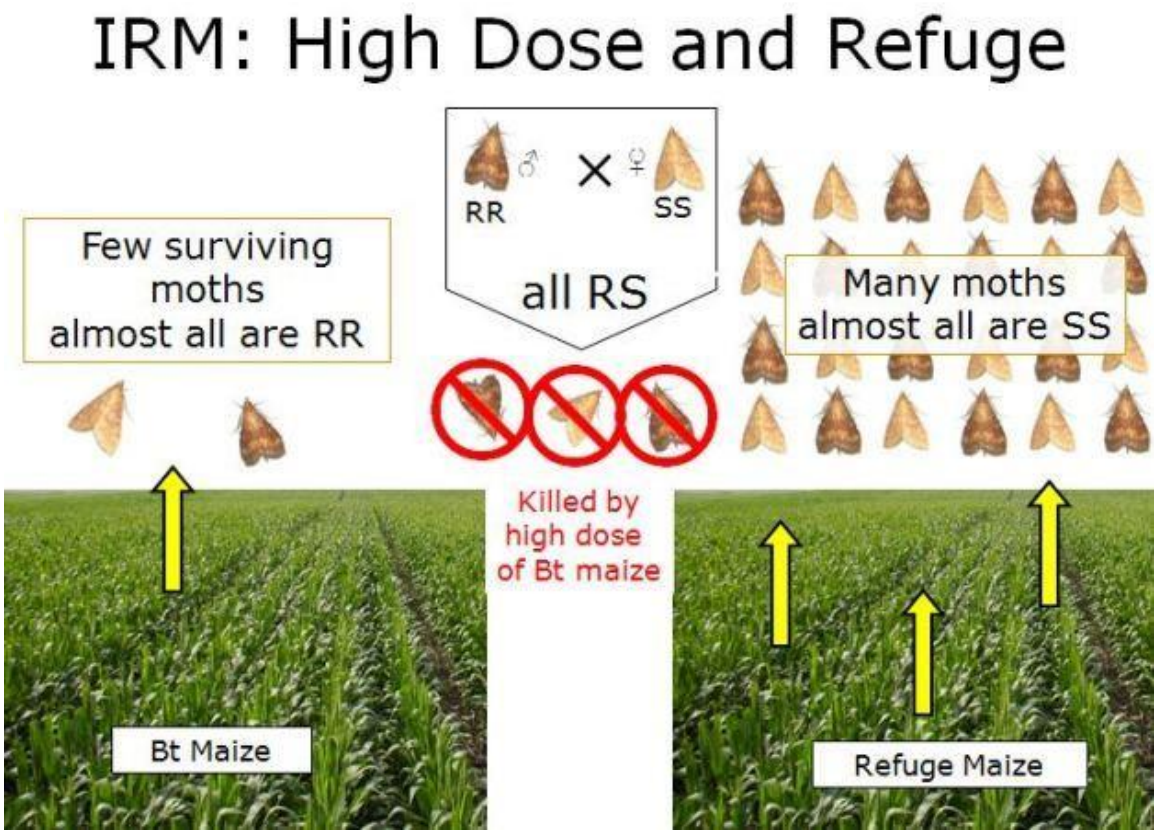
Různé varianty cry proteinu

Monsanto		
YieldGuard Corn Borer	Cry 1Ab	Leps
YieldGuard Rootworm	Cry 3Bb1	Corn rootworms
YieldGuard Plus	Cry 1Ab and Cry 3Bb1	Leps & corn rootworms
Dow / Pioneer		
Herculex I	Cry 1F	Leps
Herculex RW	Cry 34Ab1 + Cry 35 Ab1	Corn rootworms
Herculex Xtra	Cry 1F + Cry 34Ab1 + Cry 35 Ab1	Leps & corn rootworms

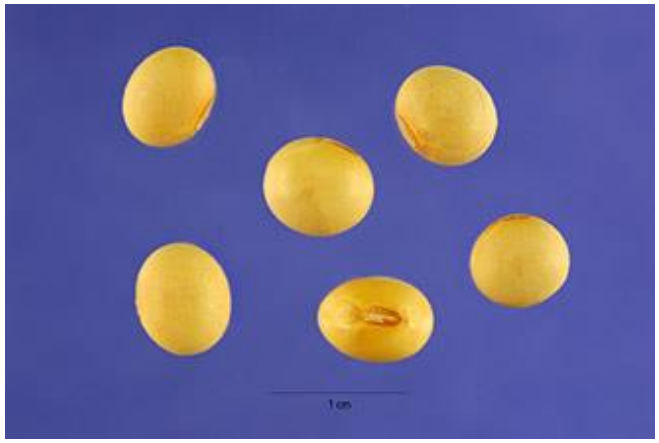
Bt kukuřice a zavíječ kukuřičný



Jak zamezit vzniku rezistence na Bt toxin



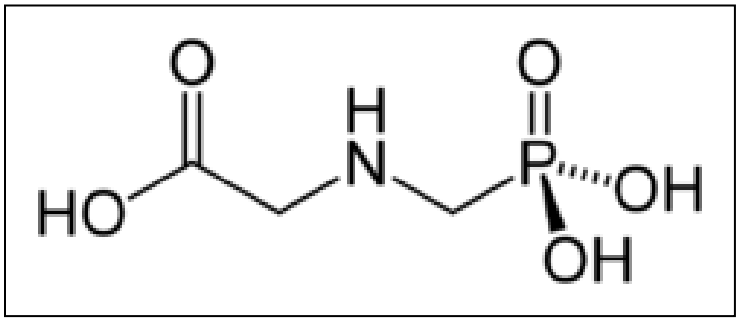
Roundup Ready ®
– glyphosate story

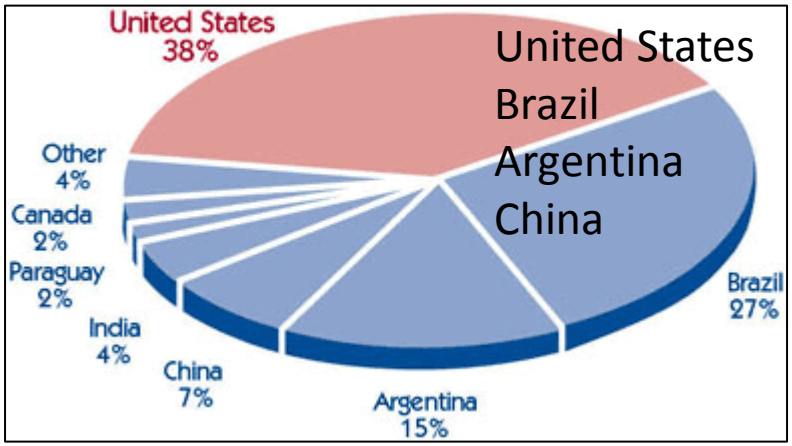


MONSANTO

Roundup Ready ®

glyphosate story by MONSANTO





United States	99
Brazil	62
Argentina	45
China	25
	mil tun

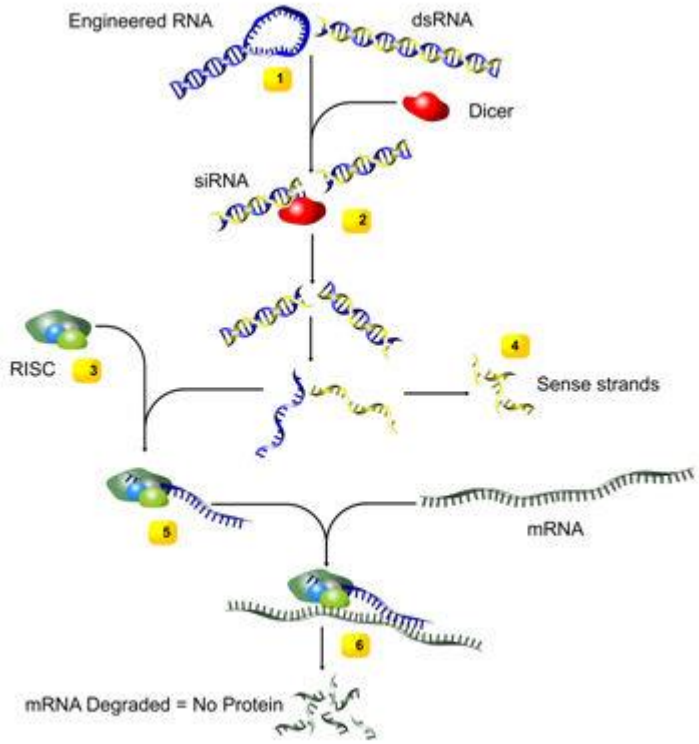
Glyphosate
inhibuje enzyme (EPSPS)
v biosyntéze aminokyselin
tyrosinu, tryptofanu a
fenylalaninu.

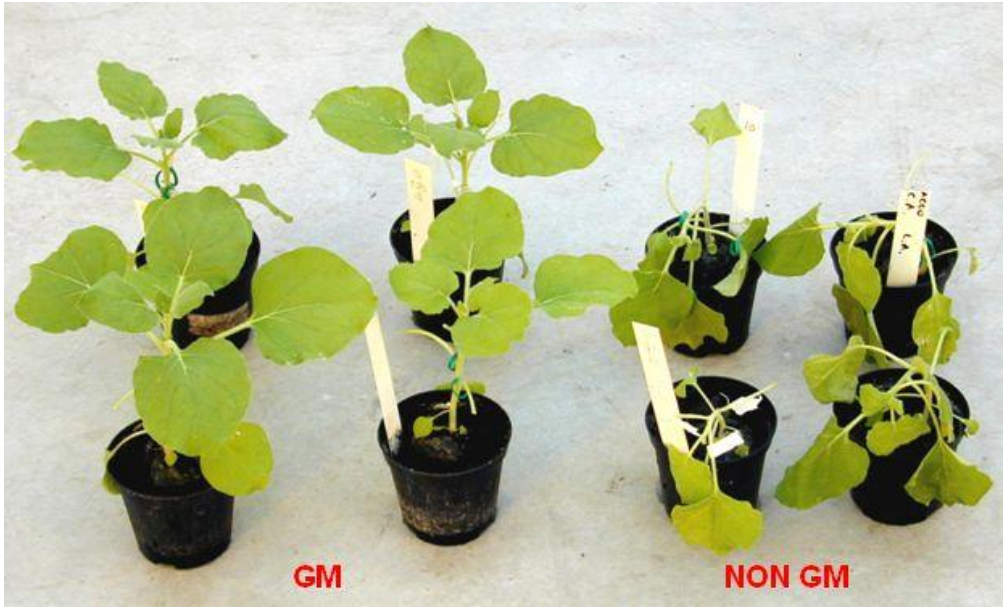
Rezistence :
EPSPS *z Bacillus licheniformis*

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

RNA silencing and virus resistence

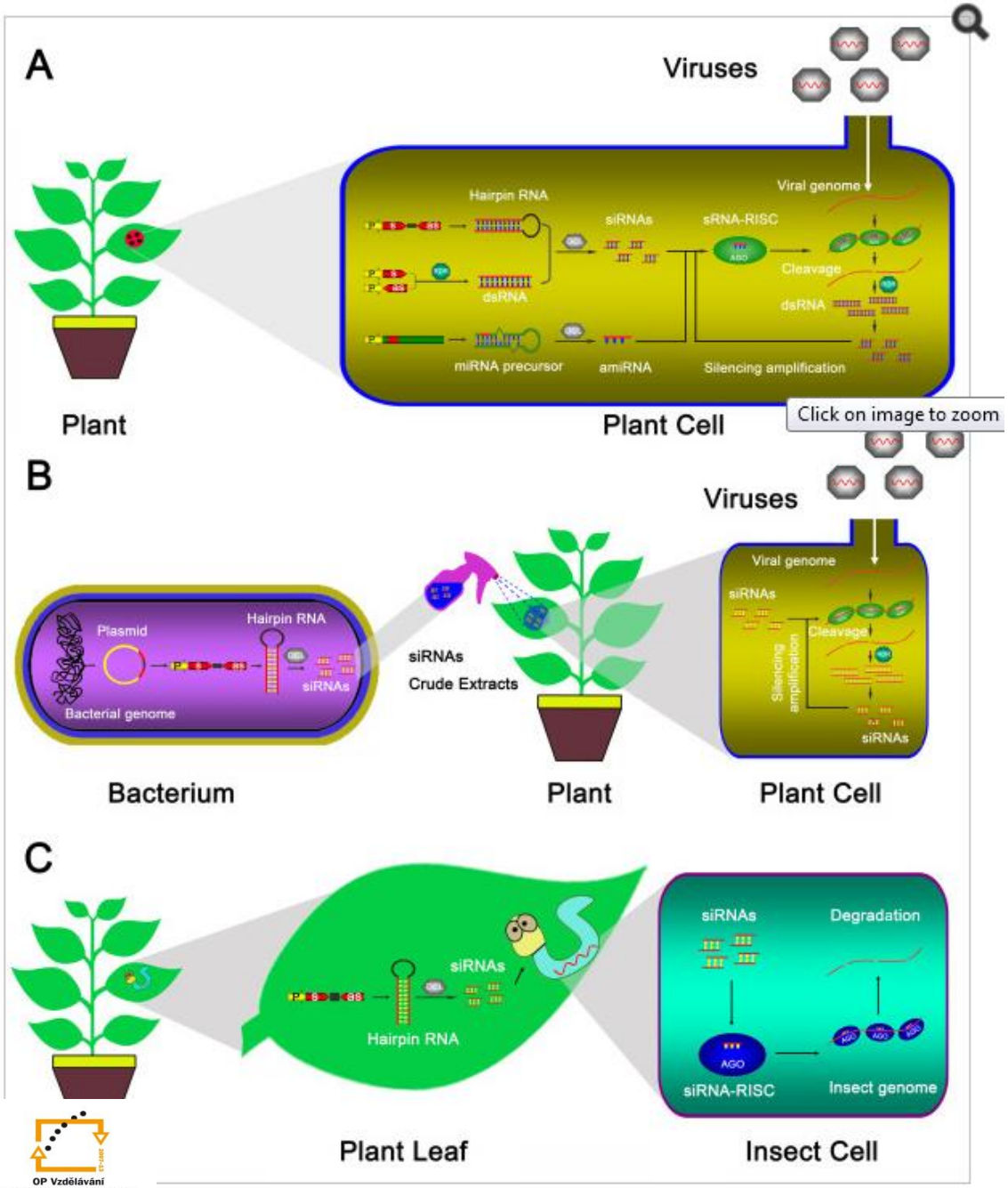
Post-trascriptional gene silencing (PTGS=RNA interference) is a mechanism of adaptative defence against viruses and mobile genetic elements ubiquitary in eukaryotes.





evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

RNA silencing and plant disease resistence



Silence. 2012; 3: 5.
doi: 10.1186/1758-907X-3-5

Rostliny GM hrachu po mechanické inokulaci virem PEMV

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Papayas papaya cultivation is being threatened by Papaya Ringspot-Virus, a disease that is sharply lowering yields.

In the late 1980s, the University of Hawaii began developing a papaya cultivar resistant to Papaya Ringspot Virus. To do this, certain **viral genes encoding capsid proteins were transferred to the papaya genome**. **These viral capsid proteins elicit something similar to an "immune response" from the papaya plant.** These new, genetically modified papaya plants are no longer susceptible to infection, allowing farmers to cultivate the fruit even when the virus is widespread.

The first virus resistant papayas were commercially grown in Hawaii in 1999. Transgenic papayas now cover about one thousand hectares, or three quarters of the total Hawaiian papaya crop.

Genetically modified papayas are approved for consumption both in the US and in Canada. Several Asian countries are currently developing transgenic papaya varieties resistant to local viral strains.

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY

Review

pubs.acs.org/JAFC

Lactoferrin-Derived Resistance against Plant Pathogens in Transgenic Plants

Dilip K. Lakshman,*,† Savithiry Natarajan,‡ Sudhamoy Mandal,§ and Amitava Mitra*,§

†Floral and Nursery Plants Research Unit and Sustainable Agricultural Systems Laboratory, ‡Soybean Genomics and Improvement Laboratory, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Beltsville, Maryland 20705, United States

§Department of Plant Pathology, University of Nebraska, Lincoln, Nebraska 68583, United States

LACTOFERRIN: A MILK PROTEIN WITH MULTIPLE ANTIMICROBIAL PEPTIDES

Lactoferrin is a protein present in milk, tears, saliva, and mucus membrane of most mammals, and it plays a major role in the immune system of newborns.[30] LF is a cationic iron-binding glycoprotein of 80 kDa belonging to the transferrin family. LF may have a role in iron absorption and/or excretion and in gastric health of newborns.[32] It has anti-inflammatory and wound-healing properties and detoxicant, antioxidant, and anticancer activities.[33,34] Another prominent property of LF is its potent activity against a wide range of microorganisms including both Gram-negative and Gram-positive bacteria, as well as fungi and viruses.[35] LF consists of two globular domains,

Figure 2. Detached leaf assay of the fourth leaf of transgenic tobacco seedlings inoculated with *R. solani*. A 5 mm mycelial disk was placed in

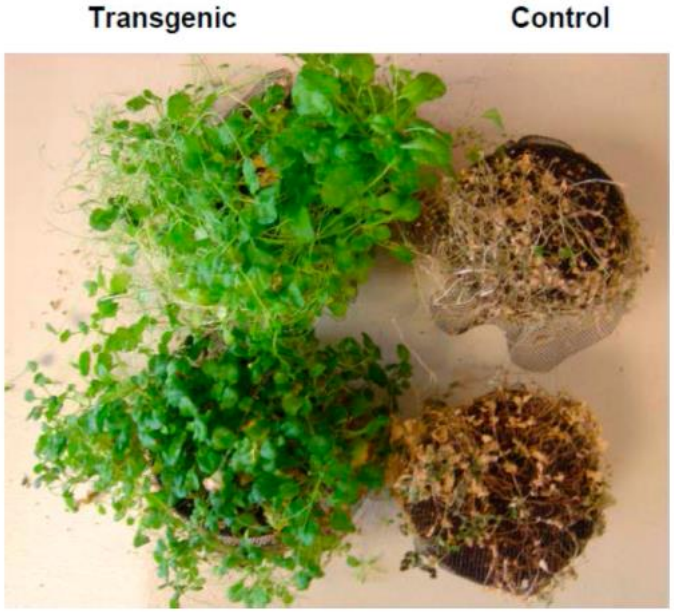


Figure 3. Seedling damping-off bioassay. Twelve-day-old seedlings of two BLF–*Arabidopsis* transgenic lines (top and bottom left) and two vector-only control *Arabidopsis* lines (top and bottom right) were inoculated with *R. solani* inoculum mixed with (0.75% w/w)

V ČR se může pěstovat pouze Bt-kukuřice typu MON810, která je odolná vůči zavíječi kukuřičnému.
Na trhu se tyto hybridy také označují zkratkou YG (z angl. yield guard – doslova „hlídač výnosů“).

Oddělování produkce

Pro pěstování Bt-kukuřice a obecně jakékoliv GM plodiny v ČR platí specifická pravidla, vyplývající z nutnosti označovat v EU produkci GM plodin jako GMO, a tedy i oddělovat od produkce klasické, případně s označením Bio.
V ČR vznikla pro tento účel tzv. pravidla koexistence, tedy pravidla pro souběžnou existenci GM plodin s jinými typy zemědělské produkce (klasická, ekologická). Tato pravidla jsou obsažena zejména v zákoně č. 252/1997 Sb., o zemědělství, v platném znění (pěstování GM plodin v novelách č. 441/2005 Sb. a č. 291/2009 Sb.). V návaznosti na zákon o zemědělství je aktualizována i prováděcí vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy (naposledy vyhláškou č. 58/2010 Sb.). Prováděcí vyhláška specifikuje konkrétní pravidla koexistence pro pěstování GM kukuřice, GM brambor a GM sóji v ČR.

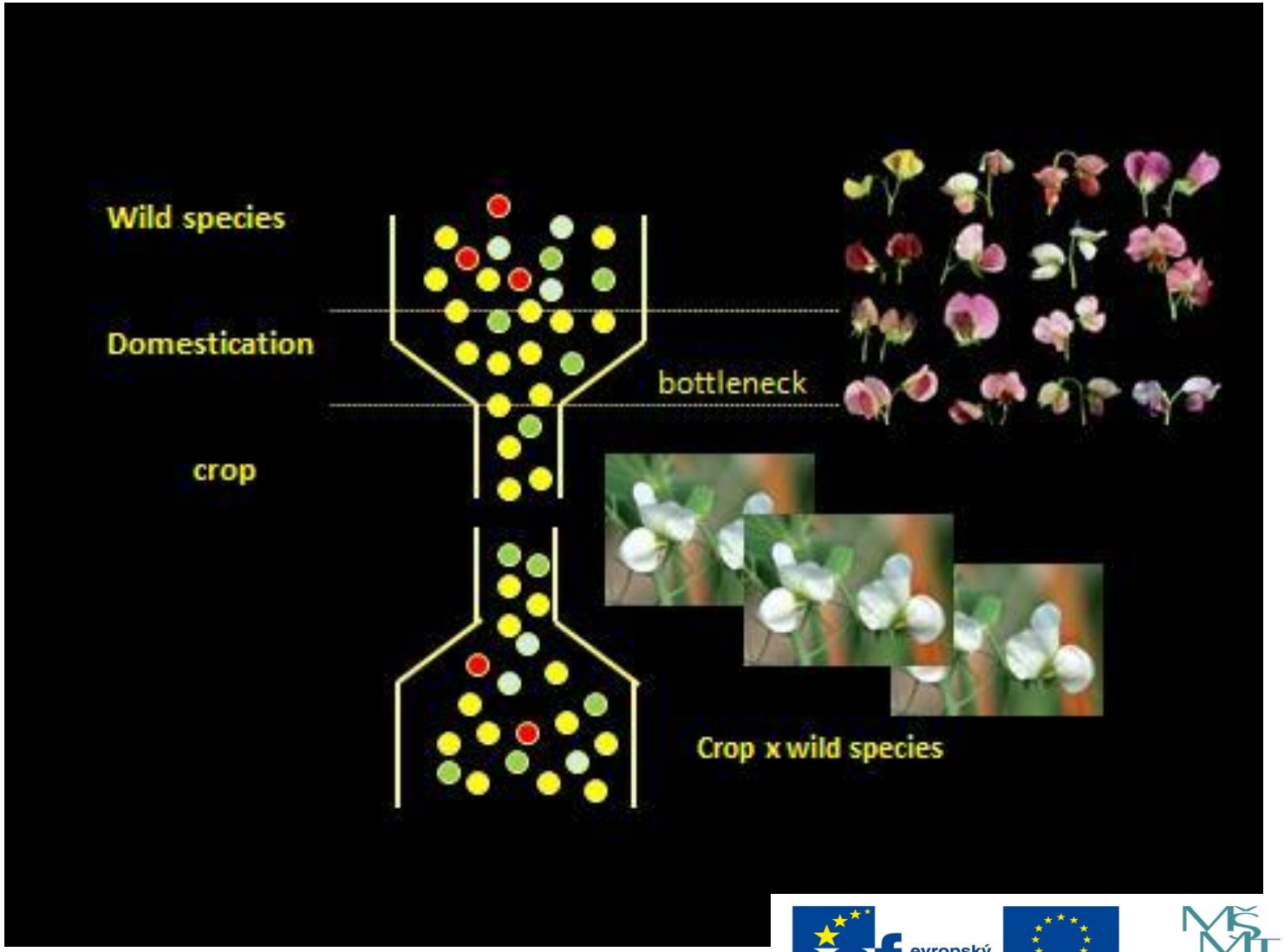
Pěstitelé spatřují výhody zejména v samotné technologii pěstování Bt-hybridů – od jednoduchosti a spolehlivosti ochrany proti zavíječi, přes snížení vstupu do porostů až po výsledný efekt při sklizni (nepolámané, nepolehlé rostliny).
Lze také konstatovat, že při pěstování Bt-kukuřice pěstitelé v průměru dosahují vyšších výnosů než při pěstování konvenčních hybridů a sklizený produkt je kvalitnější vzhledem k nižšímu zaplísnění houbami rodu Fusarium.
K základním poznatkům dále patří, že Bt-kukuřice je nejen **ekonomickým přínosem** pro pěstitele, ale přináší i **pozitivní aspekty pro životní prostředí** (alternativa k použití pesticidů proti zavíječi a snížená potřeba mechanizace).
Co se týká často diskutovaných vedlejších negativních vlivů na životní prostředí (například ovlivnění necílových, užitečných organismů, případně jiné negativní změny lokální fauny a flóry), nebyly ze strany pěstitelů zaznamenány.

Na druhé straně, pěstování Bt--kukuřice s sebou přináší určité nevýhody, kdy výrazně převládá nespokojenost pěstitelů s legislativně-administrativním pozadím, které k pěstování, a obecně k jakémukoliv užívání GMO v EU, neodmyslitelně patří. Z ekonomického pohledu pěstitelé identifikují vícenáklady na vstupech produkce (dražší osivo Bt-hybridů) i problémy na výstupu produkce, kdy stále přetrvávají obavy a neochota odběratelů kukuřičného zrna i produktů zvířat, která byla krmena Bt-kukuřicí. Tyto problémy souvisejí obecně s negativním vnímáním GMO v EU.

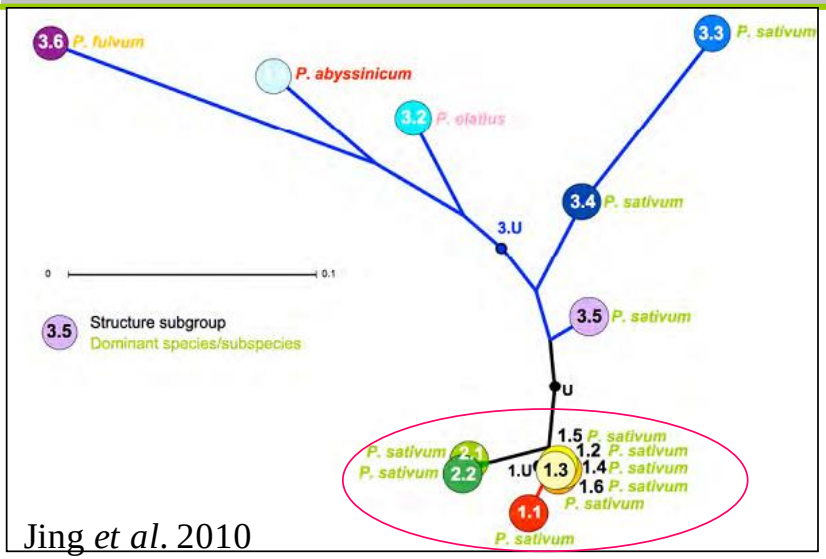
e-AGRI (www.eagri.cz, položka „Zemědělství“, položka „GMO – Geneticky modifikované organismy“).

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

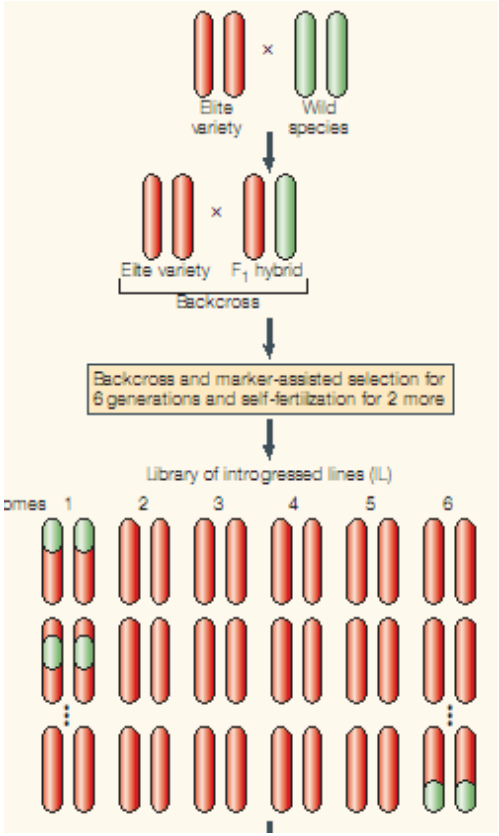
Domestication bottleneck and how to broaden diversity



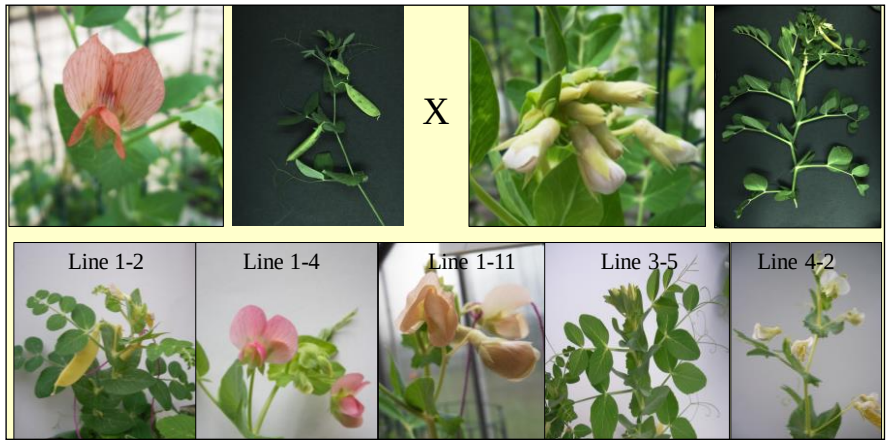
Introgression – exploration of wild crop relatives



Jing *et al*. 2010



P. fulvum WL2140 *P. sativum WL1238*



Introgression – exploration of wild crop relatives

CSIRO PUBLISHING
www.publish.csiro.au/journals/ajar
Australian Journal of Agricultural Research, 2008, **59**, 854–862

Genetic analysis of pod and seed resistance to pea weevil in a *Pisum sativum* × *P. fulvum* interspecific cross

O. M. Byrne[A,C,D], *D. C. Hardie*[B], *T. N. Khan*[B], *J. Speijers*[B], *and G. Yan*[A]

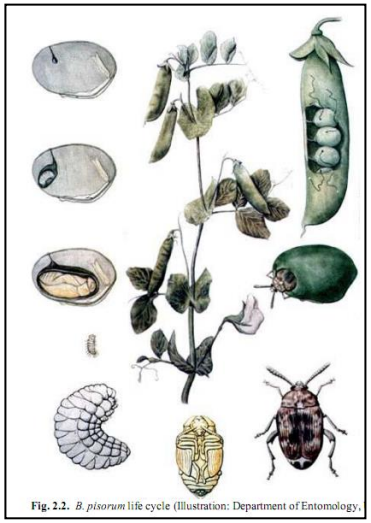


Fig. 2.2. *B. pisorum* life cycle (Illustration: Department of Entomology.

Breeding Science 57 : 181–184 (2007)

Note

Identification of a New Gene for Resistance to Powdery Mildew in *Pisum fulvum*, a Wild Relative of Pea

Sara Fondevilla*[1,2], Ana María Torres[1], María Teresa Moreno[1] and Diego Rubiales[2]

„Propojení výuky oborů Molekulární a buněčné biologie a Ochrany a tvorby životního prostředí “

Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

evropský sociální fond v ČR
EVROPSKÁ UNIE
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY
OP Vzdělávání pro konkurenceschopnost
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ