

# Genetika a šlechtění rostlin



**Petr Smýkal**

Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta,  
Univerzita Palackého v Olomouci



# Osnova přednášky:

- **Domestikace rostlin**
- **Genetická diverzita**
- **Klasické šlechtění – definice odrůdy, postupy**
- **Hybridní odrůdy – cytoplasmatická sterilita – dihaploidie**
- **Biotechnologické metody – polyploidie, *in vitro* kultury**
- **XXI. století – věk genomiky**
- **Genomika-šlechtění**
- **Transgenose (GMO)**





Wild relatives are shaped by the environment



Primitive cultivated crops are shaped by local climate and humans



Traditional cultivated crops (landraces) are shaped by climate and humans

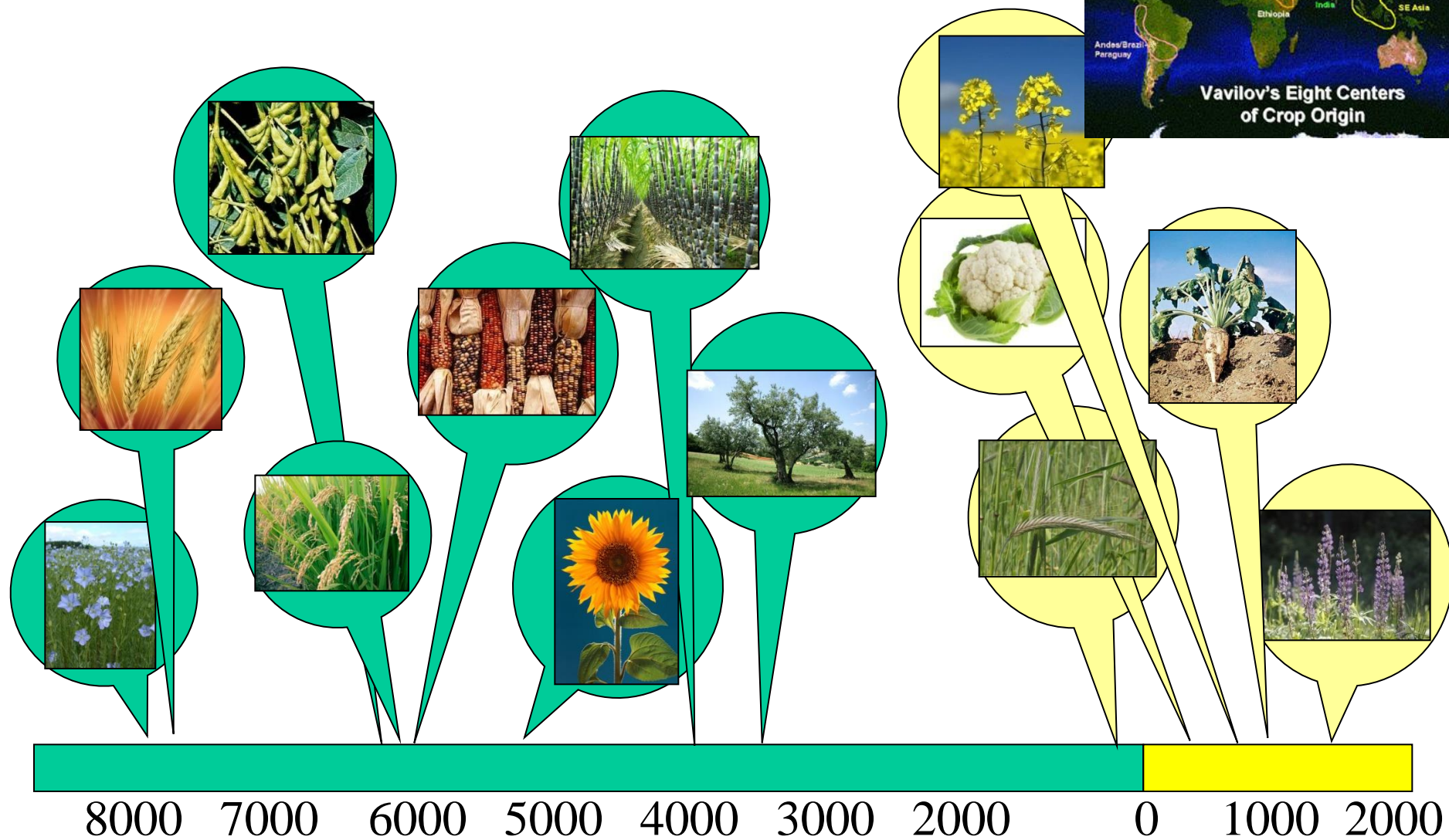


Modern cultivated crops are mostly shaped by humans (plant breeders)



Perhaps future crops are shaped in the molecular laboratory...?

# Domestikace v čase a prostoru



# Hlavní oblasti původu a domestikace rostlin



**4. Čína:** 4000 př.Kr. – sója, rýže, čirok

Čína, Japonsko, Korea

**5. Jihových. Asie:** třtina cukrová, rýže, banánovník, citrus, čajovník

**6. Afrika:** 2000 př. Kr. – vodní meloun, čirok, skočec, kávovník

Vých. Súdán, Etiopie



**7. Severní Amerika:** 5000 př. Kr. – fazol, tykev, slunečnice, jahodník

Mexiko, J. USA



**8. Střední Amerika:** 6000 př. Kr. – kukuřice, tykev, fazol, rajče, avokádo

Mexiko, J. Panama

**9. Andské oblasti Jižní Ameriky:** 2500 př. Kr. – brambor, batáty, podzemnice olejná, fazol

Kolumbie, Peru Ekvádor, Bolívie



**10. Jižní Amerika:** podzemnice olejná, ananas, kakaovník, bavlník, tabák, paprika

Brazílie. Paraguay. Chile

● **1. Blízký východ:** 7000 př.Kr. – pšenice, ječmen, hrách, čočka

● Irán, Irák, Sýrie

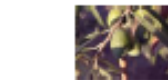
● **2. Střední východ a centrální Asie:** 4000 př.Kr. – réva vinná, oliva, pohanka, vojtěška, konopí

● Afg., Pak., Uzbekistán



● **3. Indie:** 3000 př. Kr. – palma datlová, mango, čajovník, lilek

● Indie + Indomalaisie

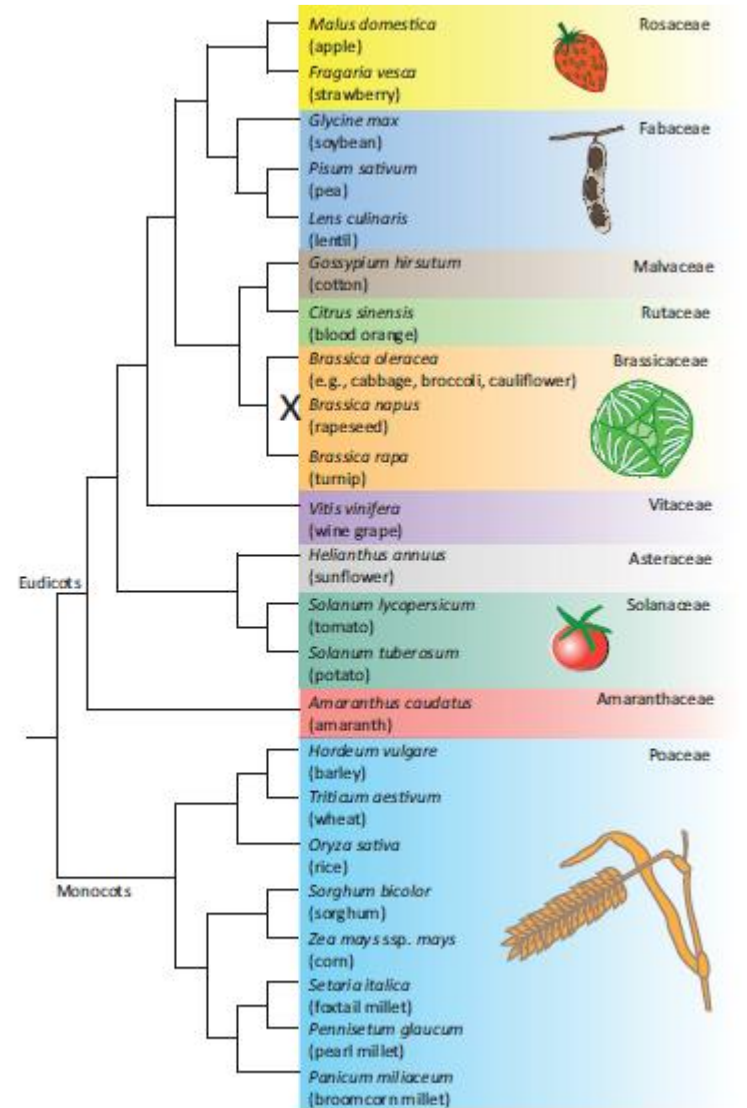


# Number of domesticated plant species

There are approximately **250 000** plant species, of which **50 000** are edible **5 000** have economic interest but only **250** are food crops (Sanchez-Monge, 2002)

In fact, 90 percent of the calories in the human diet come from just **15** crops

and 60 percent from just wheat, rice and maize.



TRENDS in Plant Science

# TOP TEN crops feeding the world today

## 1.) corn

1,018,111,958 tons, yield 5.5 t/ha

## 2.) wheat

715,909,258 tons, 3.2 t/ha, largest area

## 3.) rice

740,902,532 tons, 4.5 t/ha

## 4.) potatoes

376,452,524 tons, 17.2 t/ha

## 5.) manihot/cassava

276,762,059 tons, 12.5 t/ha

## 6.) soyabean

276,032,362 tons, 2.5 t/ha

## 7.) batatas

110,128,298 tons, 13.5 t/ha

## 8.) sorghum, pearl millet

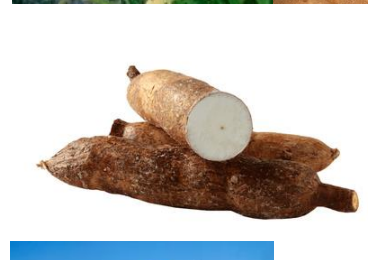
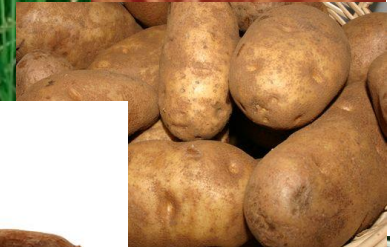
92,159,284 tons, 1.5 t/ha

## 9.) yam

51,728,233 tons, 10.5 t/ha

## 10.) banana / plantain

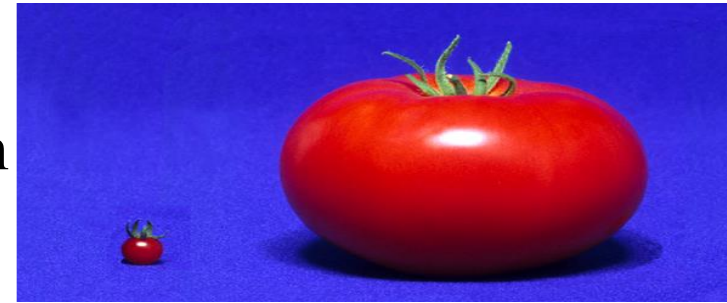
34,343,343 tons, 6.3 t/ha



FAOSTAT 2013

# Domestikace rostlin selekce vhodných fenotypů (genotypů)

- větší orgány - semena, hlízy - výnos
- rozpadavost klasu, lusku – šíření semen
- dormance semen
- odnožování - dominance
- popínavost - keřovitost
- partenokarpie
- pohlaví květu – hermafroditnost
- samosprašnost – homozygotnost
- ploidie (2n, 4n, 6n....)
- fotoperiodismus – doba kvetení, zrání
- jednoletost
- toxické látky (inhibitory trávení)

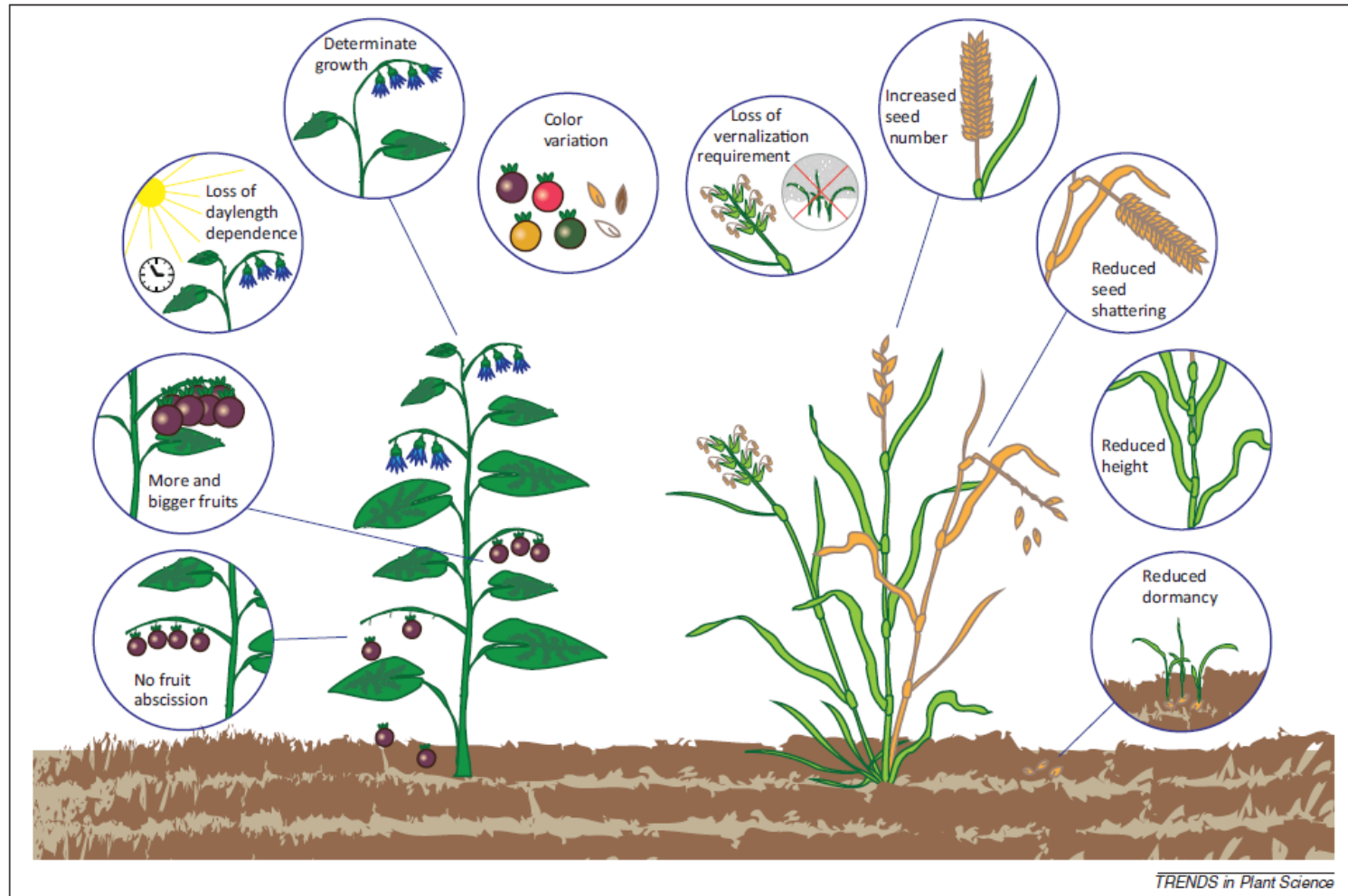




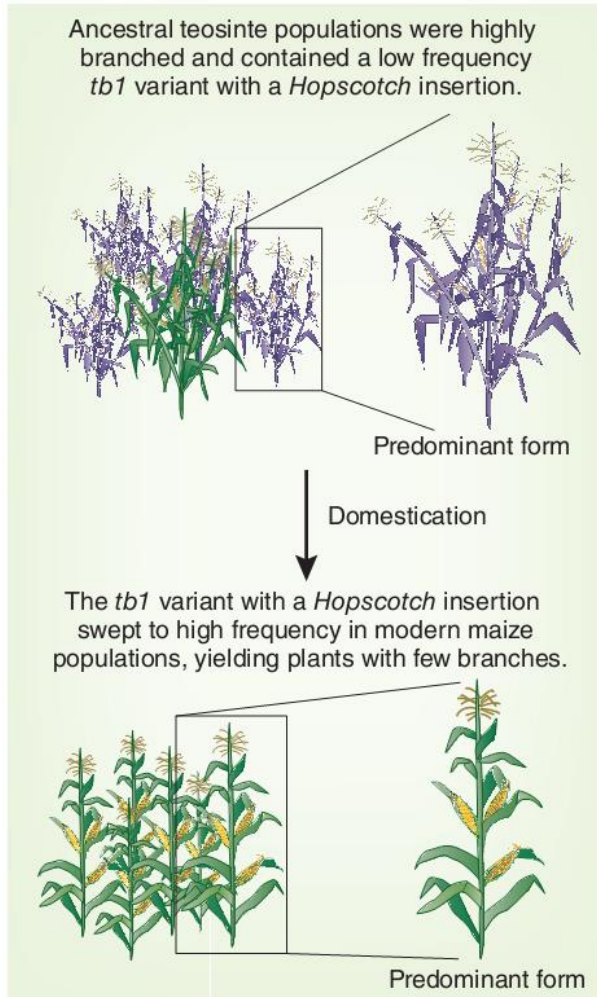
# Domestication as convergent evolution

Review

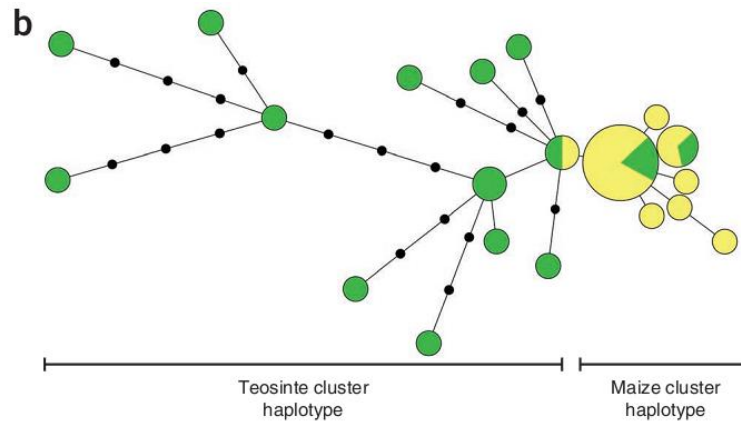
*Trends in Plant Science* December 2013, Vol. 18, No. 12



# První zemědělci vybírali již vhodný fenotyp



show that a transposable element (*Hopscotch*) inserted in a regulatory region of the maize domestication gene, *teosinte branched1* (*tb1*), acts as an enhancer of gene expression and partially explains the increased apical dominance in maize compared to its progenitor, teosinte. Molecular dating indicates that the *Hopscotch* insertion predates maize domestication by at least 10,000 years, indicating that selection acted on standing variation rather than new mutation.

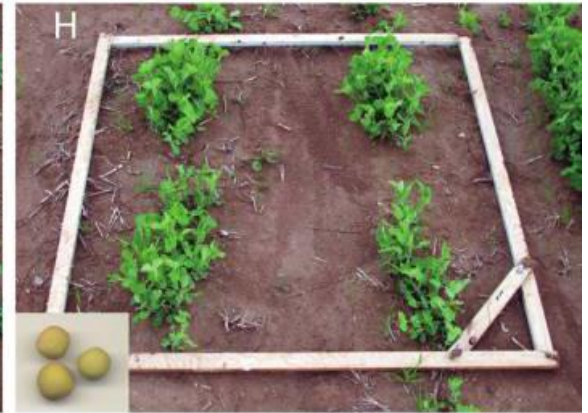


# Seed germination

wild pea seed dormancy

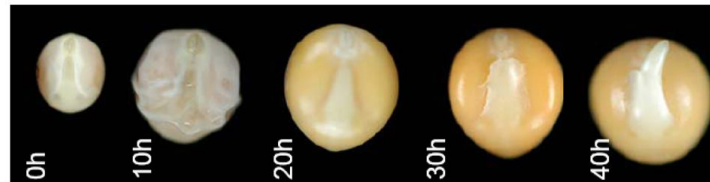


germination of pea crop



Abbo, S. *et al.* (2014) Trends Plant Science

Seed coat impermeability affects **not just germination but also cooking ability/digestibility**



# The domestication and evolutionary ecology of apples

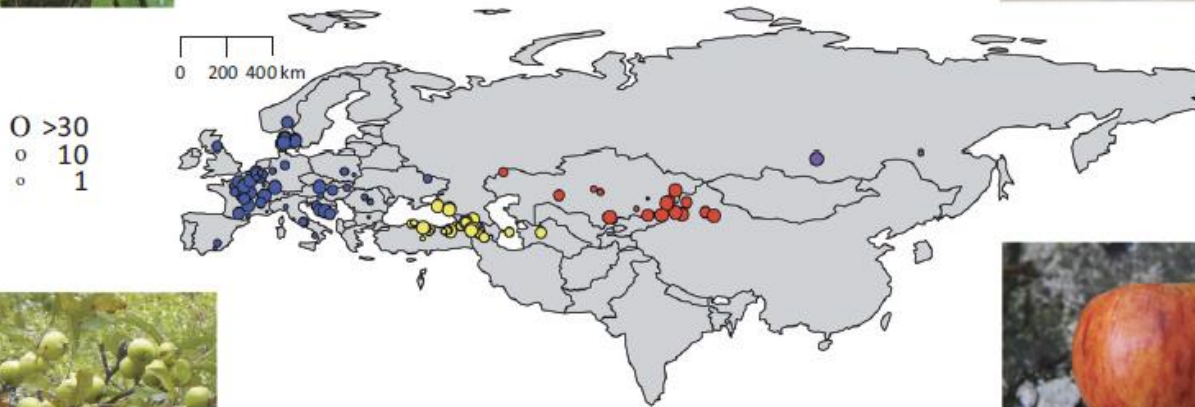
Amandine Cornille<sup>1,2</sup>, Tatiana Giraud<sup>1,2</sup>, Marinus J.M. Smulders<sup>3</sup>, Isabel Roldán-Ruiz<sup>4</sup>, and Pierre Gladieux<sup>1,2</sup>



*Malus sylvestris*  
Diameter: 1–3 cm



*Malus baccata*  
Diameter: 1 cm



*Malus orientalis*  
Diameter: 2–4 cm

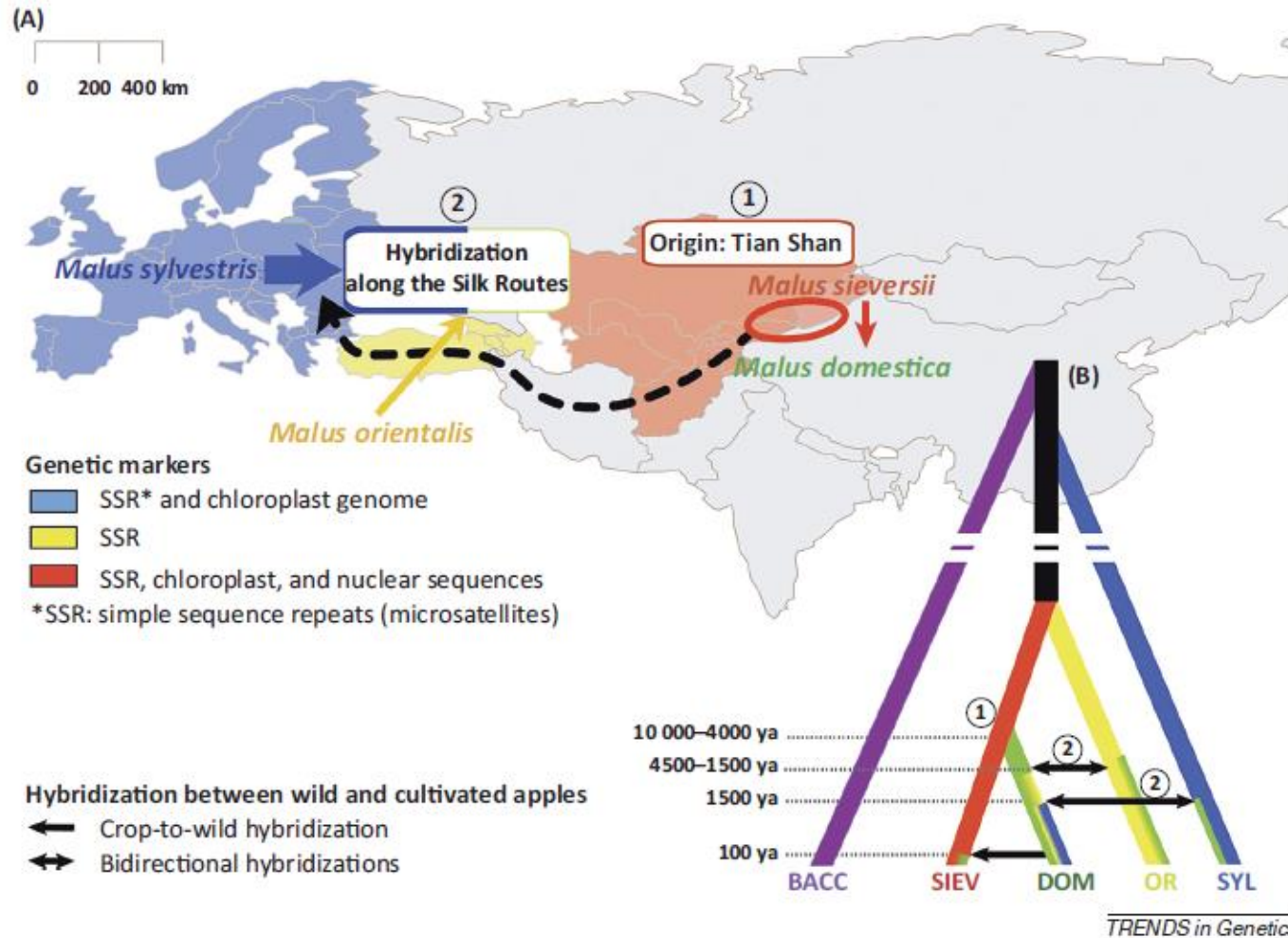


*Malus sieversii*  
Diameter: up to 8 cm

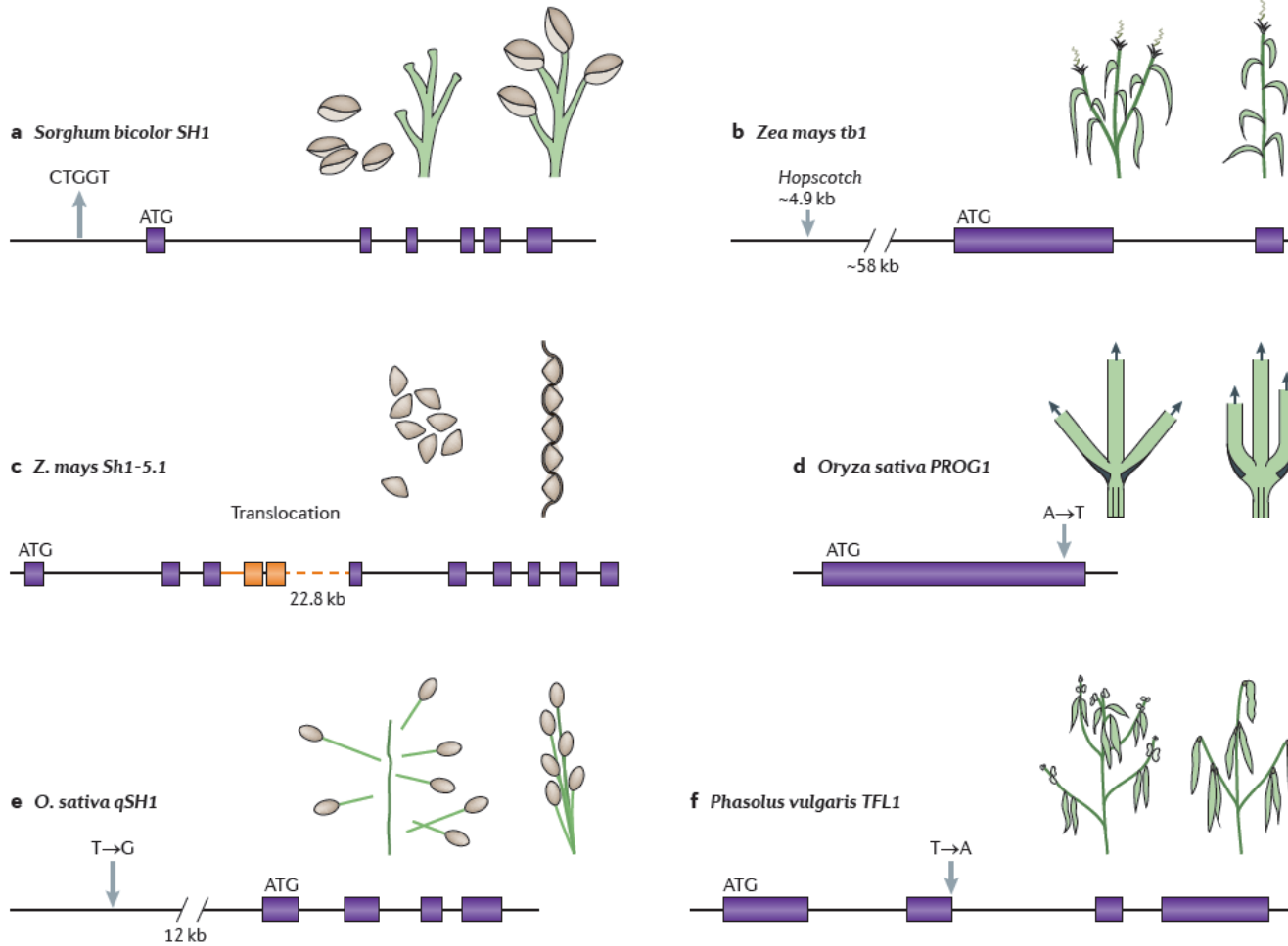
TRENDS in Genetics

# The domestication and evolutionary ecology of apples

Amandine Cornille<sup>1,2</sup>, Tatiana Giraud<sup>1,2</sup>, Marinus J.M. Smulders<sup>3</sup>, Isabel Roldán-Ruiz<sup>4</sup>, and Pierre Gladieux<sup>1,2</sup>



# Types of mutation in genes for domestication traits



Nature Reviews Genetics 14, 840–852 (2013)

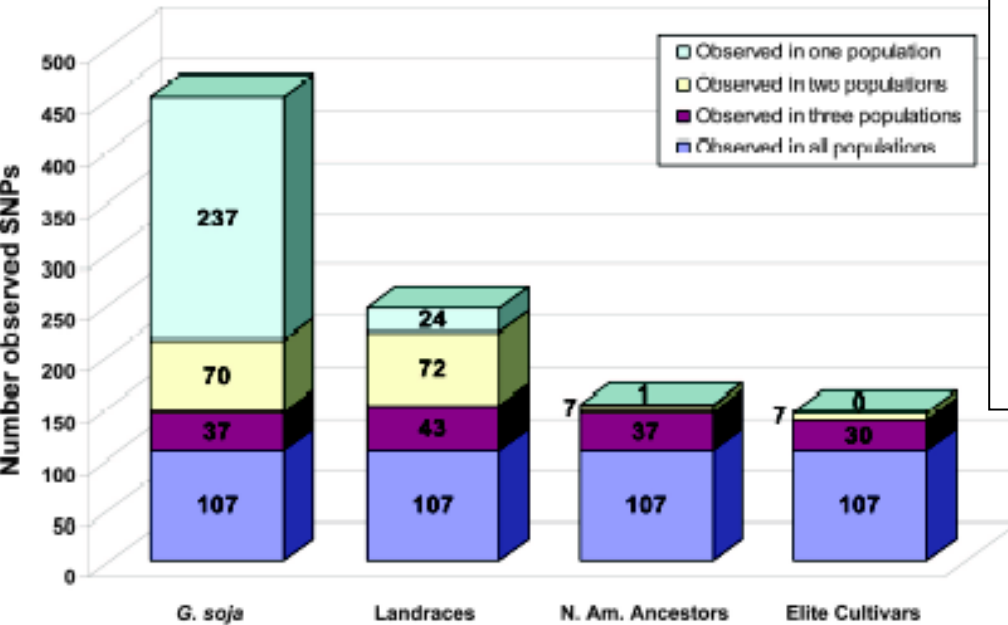
# Domestication genes

Trends in Plant Science 15 (2010) 529–537

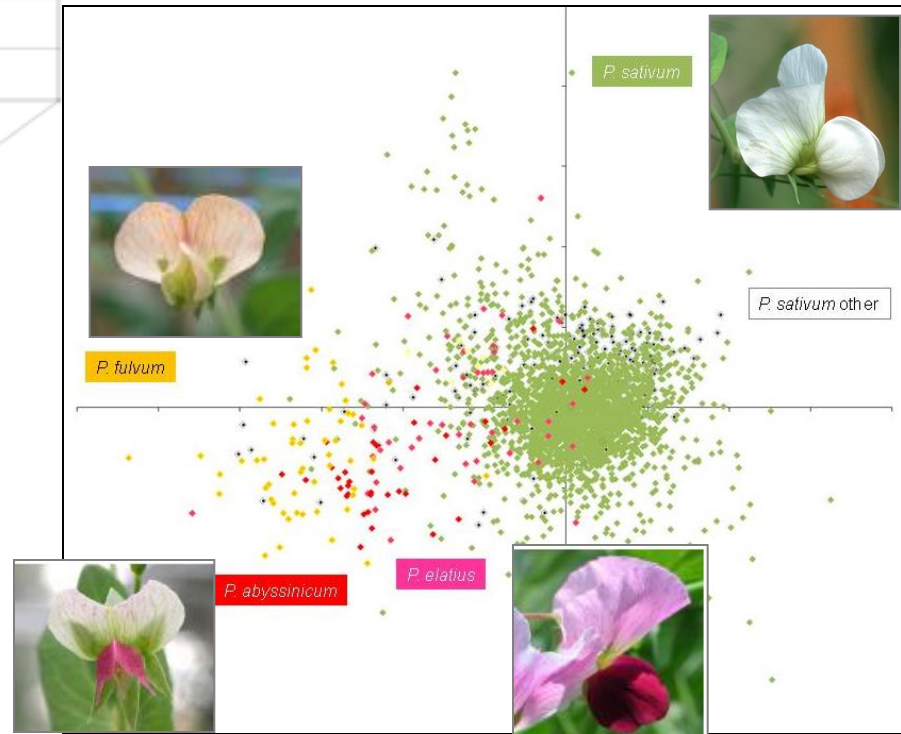
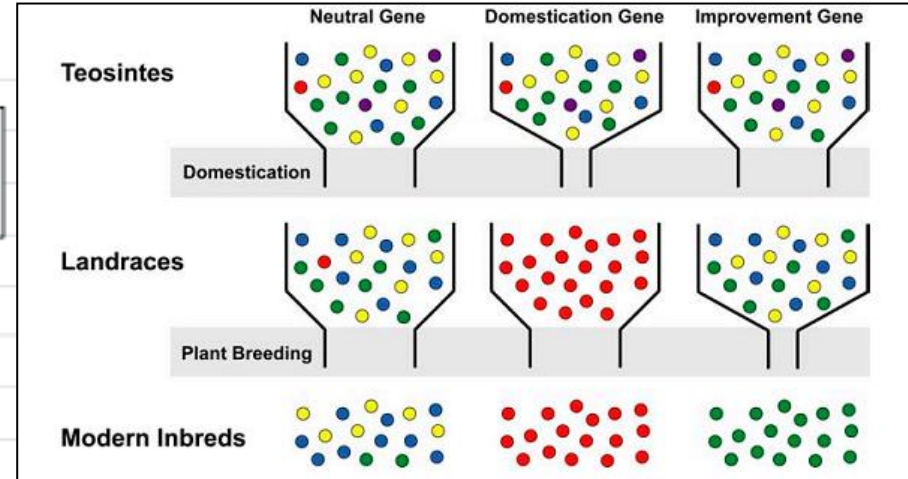
Gene	Crop	Trait	Causative change	Classification	Sel'n <sup>a</sup>	Prevalence
<b>Domestication genes</b>						
<i>Vrs1</i> ( <i>six-rowed spike 1</i> )	Barley	Inflorescence structure	Premature stop (insertion, deletion, or AA change)	Domestication	N.T.	Subset of domesticates
<i>tb1</i> ( <i>teosinte branched1</i> )	Maize	Plant and inflorescence structure	Regulatory change	Domestication	Yes	All domesticates
<i>tga1</i> ( <i>teosinte glume architecture 1</i> )	Maize	Seed casing	AA change	Domestication	Yes	All domesticates
<i>sh4</i> (QTL 4 responsible for the reduction of grain shattering)	Rice	Shattering	Regulatory and AA change	Domestication	Yes	All domesticates
<i>PROG1</i> ( <i>PROSTRATE GROWTH 1</i> )	Rice	Plant structure	AA change	Domestication	Yes <sup>b</sup>	All domesticates
<i>qSH1</i> (QTL for seed shattering on chromosome 1)	Rice	Shattering	Regulatory change	Domestication and improvement	No	Subset of domesticates
<i>Rc</i> ( <i>red pericarp</i> )	Rice	Grain color	Premature stop (deletion or AA change)	Domestication and improvement	Yes	Subset of domesticates (most modern)
<i>Sdr4</i> ( <i>Seed dormancy 4</i> )	Rice	Seed dormancy	Regulatory change	Domestication	N.T.	Subset of domesticates
<i>Style2.1</i> (QTL for style length on chromosome 2)	Tomato	Autogamy	Regulatory change	Domestication	N.T.	All domesticates
<i>fw2.2</i> (QTL for fruit weight on chromosome 2)	Tomato	Fruit weight (fruit size)	Regulatory change	Domestication and improvement	N.T.	Subset of domesticates (most modern)
<i>fas</i> ( <i>fasciated</i> )	Tomato	Locule number (fruit size)	Regulatory change	Domestication and improvement	N.T.	Subset of domesticates (most modern)
<i>Q</i>	Wheat	Shattering and free-threshing	Regulatory and AA change	Domestication	N.T.	All domesticates



# Výběr a snížení diversity

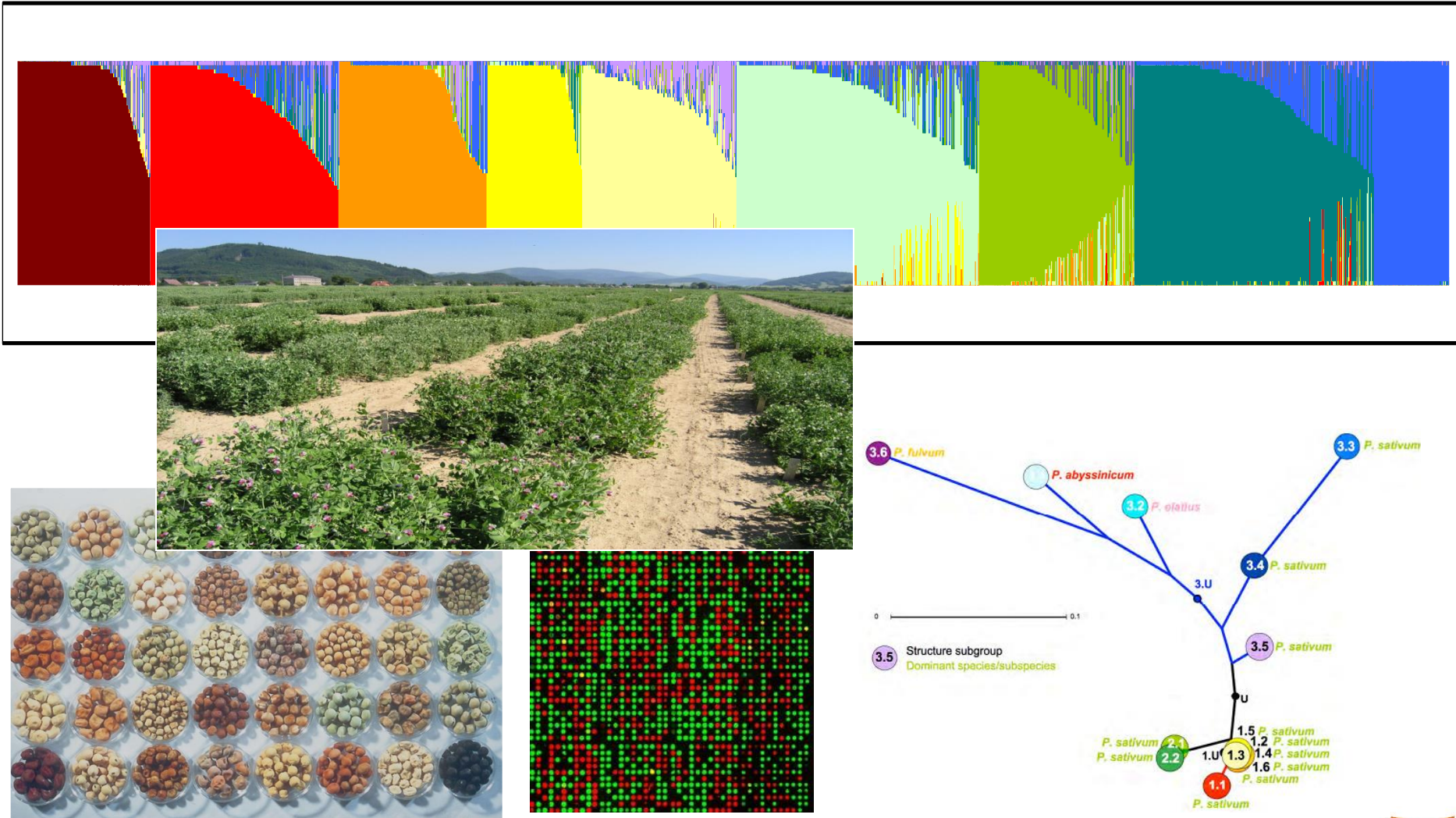


Pěstované formy/druhy  
70% diversity  
planých druhů





# Genofondové kolekce genetická diverzita pro budoucí pokolení



# Šlechtění rostlin



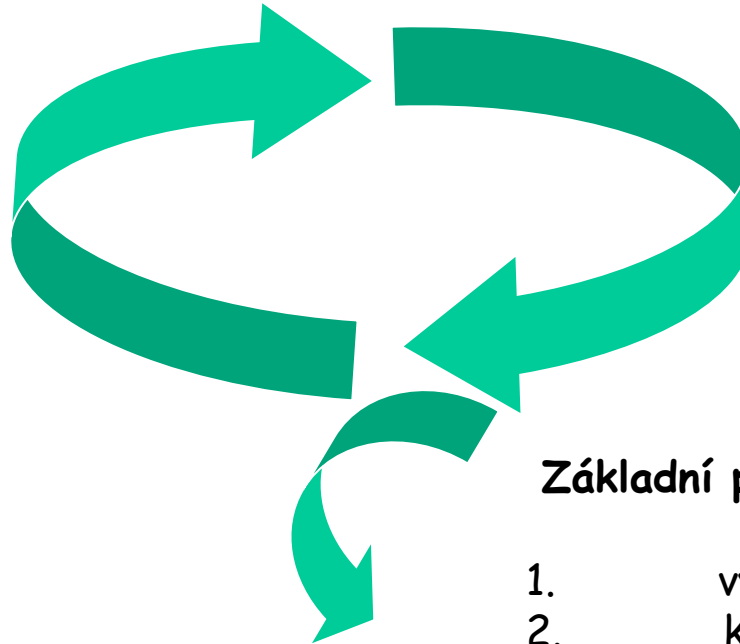
# Šlechtění - umění a věda



**křížení**



**Genetická variabilita**



**výběr**

**Nová odrůda**

**Základní postup ve šlechtění rostlin**

1. vytvoření variability
2. křížení
3. výběr (selektce)
4. hodnocení
5. registrace
6. množení
7. distribuce nové odrůdy

# Základní cíle šlechtění rostlin

- **zvýšení odolnosti** (rezistence) vůči negativním vlivům (stresu, zhoršeným životním podmínkám) - šlechtění na odolnost vůči chladu, mrazu, zimě, suchu, zasolení půdy, chorobám a škůdcům)
- **zvýšení výnosu a vylepšení žádoucích vlastností** (velikost nejžádanějších částí rostliny, lepší látkové složení, zkrácení délky vegetační doby - možnost pěstování plodin i v klimaticky méně vhodných oblastech)
- **zlepšení vlastností pro pěstování** (šlechtění na nepoléhavost, stejnoměrné a současné dozrávání, odolnost k vypadávání semen, toleranci k herbicidům, k toxicitě nízkého pH půdy, k toxicitě těžkých kovů, efektní využívání živin a na zvýšenou fixaci dusíku)
- **rychlejší a efektivnější rozmnožování** žádaných odrůd beze změny jejich vlastností (množení rostlin in vitro, klonováním)
- **tvorba rostlin s novými vlastnostmi** (např. genetické manipulace)

# Metody šlechtění

## tradiční metody šlechtění (klasické, konvenční)

- **Výběr** - z populace rostlin se vyberou ty rostliny, které mají nějakou zajímavou vlastnost.
- **Křížení (hybridizace)**. Křížení může být vnitrodruhové (křížení 2 jedinců téhož druhu) nebo mezidruhové (či dokonce mezirodové).
- **Mutace** - je náhlá změna genotypu rostliny, která se dědí na potomstvo. Mutace jsou spontánní nebo indukované, tj. uměle vyvolané mutageny (chemické látky, radioaktivní záření).
- **Polyploidizace** - metoda, při které dochází k znásobení počtu chromozómových sad v buňce.

## netradiční metody šlechtění (nekonvenční)

- **biotechnologické a molekulární metody**: mikropropagace rostlin pomocí rostlinných explátů in vitro, haploidní techniky, fúze protoplastů, selekce na buněčné úrovni, produkce umělých semen, genetické transformace rostlin

# Počátky cílevědomého zlepšování vlastností pěstovaných rostlin

# VÝBĚR

**Výběr** je základním aspektem šlechtitelské činnosti a šlechtitelského pokroku. Výběrem ve šlechtění většinou rozumíme použití jedinců či potomstev ke šlechtitelskému zpracování se žádoucími znaky a vlastnostmi nebo jejich kombinacemi, tehdy mluvíme o výběru pozitivním. Výběrem lze ale také odstraňovat jedince a potomstva s nežádoucími kombinacemi znaků a vlastností a výběr působí ve smyslu negativním. Úspěch výběru závisí na způsobu rozmnožování šlechtěné plodiny a na výběrové technice s ohledem na genetické založení znaků, ale také s ohledem k početnímu rozsahu materiálu.

**Účinnost výběru (selekce)** závisí na genetickém založení znaků a vlastností. U znaků kvalitativních na počtu genů, na dominanci, recesivitě či neúplné dominanci, na síle a druhu vazby a interakci genů apod., u znaků kvantitativních na složitosti (jednoduchosti) genetické determinace a na heritabilitě (dědivosti). Význam mají i korelace znaků.

U cizosprašných rostlin rozhoduje i doba výběru, výběr provedený před květem (oplozením) je všeobecně účinnější, než výběr provedený po odkvětu. Podle genetického založení znaku, podle jeho heritability se rozeznává několik ohlasů na selekci.

# Výběr z původních krajových (lokálních) odrůd

## Krajové odrůdy:

- geneticky heterogenní populace
- plasticita v odezvě na podmínky prostředí – výsledkem sice jen průměrný, ale spolehlivý výnos
- menší selekce na patogeny a škůdce
- zdroj lokálně adaptovaných genotypů



Primitive cultivated crops are shaped by local climate and humans



Traditional cultivated crops (landraces) are shaped by climate and humans



# Odrůda - kultivar - varieta

**Odrůda musí být:**

- a) **odlišitelná** znaky a vlastnostmi od jiných odrůd daného druhu, (**distinct**)
- b) **uniformní**, tzn. uvnitř odrůdy musí být rostliny do určité míry navzájem shodné (u samosprašných více než u cizosprašných), (**uniform**)
- c) **stálá** ve znacích a vlastnostech v dalších generacích, (**stable**)
- d) souborem s požadovanou hospodářskou hodnotou, tzn. s vlastnostmi zdůvodňující vhodnost k pěstování.

**The International Union for the Protection of New Varieties of Plants  
(UPOV)**

# Odrůda - kultivar - varieta

The International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV)

- **DISTINCTNESS**
- **UNIFORMITY**
- **STABILITY**

**DUS**  
**kritérium**

"To provide and promote an effective system of plant variety protection, with the aim of encouraging the development of new varieties of plants, for the benefit of society."

# Genetická struktura odrůdy

- **liniová odrůda** – vyskytuje se u samosprašných druhů, jako jsou pšenice, ječmen, oves, hrách, fazol, mák, len, rajče, paprika, salát nebo i u druhů s vysokým podílem samosprašení, např. řepka, bob, lupina. Vyznačuje se vysokou genotypovou uniformitou, která se při přemnožování uchovává.
- **odrůda populace** – historicky nejstarší typ odrůdy u cizosprašných druhů. Jedná se o soubor jedinců s rozdílnými genotypy, které vytvářejí určitou populaci s genofondem, který se při přemnožování víceméně zachovává. Vyskytuje se nejčastěji u jetelovin a trav, u žita, mrkve, ředkvičky, póru a dalších.
- **odrůda syntetická** – vzniká opakujícím se společným přemnožením určitých předem vybraných genotypů s vysokou kombinační schopností. Je to uměle syntetizovaná populace, která vykazuje lepší vlastnosti než odrůda populace. Tento typ odrůd se vyskytuje např. u vojtěšky, srhy říznačky či řepky olejky.
- **odrůda polyploidní** – odrůda populace, vyznačující se vyšším stupněm ploidnosti (násobným počtem chromozomů). Tetraploidní odrůdy se vyskytují u jetel lučního a jílku, triploidní odrůdy můžeme nalézt u cukrovky a krmné řepy.
- **odrůda hybridní ( $F_1$ )** – je nejmodernějším typem odrůdy vyskytující se hlavně u cizosprašných rostlin, kde je důležitá fenotypová uniformita (jednotný vzhled) např. u kvěťáku, mrkve, okurek, cibule, kukuřice a cukrovky.
- **odrůda klon** – vyskytuje se u vegetativně množených rostlin jako jsou brambory, chmel, réva vinná, ovocné druhy, květiny. Jedinci jsou potomstvem jediné rostliny a mají stejný genotyp. Reprodukce takové odrůdy se provádí pouze vegetativně, kdy se zachovává původní genotyp.

# Křížení

Křížení (hybridizace) je druhá nejstarší šlechtitelská metoda a nejpoužívanější metoda přípravy šlechtitelského materiálu.

Křížením dochází ke spojování genetické informace dvou (případně i více) rodičovských komponent, které se odlišují v genetickém základu pro znaky a vlastnosti. Záměrem křížení je získat hybridní potomstvo nesoucí znaky a vlastnosti použitých rodičů v různých kombinacích. Proto se používá i termín *kombinační křížení*. Křížení vede k rozšiřování genetické proměnlivosti (variability).

## ***Vnitrodruhové křížení***

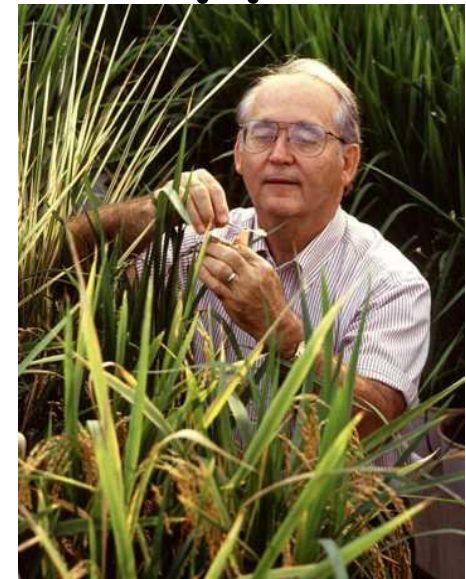
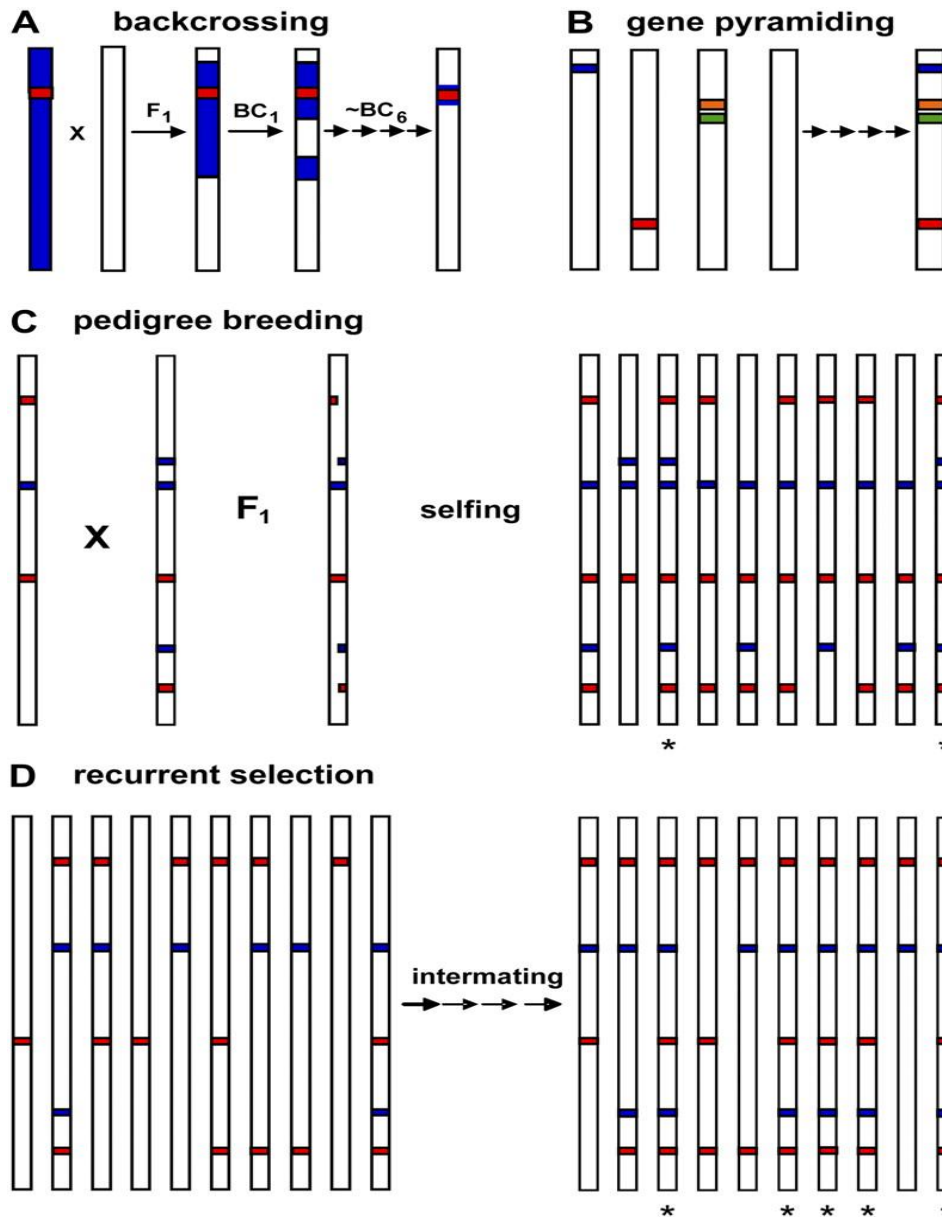
Rodičovské komponenty vnitrodruhového (blízkého) křížení jsou zpravidla odrůdy, pak se mluví o meziodrůdovém křížení, nebo linie, pak se mluví o meziliniiovém křížení.

## ***Vzdálené křížení***

Vzdálené křížení umožňuje využívání genofondu rostlin za hranicemi druhu, případně za hranicemi rodu, k řešení speciálních šlechtitelských úkolů. Vede k rozšíření genetické proměnlivosti spojením geneticky odlišných genomů s nealelickými geny planých, polokulturních i kulturních druhů či rodů.

Podle typů použitých rodičovských komponent lze dělit vzdálenou hybridizaci na **mezidruhovou** (interspecifickou) a **mezirodovou** (intergenerickou).

# Základní šlechtitelské postupy



# Norman Borlaug (1914 - 2009)

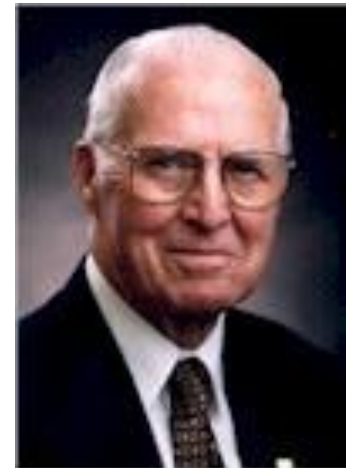
## „Green Revolution“



**pšenice Norin 10**

Mutant v genu pro kratší internodia

**Rýže IR8 (Miracle Rice)**

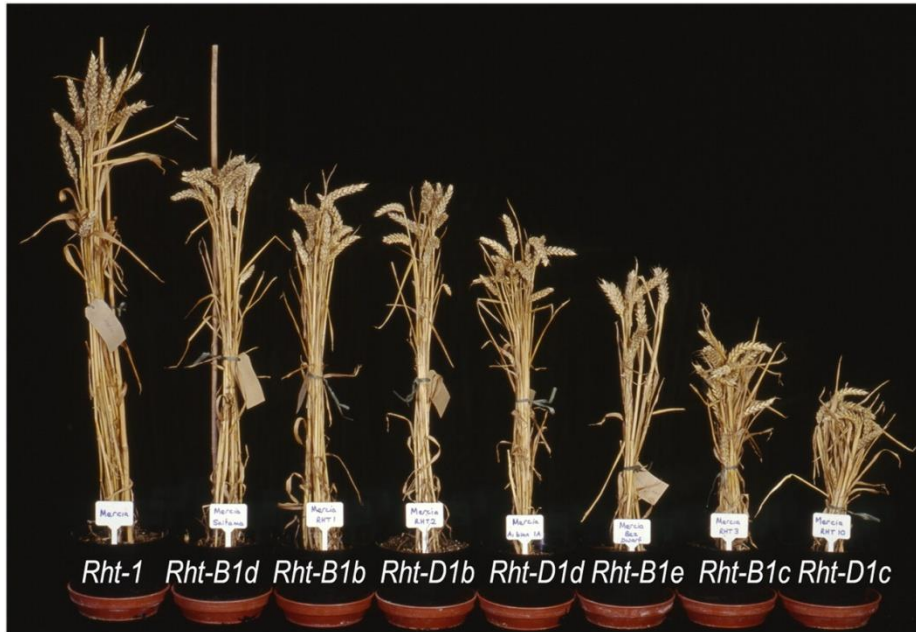


Nobelova cena míru 1970

**positiva** (potravinová soběstačnost, vysoce produktivní odrůdy)

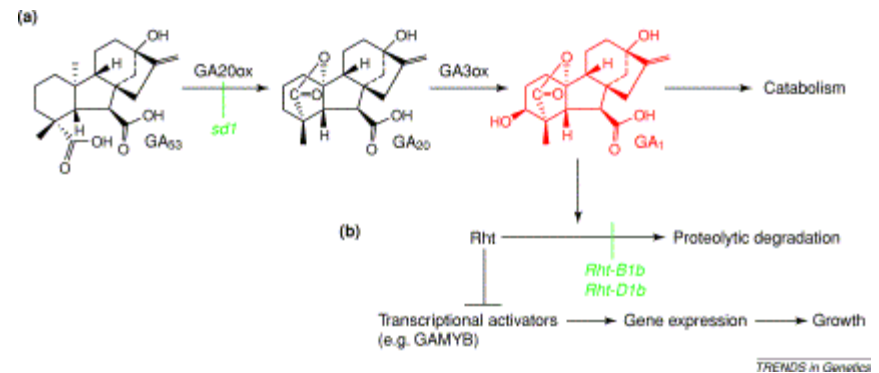
**negativa** (snížení diversity, zvýšení užití pesticidů, hnojiv, zavlažování, mechanizace, proměna venkova)

# Zelená revoluce a geny zakrslosti



Původně rostliny musely soutěžit s plevely  
Většinou neoptimální výživa (N, P)  
Robustní, vysoké

Používání umělých hnojiv a pesticidů  
Potřeba redukce výšky (1950-60)



***Rhbt-B1b*** (chromosom 4B)  
***Rhbt-D1b*** (chromosom 4D)

ortolog *Ath GAI* proteinu v signální dráze giberelinů

Mutantní protein postrádá N-terminální DELLA doménu - konstitutivní represor růstu

# Tvorba hybridních ( $F_1$ ) odrůd



# Hybridní (F1) odrůdy - heterózní efekt



**G.H. Schull** 1909

návrh tvorby hybridů pro využití uniformity  
a heterózního efektu

Nepraktické a komerčně neefektivní využití  
Jednoduchých hybridů

**D.F. Jones** 1918

Efektivnější využití tzv. dvojnásobných hybridů

**H.A. Wallace** 1913,

1925 Pioneer Hybrid Corn, Iowa

Industriální produkce kukuřičných hybridů od  
roku 1930



in Olomouc, CZ



# Hybridní (F1) kukuřice

- **Single-cross hybrids** – This is when two unrelated inbred parents are crossed.
- **Three-way hybrids** – Three parents are involved in a three-way cross. The female of a three-way hybrid is a single-cross hybrid, while the male is an inbred line.
- **Double-cross hybrids** – In this cross, both parents are single-cross hybrids.
- **Top-cross** – In this case, one of the parents is an open-pollinated variety and the other is a single-cross hybrid or an inbred line.

# Hybridní (F1) kukuřice



# Hybridní (F1) odrůdy - heterózní efekt

## Hybridní kukuřice

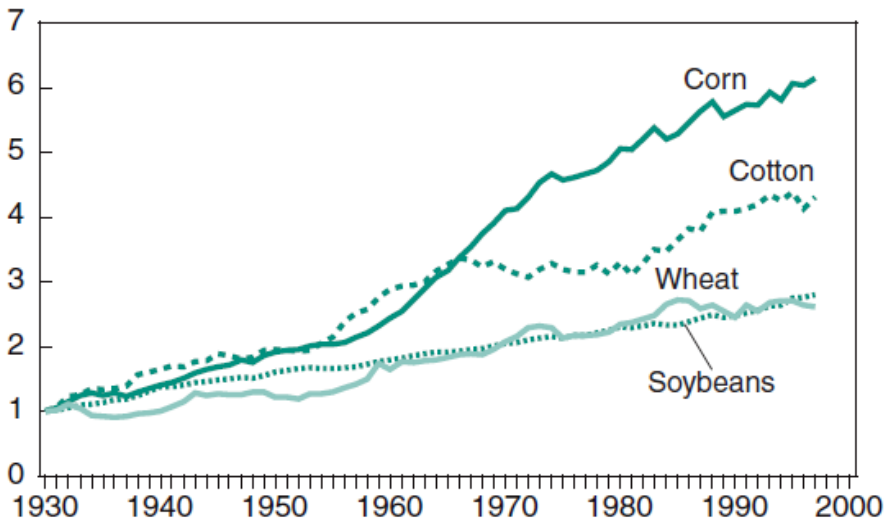
zisk 15 – 30% výnosu

## Slunečnice

zisk až 50% výnosu



Yield index (1930=1.00) smoothed



Důležité pro ekonomiku tvorby hybridního osiva

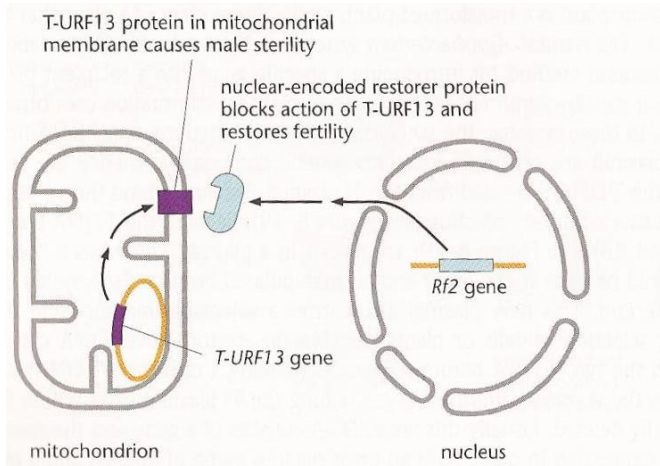
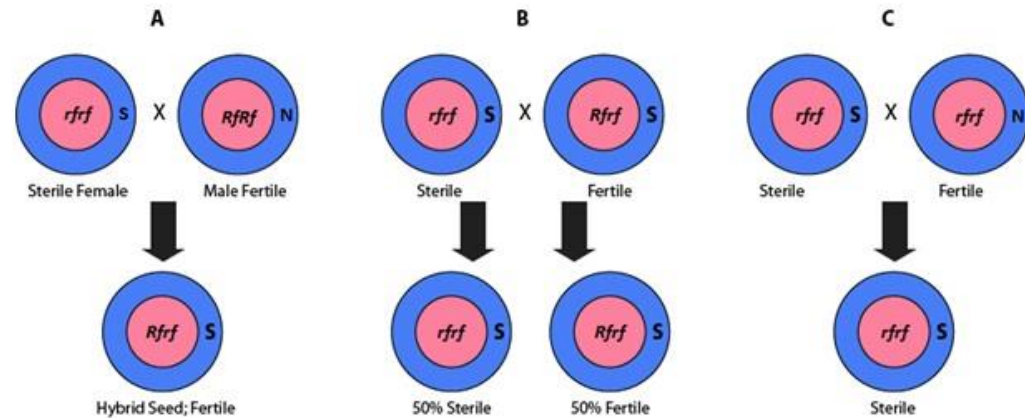
# Cytoplasmatická samčí sterilita a hybridní odrůdy

- neschopnost produkce funkčního pylu
- samčí sterility je agronomicky výhodná pro produkci hybridních semen



fertilní květ

sterilní květ

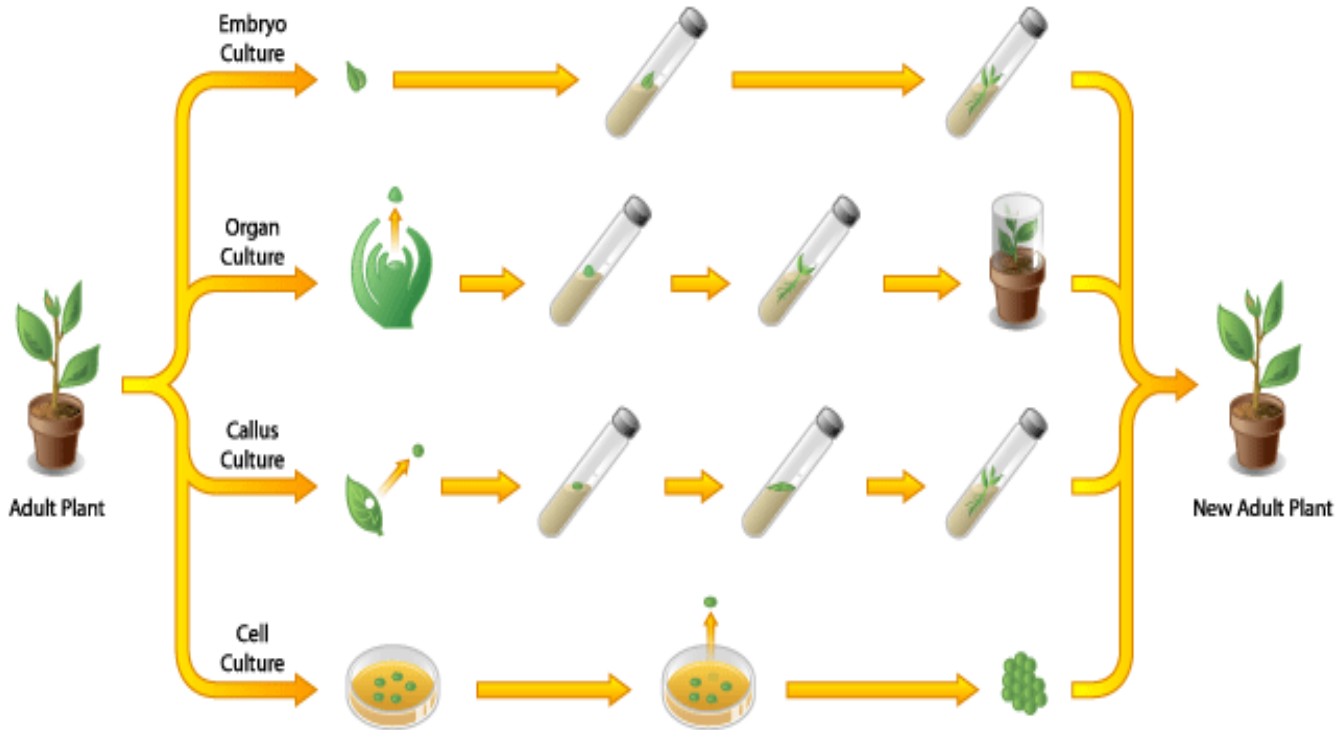


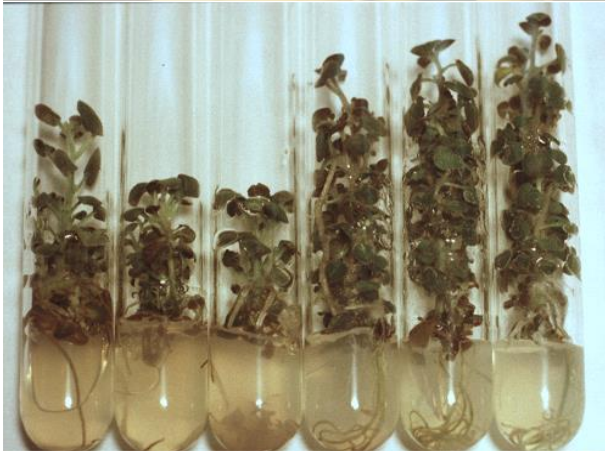
reorganizace mtDNA

CMS Texas (T) cytoplasma kukuřice

fúze promotoru ATP6 k části RRN2 genu - vznik nového membránového proteinu T-URF13

# Metody explantátových (*in vitro*) kultur





# Příběh olejové palmy (*Elaeis guineensis*)

6,5 t oleje/ ha

životní cyklus  
25 let





# Příběh olejové palmy (*Elaeis guineensis*)

*In vitro* mikropropagace

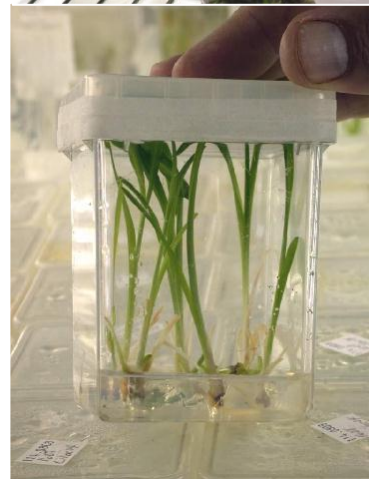
„matled“ fenotyp (Corley et al. 1986)  
„Abnormal flower development in oil palm clones“

5% regenerantů

změny stavby květu - ovlivnění tvorby plodů -  
zisk oleje

Heterogenní v rámci klonů i rostliny

Reverze k normálnímu stavu



# Využití *in vitro* selekce

Plants	Agronomic traits	References
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Valine resistance	Gaj et al., 1999
Sugarcane	Ametryn	Zambrano et al., 1999
<i>Herbicide resistance:</i>		
Wheat	atrazine, difenzoquat, picloram	
Tobacco	atrazine, amitrole, paraquat, chlorsulfuron	
Brassica	atrazine, phenmedipham	
Maize, barley	glyphosate	
Sugarbeet	chlorsulfuron	
<i>Disease resistance</i>		
Tomato	<i>Clavibacter michiganense</i>	
<i>Gladiolus</i> × <i>grandiflorus</i>	<i>Fusarium lycopersici</i> , <i>Phytophthora infestans</i>	
	Fusaric acid	
Tobacco	<i>Alternaria alternata</i>	
Potato	<i>Fusarium solani</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Alternaria solani</i>	
	potato leafroll luteovirus	
Strawberry	<i>Phytophthora cactorum</i> , <i>Rhizoctonia fragariae</i> <i>Botrytis cinera</i>	

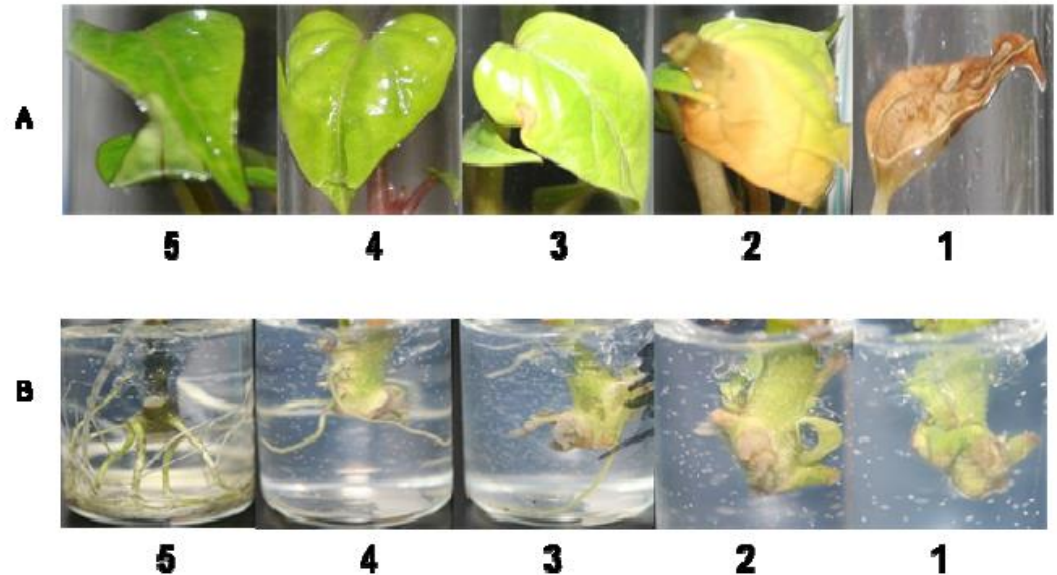


Figure 1. Representative example of visual scoring scale for leaf and root condition under *in vitro* salinity conditions. (A) Visual scoring scale for leaf condition under *in vitro* salinity conditions. see Jain et al., 1998

Cristinzeo & Testa, 1999

Kawchuk et al., 1997

Battistini & Rosati, 1991;

Jain, 1997b; see Remotti, 1998

Orlando et al., 1997

# Dihaploidie rychlá cesta získání homozygotních linií

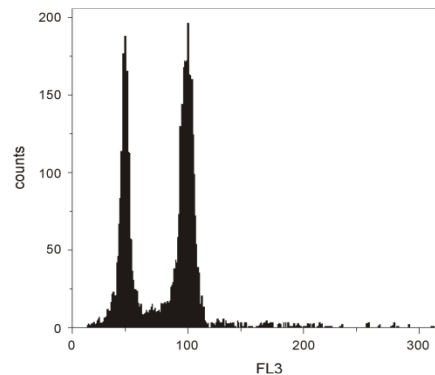
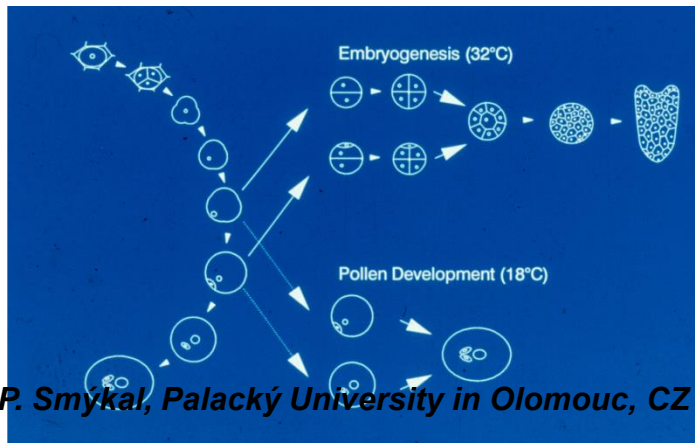
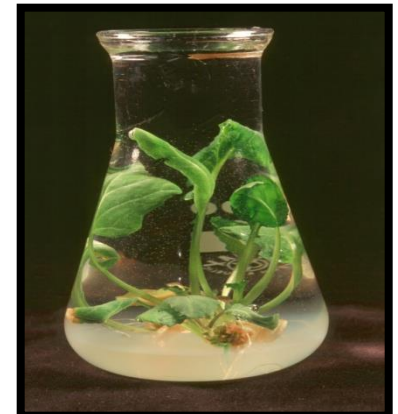
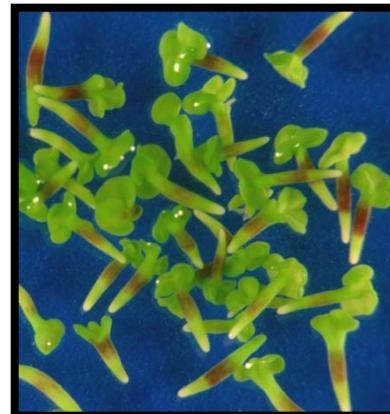
$2n = Aa$



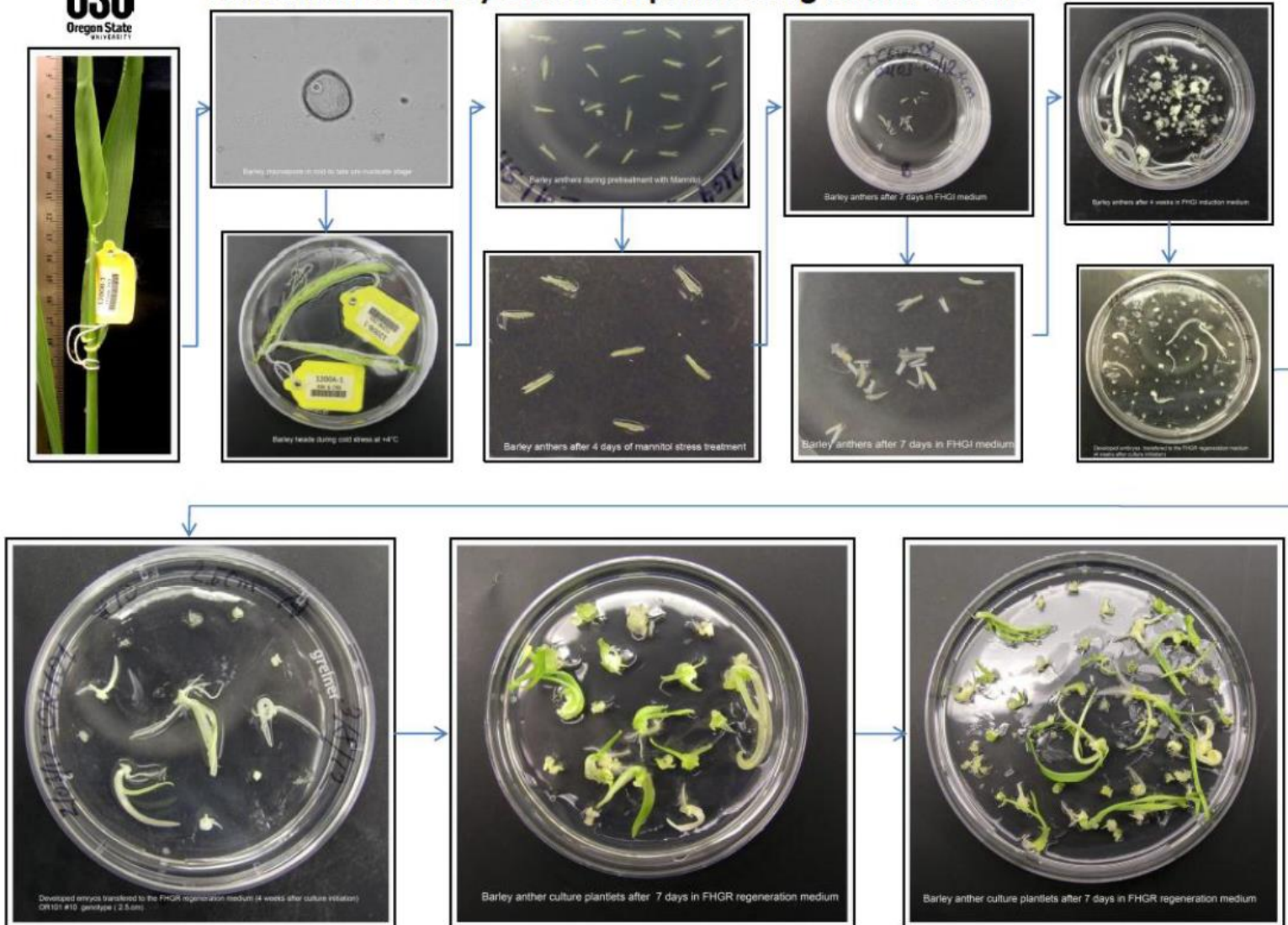
$n = A / a$



$2n = AA / aa$



## Production of Barley Double Haploids using Anther Culture

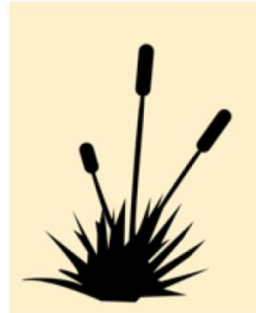


# Eliminace chromosomů *Hordeum bulbosum* vedoucí ke vzniku DH ječmene



*Hordeum vulgare*  
 $2N = 2X = 14$

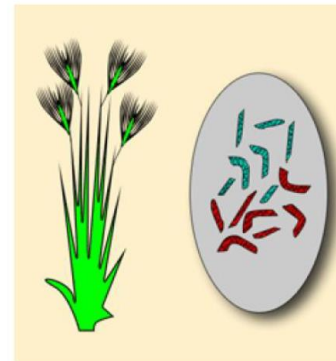
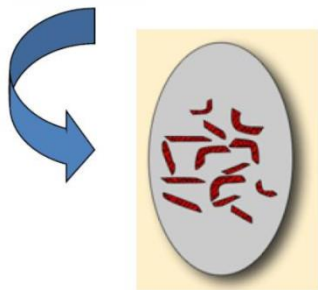
X



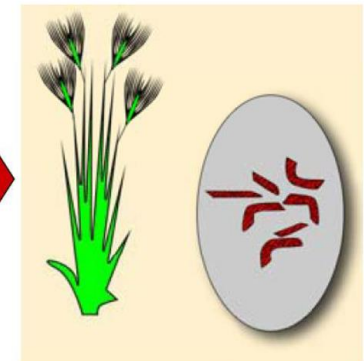
*Hordeum bulbosum*  
 $2N = 2X = 14$



Interspecific Cross

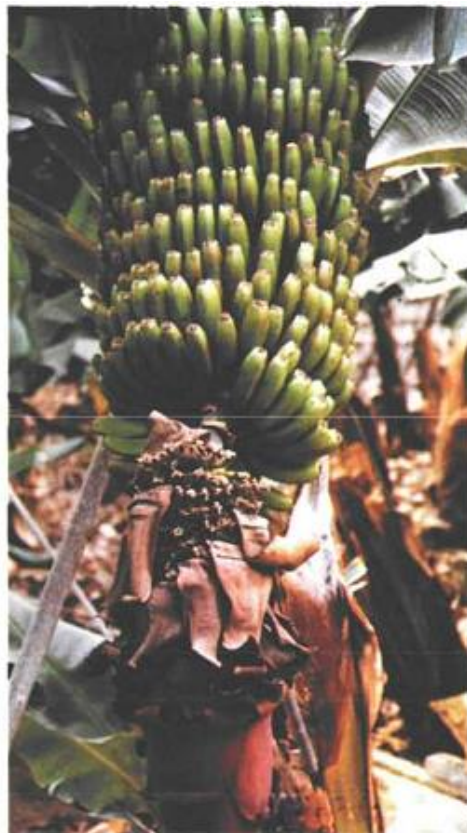
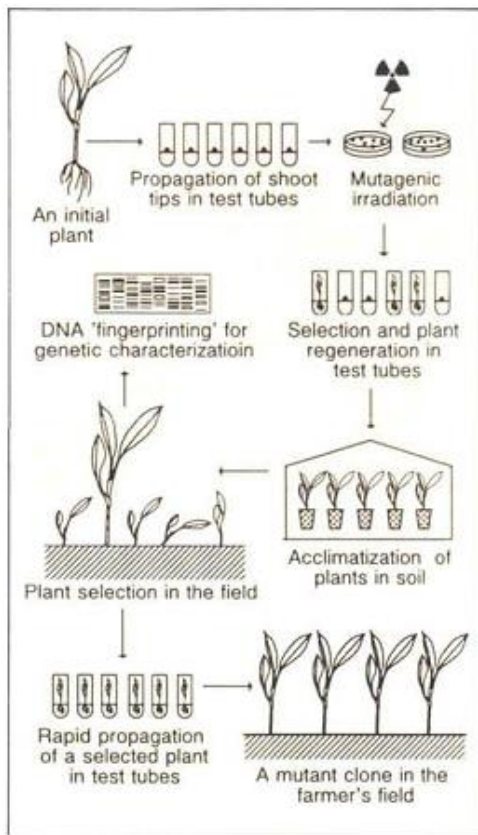


1. Fertilization triggers embryo development.



2. Spontaneous elimination of *H. bulbosum* chromosomes.

# Mutagenese - cesta ke zvýšení variability

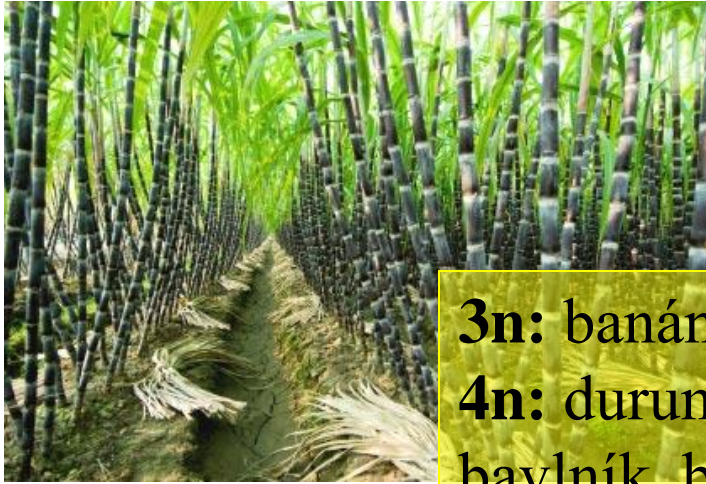


- fyzikální
- chemická
- transposony
- T-DNA inzerce



U nás např. Diamantová řada ječmene jarního (sladařského)

# Polyploidie - častý stav genomu kulturních rostlin



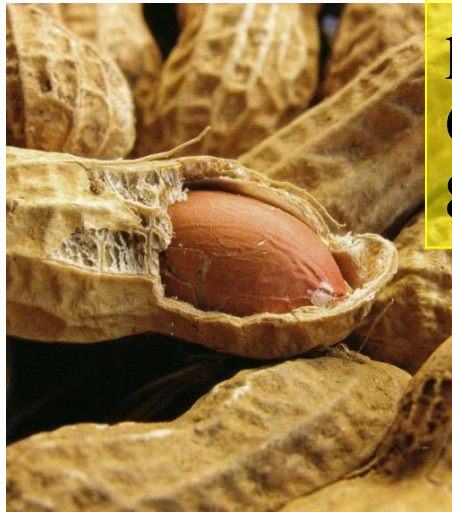
**3n:** banán, jablko, zázvor, řepa

**4n:** durum pšenice, kukuřice,  
bavlník, brambor, zelí, tabák,

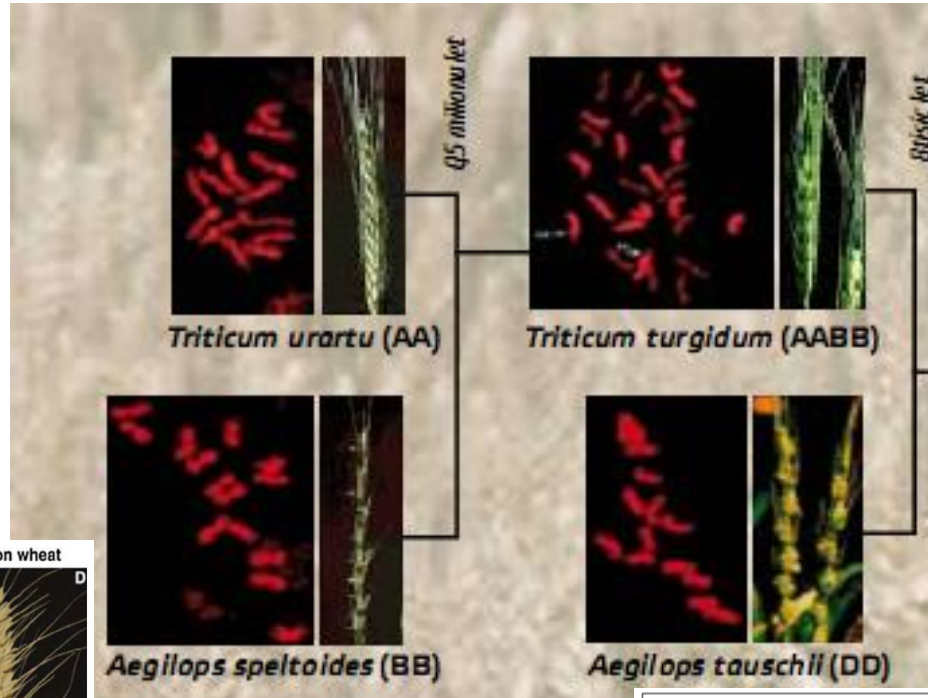
podzemnice

**6n:** chrysan téma, pšenice, oves

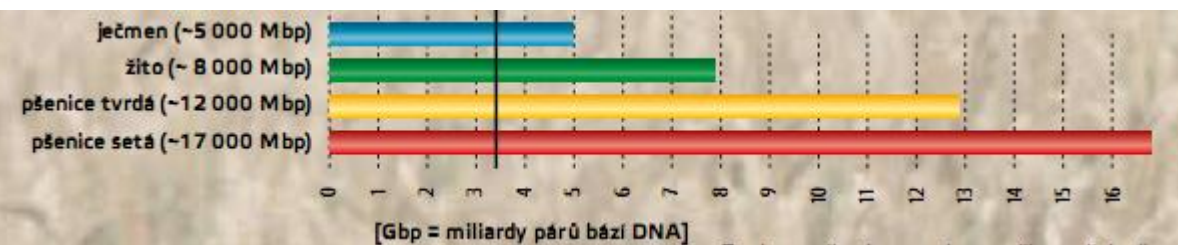
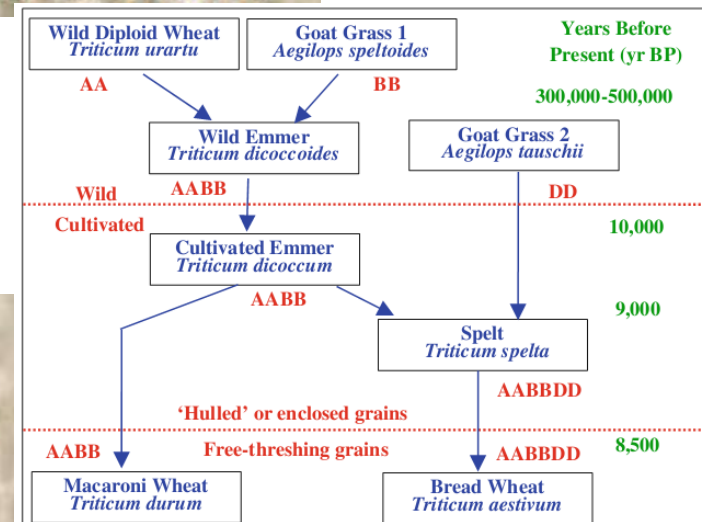
**8n:** jahodník, jiřiny, cukr. třtina



# Tráva s trojím věnem



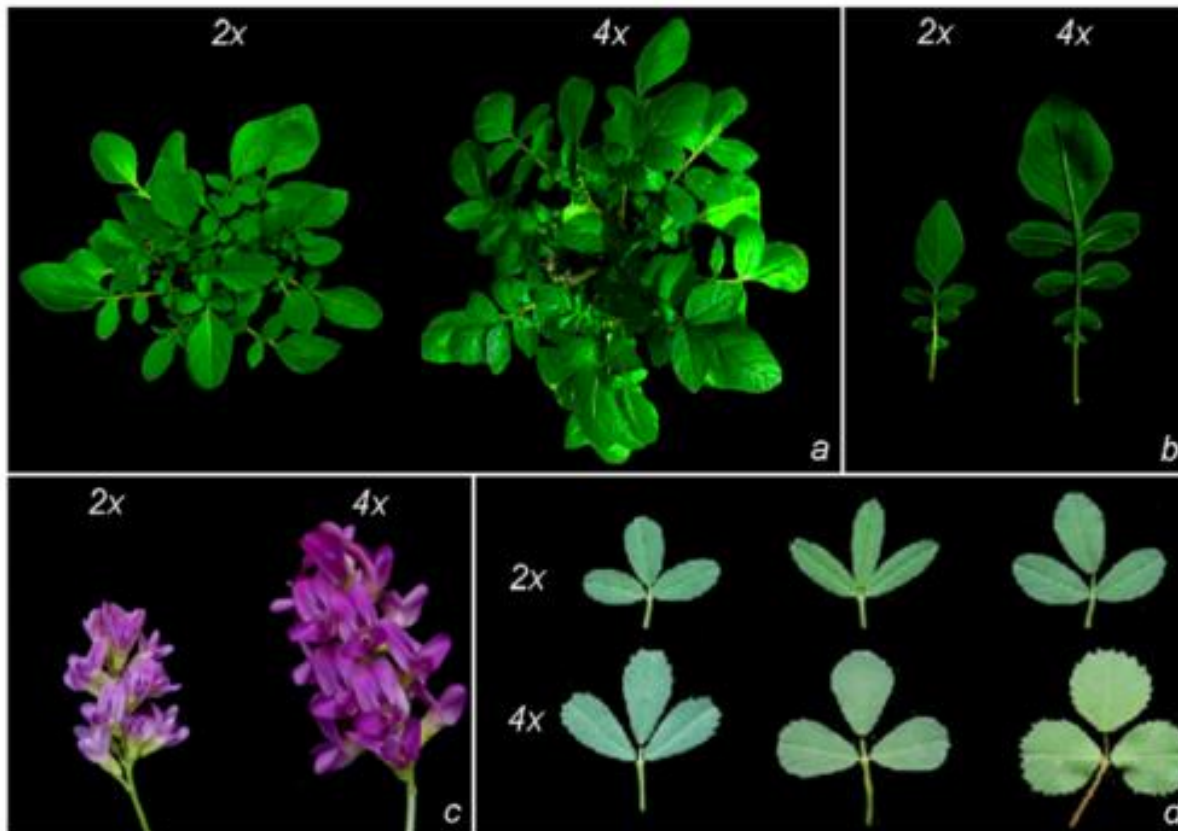
Vesmír 9/2009





# Vlastnosti polyploidů

Stebbins (1940) - buňky polyploidních rostlin mají celkově větší velikost než buňky stejného typu u jejich diploidních příbuzných – následně i celé rostliny jsou větší (*ale nemusí tomu tak být vždy !*)



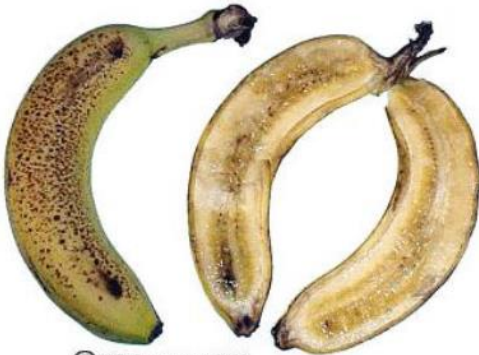
# Parthenokarpie – bezsemenné plody

*Musa acuminata* (Asian Banana) × *Musa balbisiana* (Asian Banana) = *Musa X paradisiaca* (Hybrid Banana)

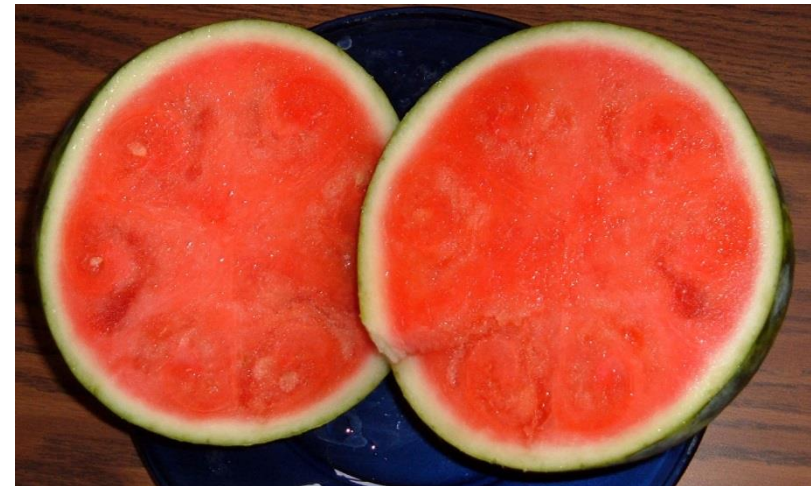
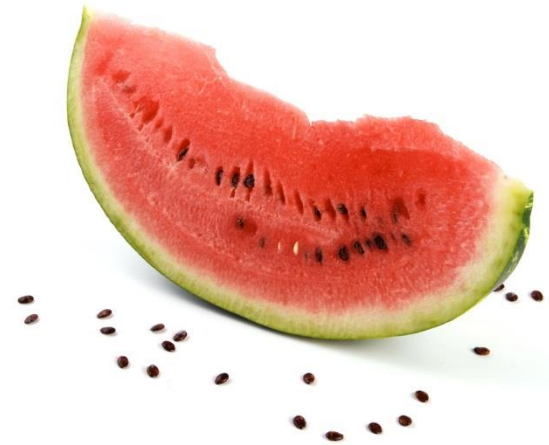
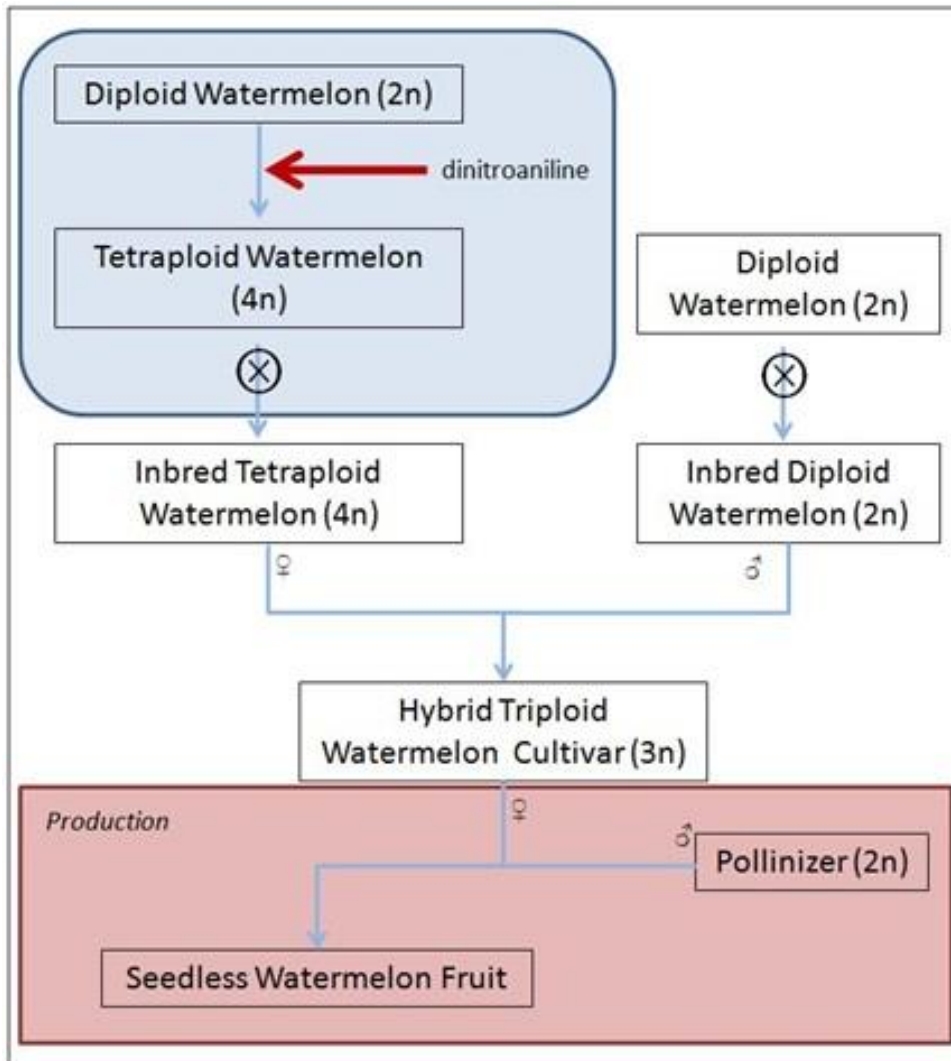
AA (fertile)                      BB (fertile)                      AAB or ABB (etc.) (sterile)

## Origin Of Triploid Banana From Asian Parents

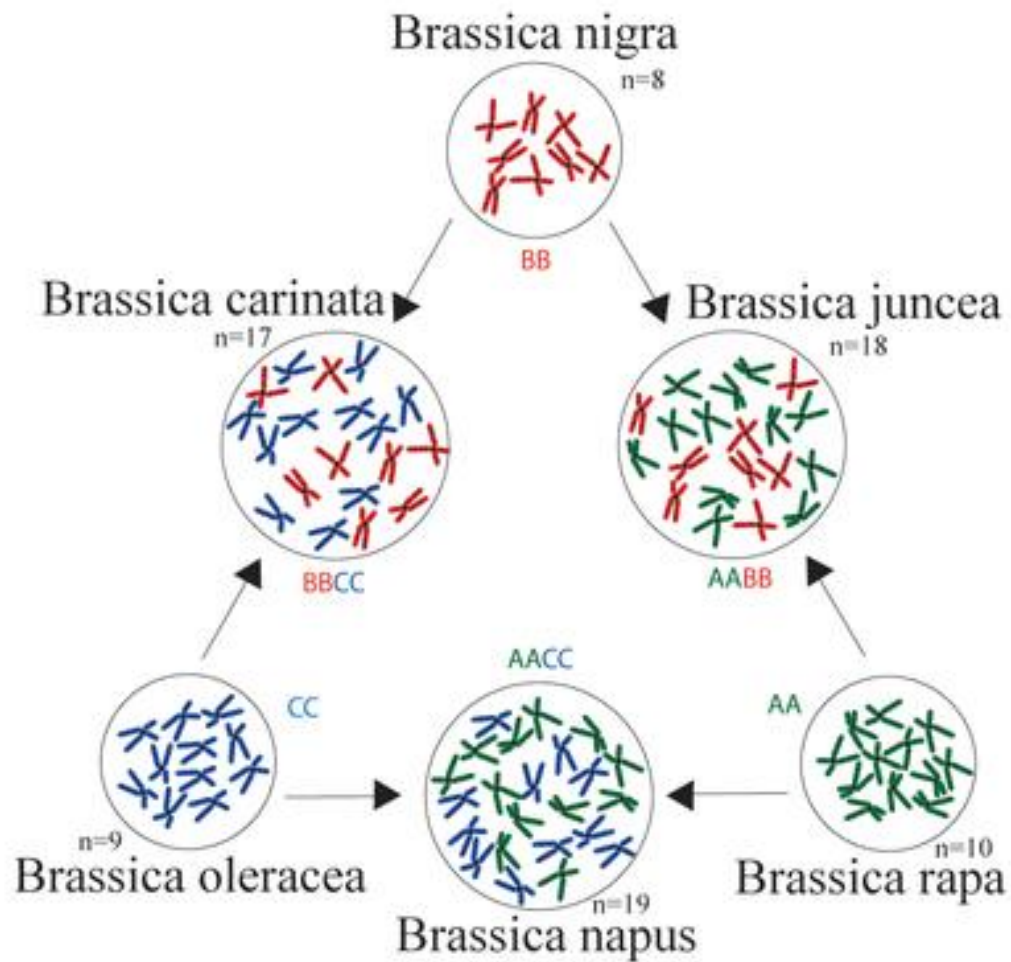
**A** = one haploid set of chromosomes from *M. acuminata*  
**B** = one haploid set of chromosomes from *M. balbisiana*



# Triploidie a bezsemenné melouny



# Hybridizace a vznik druhu



# *Triticale* (*x Triticosecale*, žitovec)

"From a scientific curiosity to a viable crop in the course of a few decades"



*Triticum durum* (AABB)  
X  
*Secale cereale* (RR)

(*x T. aestivum* AABBDD)

hexa nebo octaploidní

První kříženci 1940

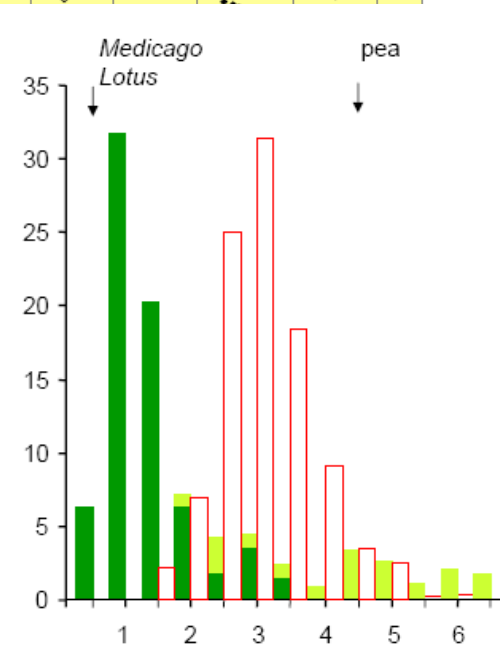
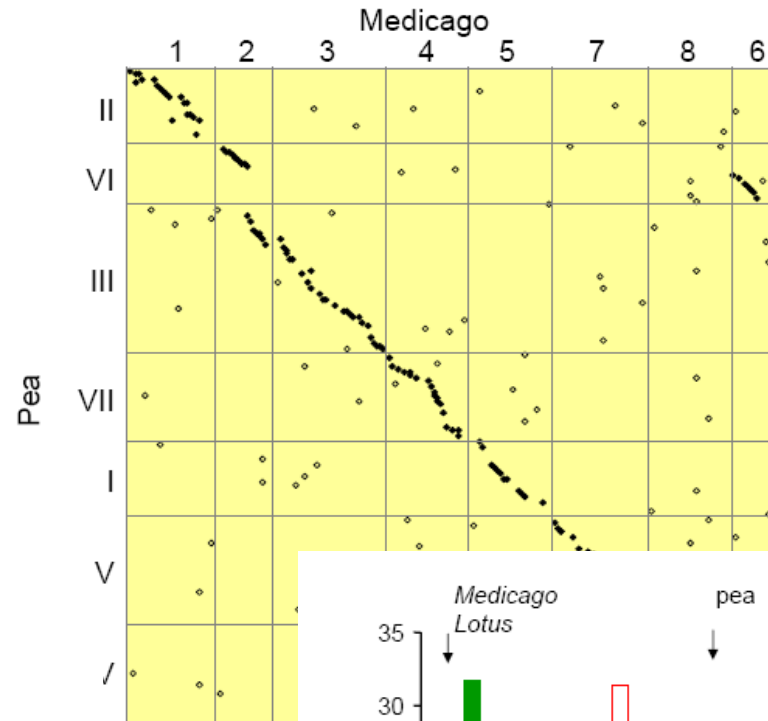
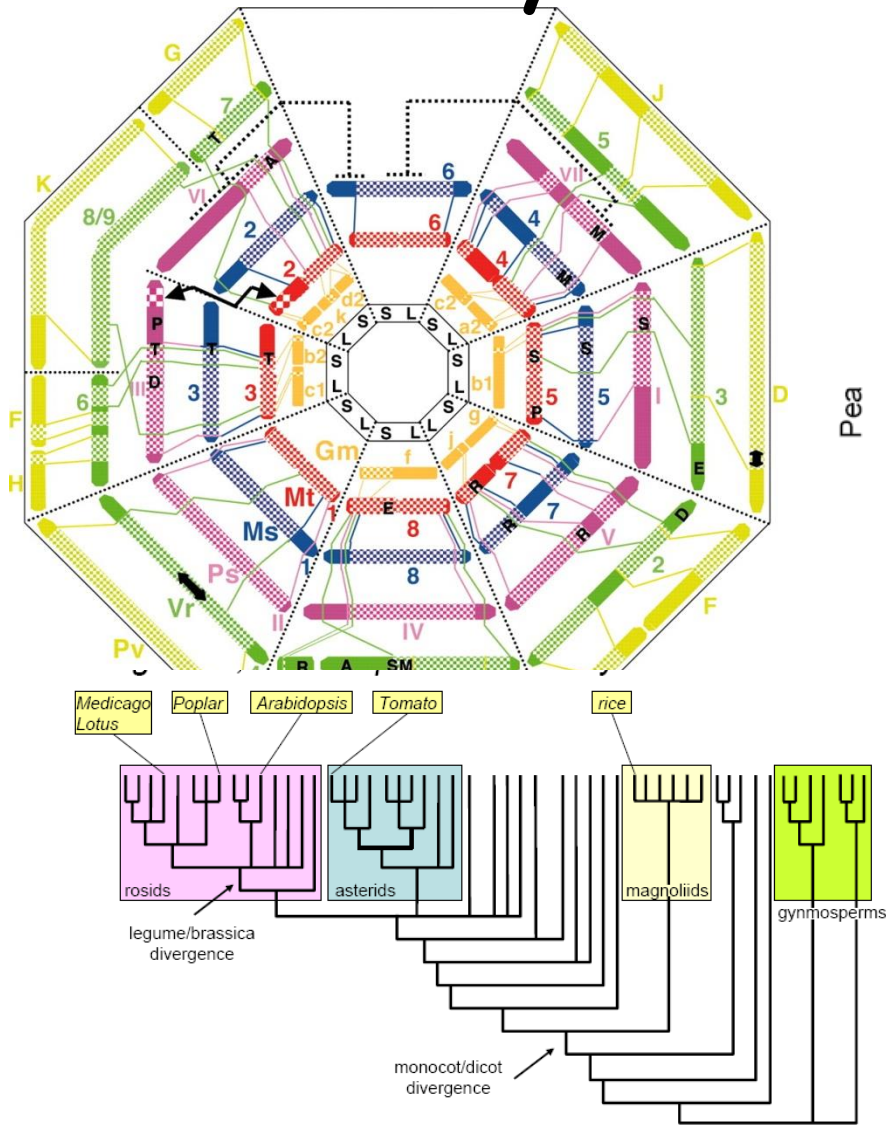
Nyní produkce 15 miliónů tun

# XXI. století

# věk genomiky



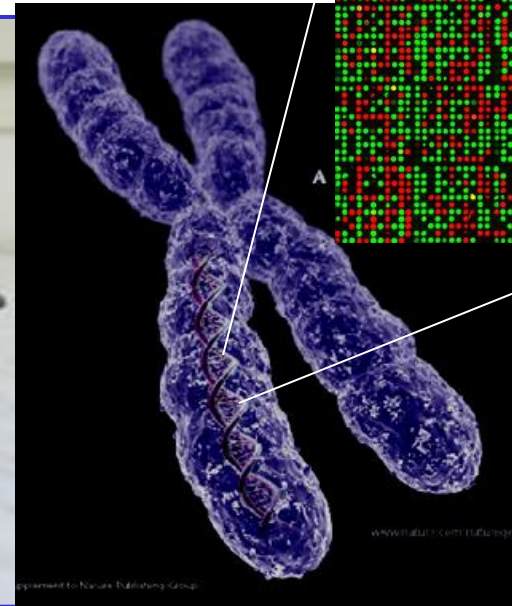
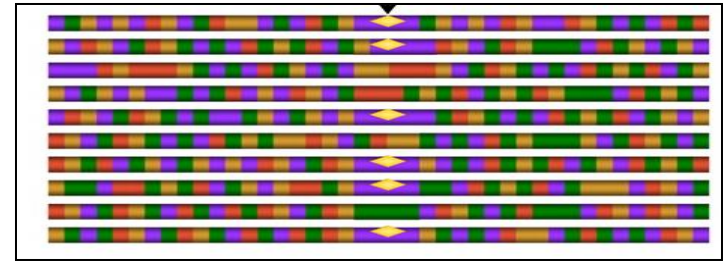
# Modely versus plodiny Syntenie a kolinearita



# Fenotyp versus genotyp



Rezistentní Náchylná

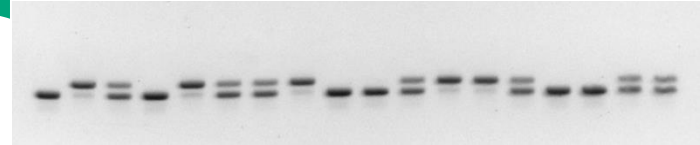
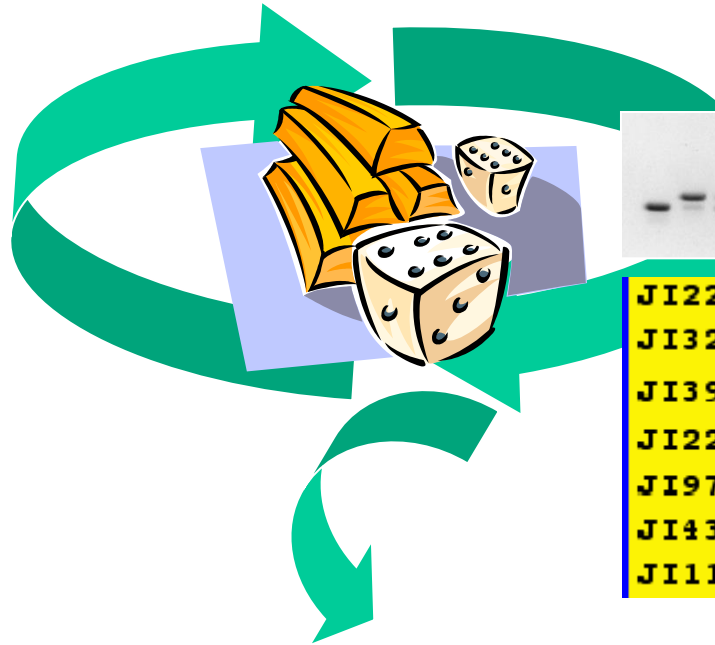
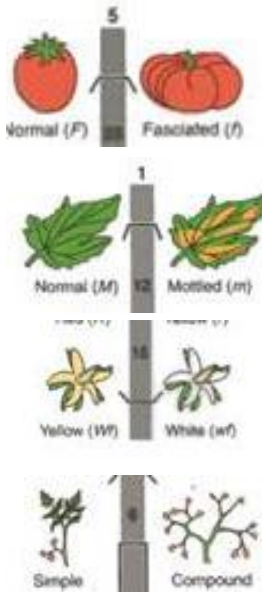
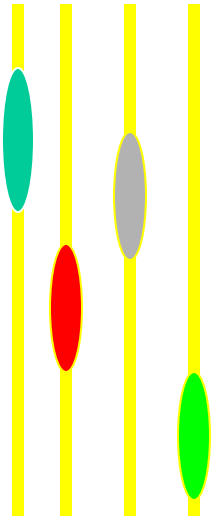






# Výběr analýza DNA

## křížení



J12200	G	C	G	G	G
J1321	G	C	G	G	G
J1399	G	C	A	G	G
J1228	G	C	A	G	G
J1975	G	T	G	T	A
J1435	G	T	G	T	A
J1113	G	T	G	T	A

## Nová odrůda

# Šlechtění v genomické době

- **Genotypizace**  
analýza DNA, databáze - standardizace
- **Fenotypizace**  
objektivita a kvantifikace  
uložení dat- databáze, hodnotící kategorie, měřítko  
- sjednocení
- **Spojení genotypu a fenotypu**



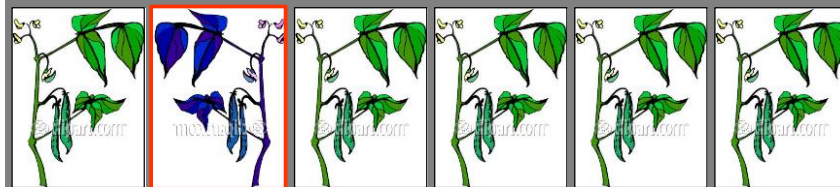
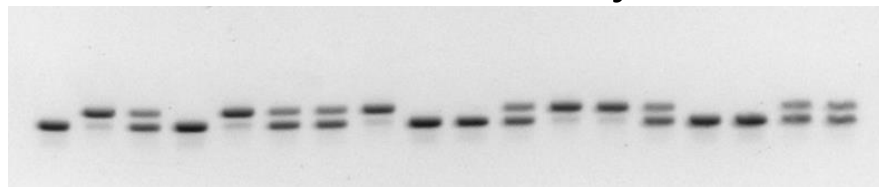
Odběr materiálu

Isolace DNA

Analýza DNA

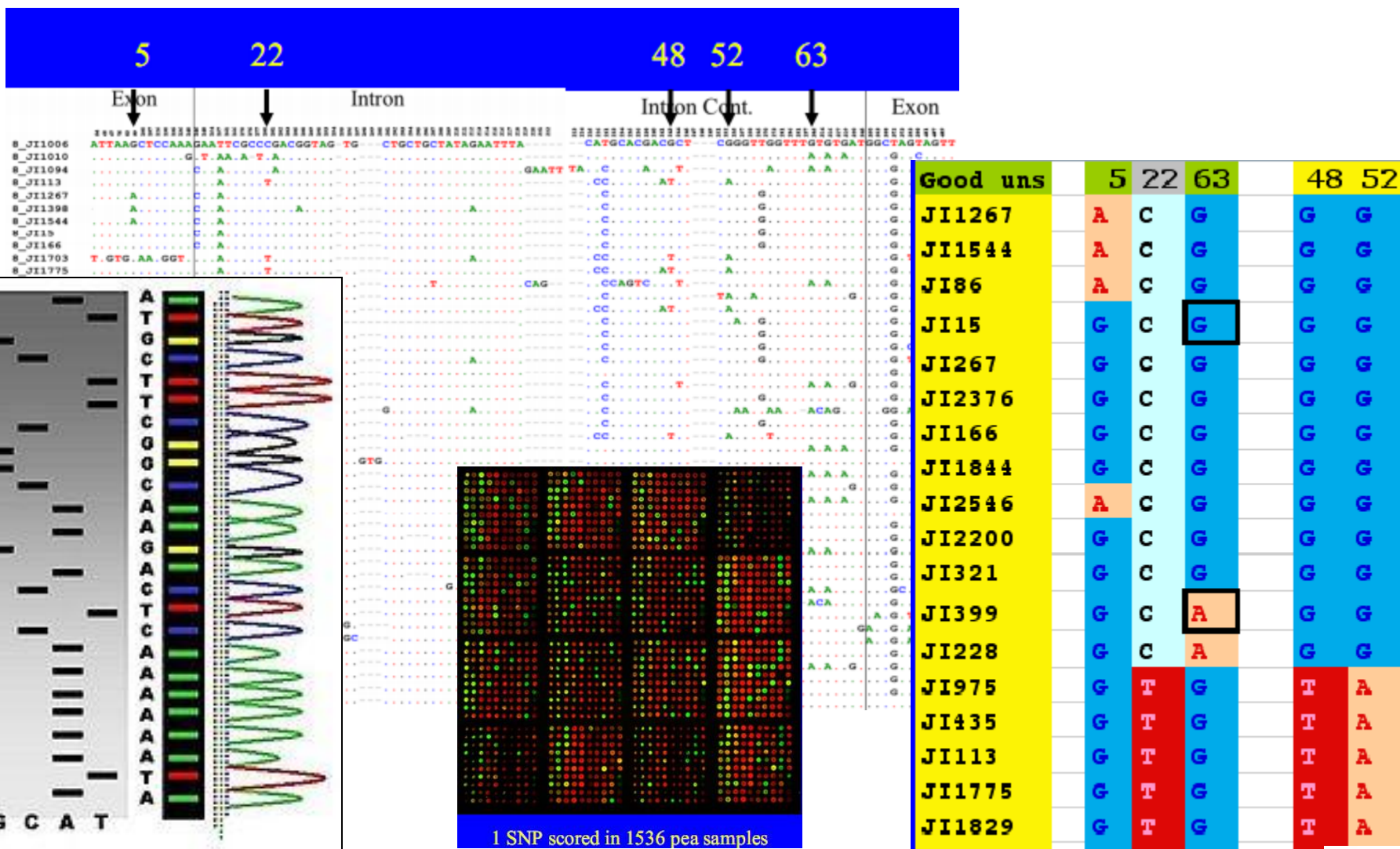


Výsledek - interpretace



Rezistentní **Náchylná** Rezistentní Rezistentní Rezistentní Rezistentní

# Genotypizace aneb výběr „vhodných alel“



Známe-li genom

Můžeme  
odvodit fenotyp ?



# Morfologické klasifikátory

## Trait

Stipules-character of anthocyan spot  
Flower-wings colour  
Flower-vexillum colour  
Leaflet-margin shape on the second realleaf  
Seed-funiculus stability  
Leaflet-margin shape at the first flowering node  
Seed-colour at full ripeness  
Seed-cotyledons colour  
Leaf-type  
Seed-hilum colour  
Leaflet-colour  
Leaflet-shape (at the first flowering node)  
Leaflet-appex shape  
Seed-testa colour  
Seed-surface

## Kvantitativní znaky

(8)

## Kvalitativní znaky

(15)

Plant-seeds number  
Plant-pods number  
Stem-lenght to first productive node  
Stem-length  
Thousand seeds weight  
Plant-seeds weight  
Stem-lenght of internode under the first productive node  
Stem-number of sterile nodes



Descriptor list of genus *Pisum* L.

UPOV “Protocol for Distinctness, Uniformity and Stability Tests *Pisum sativum* L. sensu lato. Pea”



[APPF Home](#)

[HRPPC Home](#)

[Capabilities](#)

[Projects](#)

[Pricing & Proposals](#)

[Teachers & Students](#)

[News & Events](#)

[Publications](#)

[Gallery](#)

> [General](#)

> [Field Technology](#)

> [Official Opening Sept 09](#)

> [Artist in Residence](#)

> [Chinese Academy Visit](#)

> [Staff gatherings](#)

[Links](#)

[Phenonet](#)

[User area](#)

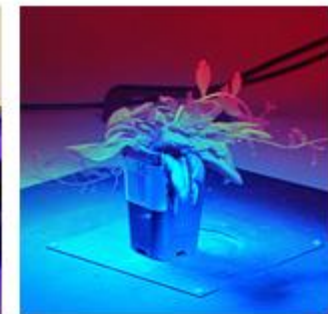
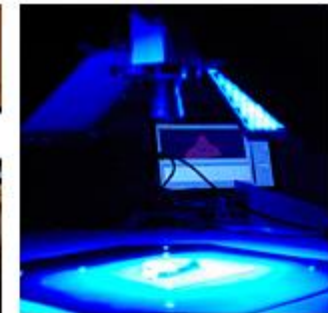
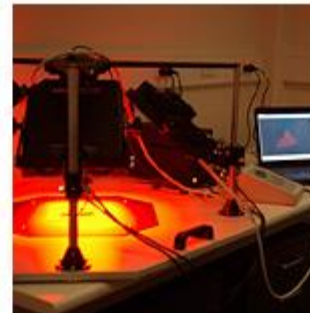
[Testimonials](#)

[Contacts](#)

[Navigation](#)

[Home](#) » [Gallery](#)

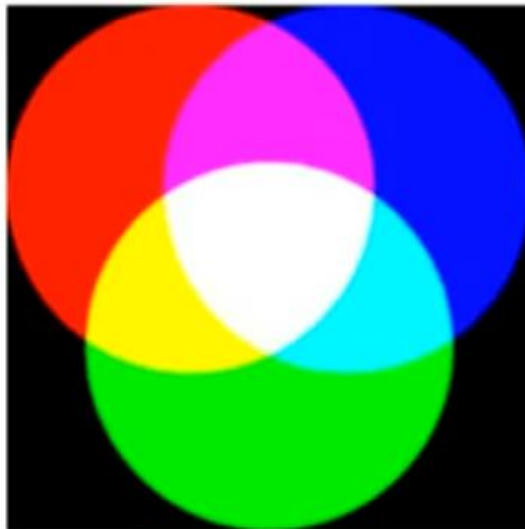
## Gallery - General



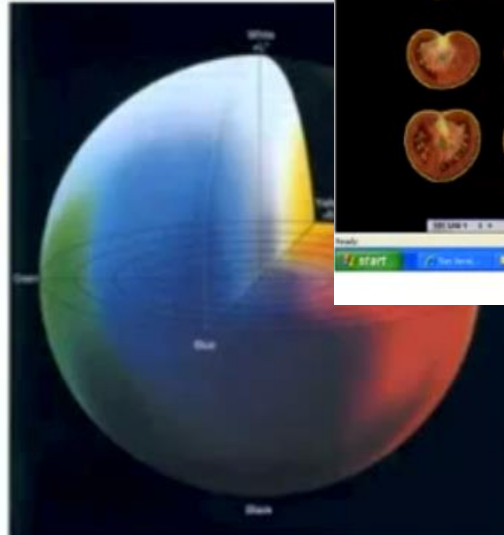
# Example of fruit color

Where we need to go: from descriptor to objective data.

1 = GREEN, 2 = YELLOW (GRIN)



R, G, B

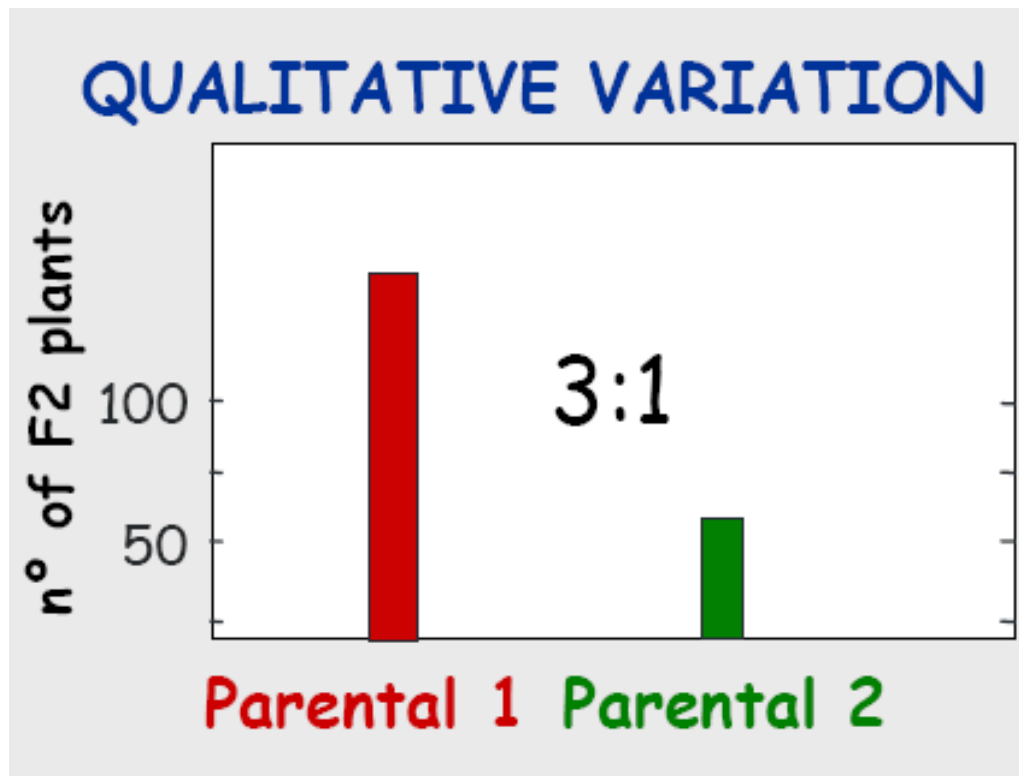


CIE LAB

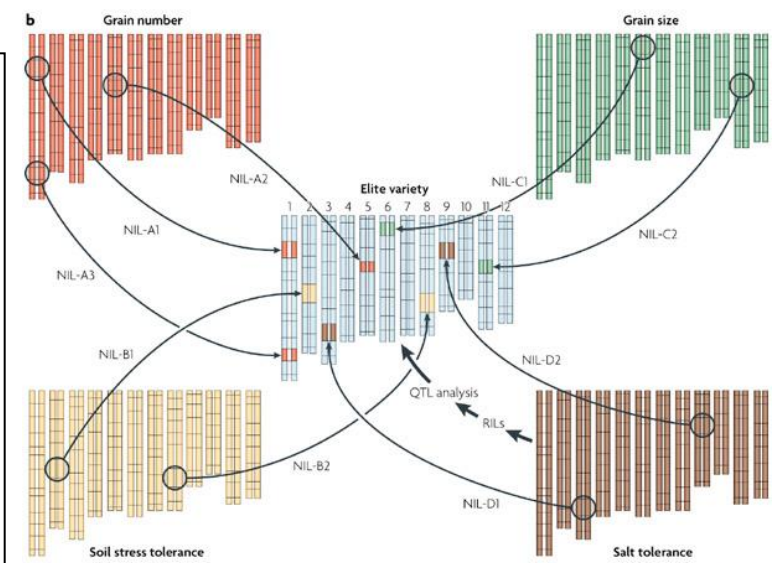
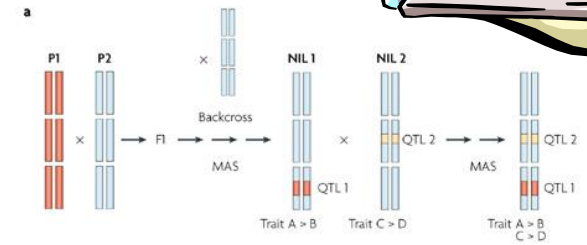
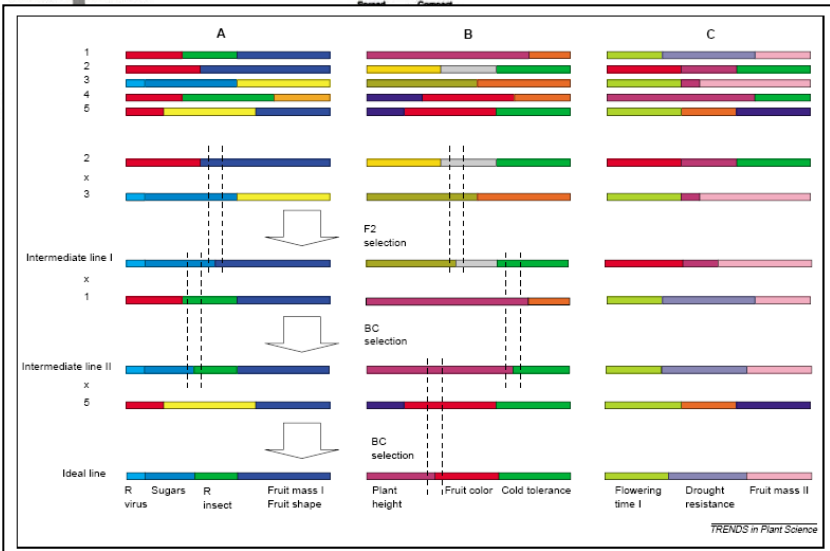
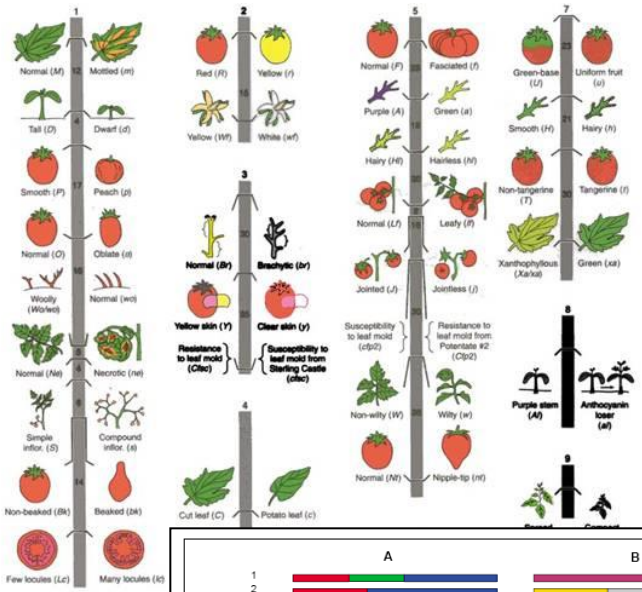




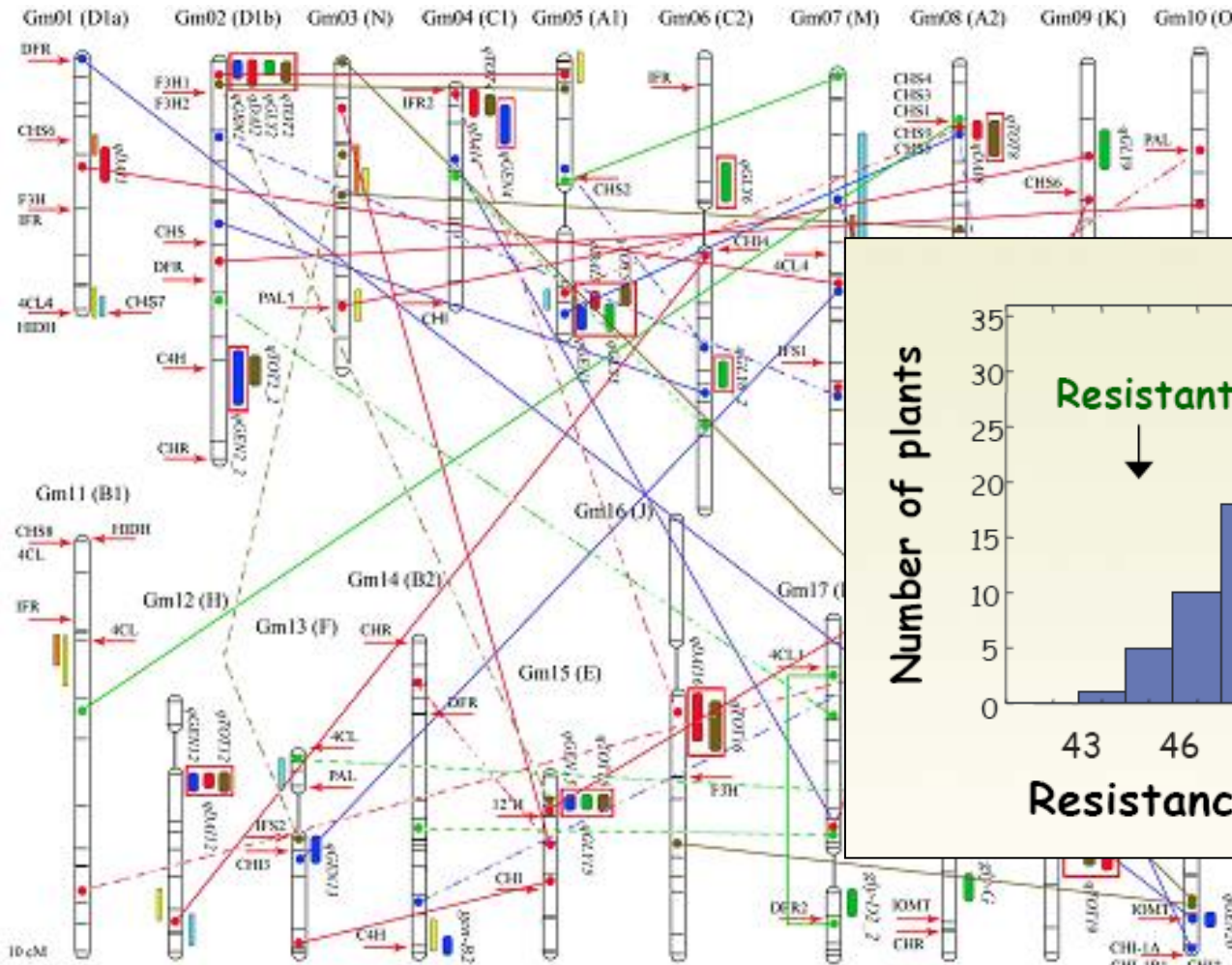
# Kvalitativní znaky



# Pyramidování genů - Breeding by design



# Kvantitativní znaky (QTLs)



interakce  
genotyp x prostředí

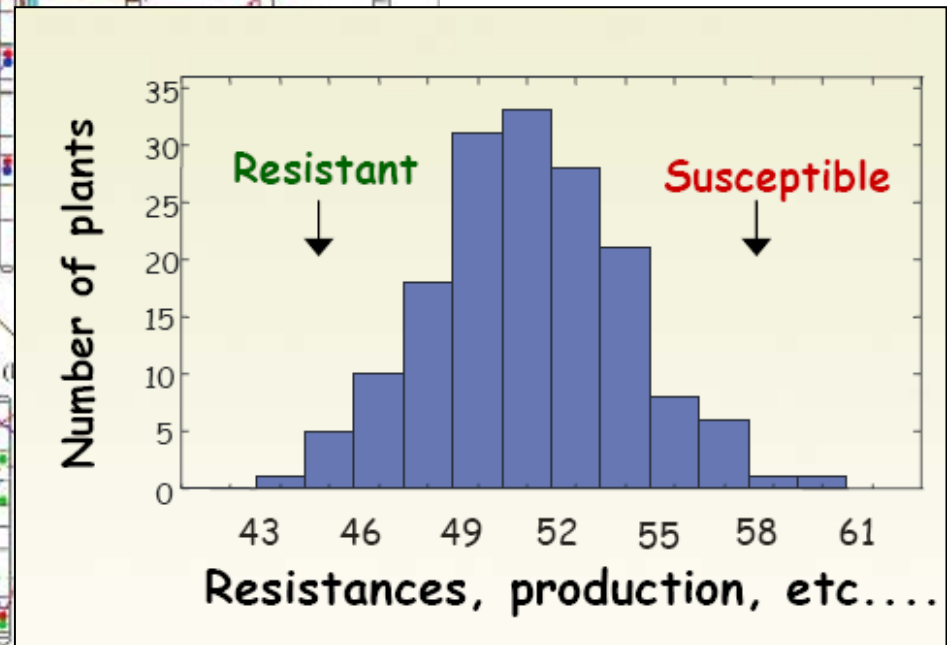
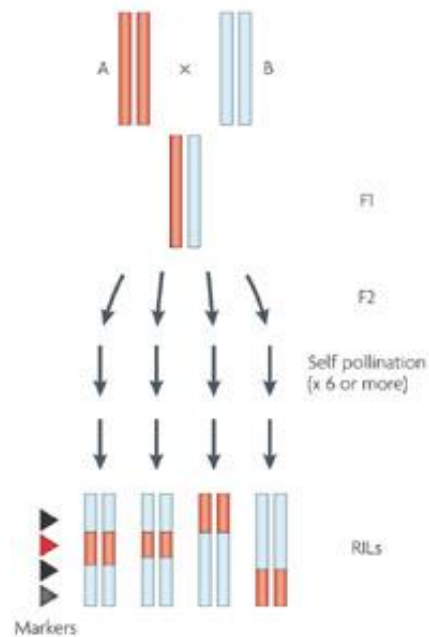


Figure 4 Environment-modulated network of additive main-effect and interacting QTL controls isoflavone accumulation. Blue ovals indicate

Gutierrez-Gonzalez et al. 2010  
BMC Plant Biology

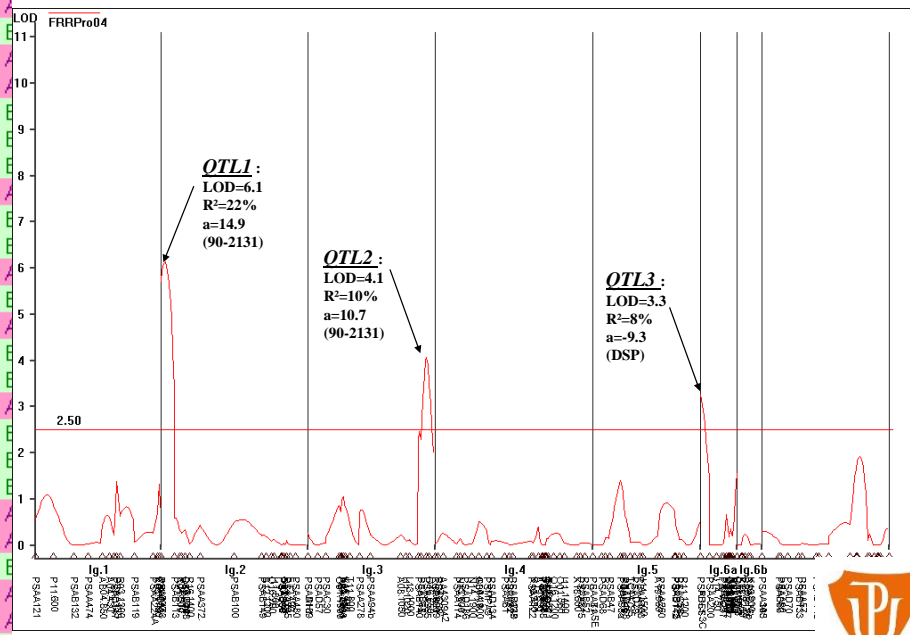
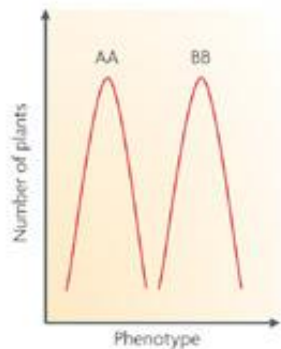
# Kvantitativní znaky (QTLs)

a QTL mapping



		Fwr1	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C
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	A7
5	Green Arrow	A	A	A	A	A	A	A	A
6	PI 179449	B	B	B	B	B	B	B	B
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	B
10	PRIL7-04	B	B	A	A	A	A	A	A
11	PRIL7-05	B	B	B	A	B	B	B	B
12	PRIL7-06	A	B	A	A	A	A	A	A
13	PRIL7-07	A	A	A	A	A	A	A	A
14	PRIL7-08	A	B	A	B	A	B	B	B
15	PRIL7-09	B	B	B	B	B	B	B	B
16	PRIL7-10	B	B	B	B	B	B	B	B
17	PRIL7-11	B	A	A	A	A	A	A	A
18	PRIL7-12	B	A	A	A	A	B	B	B
19	PRIL7-13	A	A	A	A	A	B	B	B
20	PRIL7-14	A	B	A	B	A	B	B	B
21	PRIL7-15	A	A	A	B	B	B	B	B
22	PRIL7-16	A	A	A	A	A	A	A	A
23	PRIL7-17	A	A	B	A	B	B	B	B
24	PRIL7-18	A	B	B	A	B	B	B	B
25	PRIL7-19	B	B	A	B	A	A	A	A
26	PRIL7-20	B	A	B	A	B	B	B	B
27	PRIL7-21	A	B	B	A	B	B	B	B
28	PRIL7-22	A	B	B	A	B	B	B	B
29	PRIL7-23	B	A	A	B	A	A	A	A
30	PRIL7-24	B	A	A	A	A	A	A	A
31	PRIL7-25	A	B	B	B	B	B	B	B
32	PRIL7-26	A	A	A	B	A	A	A	A

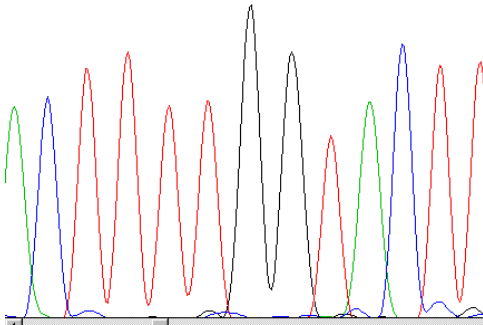
Spočívá ve analýze statistické závislosti mezi kvantitativními znaky a genetickými markery



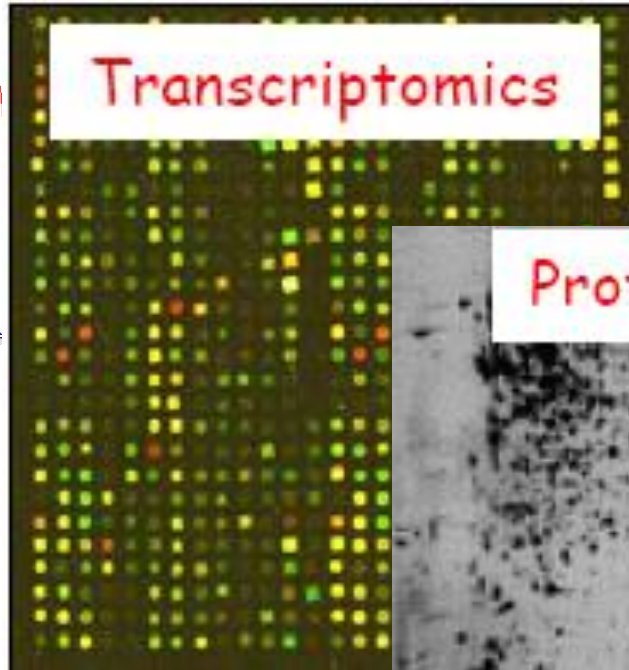
# „-omics“ postupy

A C T T T T G G T A C T T G T A T A G

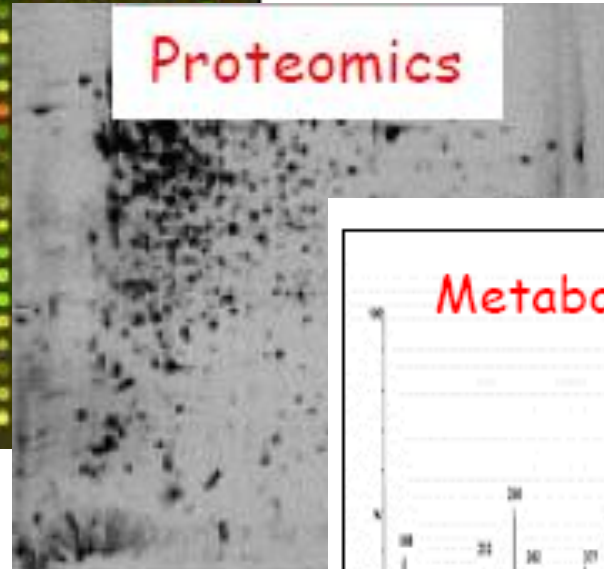
Genomics



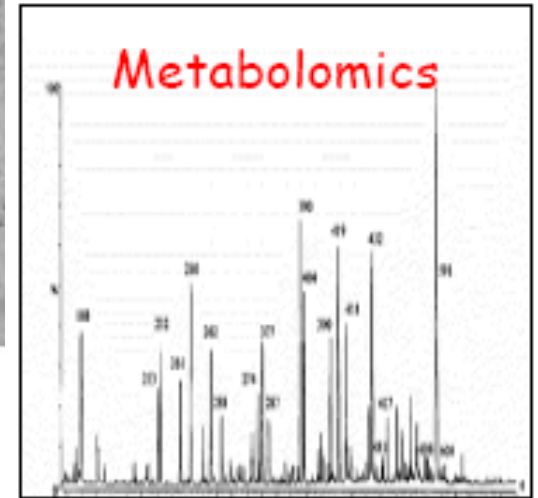
Transcriptomics



Proteomics

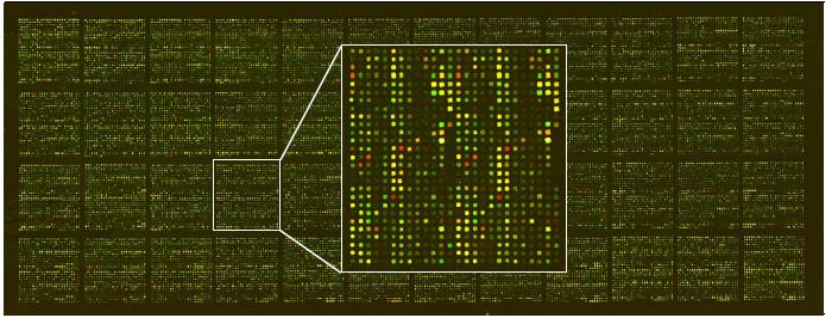


Metabolomics

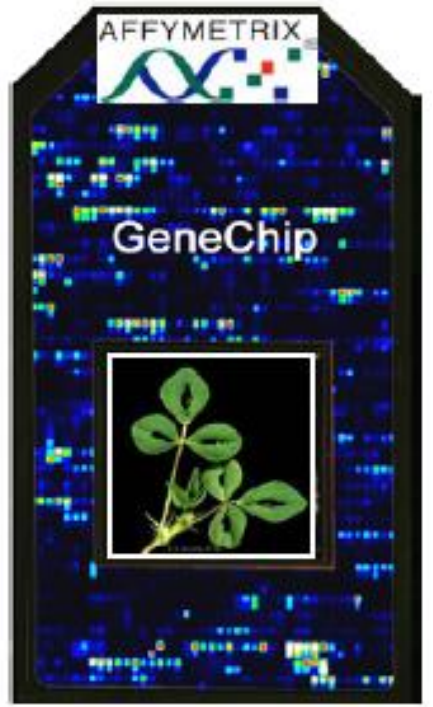
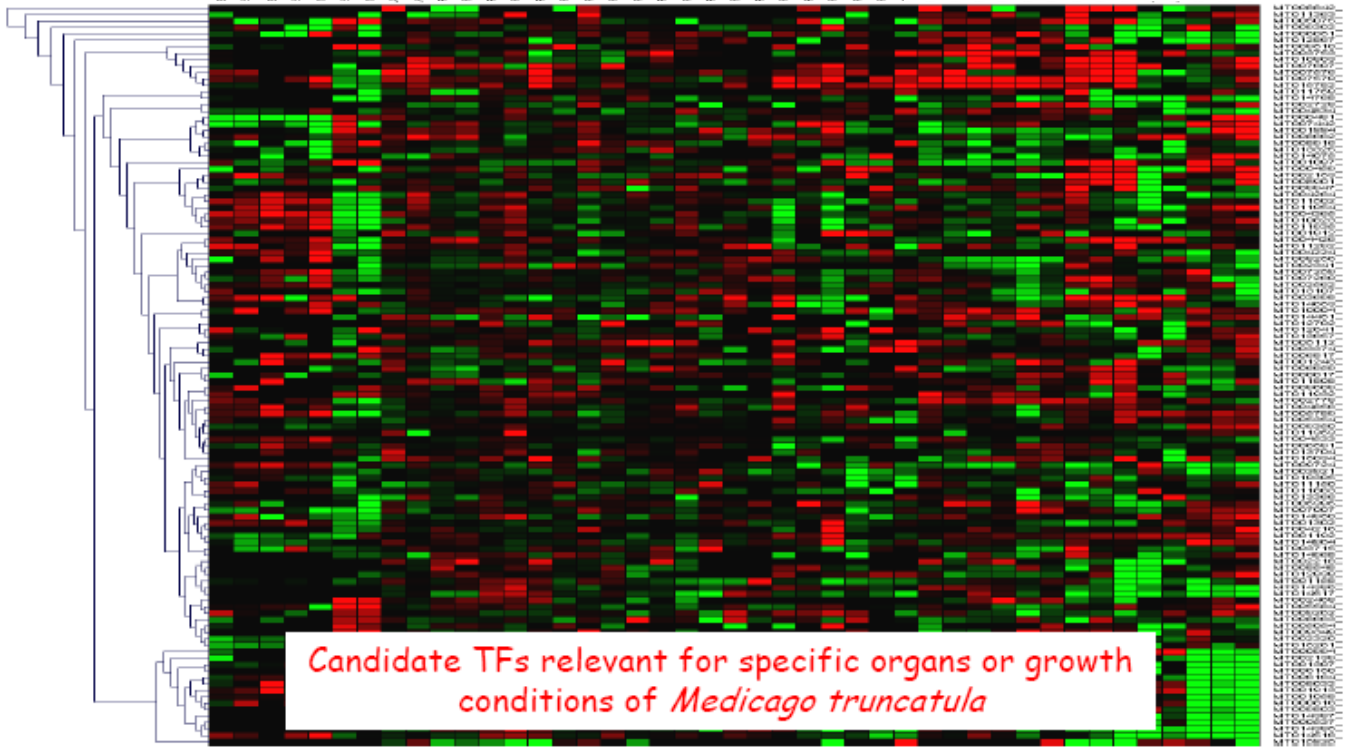


# Kandidátní geny- transkriptomika

Seed development	Biotic stress: Interaction of resistant and susceptible cu and root pathogens
Seed development 1 (SPF 105)	
Seed development 1 (SPF 102)	
Seed development 1 (SPF 103)	
Seed development 1 (SPF 104)	
Seed development 1 (SPF 105)	
Seed development 1 (SPF 106)	
Seed development 1 (SPF 107)	
Seed development 1 (SPF 108)	
Seed development 1 (SPF 109)	
Seed development 1 (SPF 110)	
Seed development 1 (SPF 111)	
Seed development 1 (SPF 112)	
Seed development 1 (SPF 113)	
Seed development 1 (SPF 114)	
Seed development 1 (SPF 115)	
Seed development 1 (SPF 116)	
Seed development 1 (SPF 117)	
Seed development 1 (SPF 118)	
Seed development 1 (SPF 119)	
Seed development 1 (SPF 120)	
Seed development 1 (SPF 121)	
Seed development 1 (SPF 122)	
Seed development 1 (SPF 123)	
Seed development 1 (SPF 124)	
Seed development 1 (SPF 125)	
Seed development 1 (SPF 126)	
Seed development 1 (SPF 127)	
Seed development 1 (SPF 128)	
Seed development 1 (SPF 129)	
Seed development 1 (SPF 130)	
Seed development 1 (SPF 131)	
Seed development 1 (SPF 132)	
Seed development 1 (SPF 133)	
Seed development 1 (SPF 134)	
Seed development 1 (SPF 135)	
Seed development 1 (SPF 136)	
Seed development 1 (SPF 137)	
Seed development 1 (SPF 138)	
Seed development 1 (SPF 139)	
Seed development 1 (SPF 140)	
Seed development 1 (SPF 141)	
Seed development 1 (SPF 142)	
Seed development 1 (SPF 143)	
Seed development 1 (SPF 144)	
Seed development 1 (SPF 145)	
Seed development 1 (SPF 146)	
Seed development 1 (SPF 147)	
Seed development 1 (SPF 148)	
Seed development 1 (SPF 149)	
Seed development 1 (SPF 150)	
Seed development 1 (SPF 151)	
Seed development 1 (SPF 152)	
Seed development 1 (SPF 153)	
Seed development 1 (SPF 154)	
Seed development 1 (SPF 155)	
Seed development 1 (SPF 156)	
Seed development 1 (SPF 157)	
Seed development 1 (SPF 158)	
Seed development 1 (SPF 159)	
Seed development 1 (SPF 160)	
Seed development 1 (SPF 161)	
Seed development 1 (SPF 162)	
Seed development 1 (SPF 163)	
Seed development 1 (SPF 164)	
Seed development 1 (SPF 165)	
Seed development 1 (SPF 166)	
Seed development 1 (SPF 167)	
Seed development 1 (SPF 168)	
Seed development 1 (SPF 169)	
Seed development 1 (SPF 170)	
Seed development 1 (SPF 171)	
Seed development 1 (SPF 172)	
Seed development 1 (SPF 173)	
Seed development 1 (SPF 174)	
Seed development 1 (SPF 175)	
Seed development 1 (SPF 176)	
Seed development 1 (SPF 177)	
Seed development 1 (SPF 178)	
Seed development 1 (SPF 179)	
Seed development 1 (SPF 180)	
Seed development 1 (SPF 181)	
Seed development 1 (SPF 182)	
Seed development 1 (SPF 183)	
Seed development 1 (SPF 184)	
Seed development 1 (SPF 185)	
Seed development 1 (SPF 186)	
Seed development 1 (SPF 187)	
Seed development 1 (SPF 188)	
Seed development 1 (SPF 189)	
Seed development 1 (SPF 190)	
Seed development 1 (SPF 191)	
Seed development 1 (SPF 192)	
Seed development 1 (SPF 193)	
Seed development 1 (SPF 194)	
Seed development 1 (SPF 195)	
Seed development 1 (SPF 196)	
Seed development 1 (SPF 197)	
Seed development 1 (SPF 198)	
Seed development 1 (SPF 199)	
Seed development 1 (SPF 200)	



70mer array

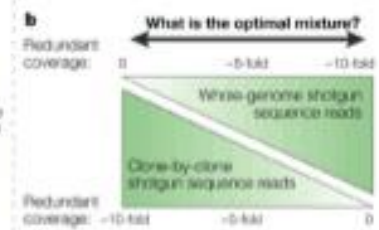
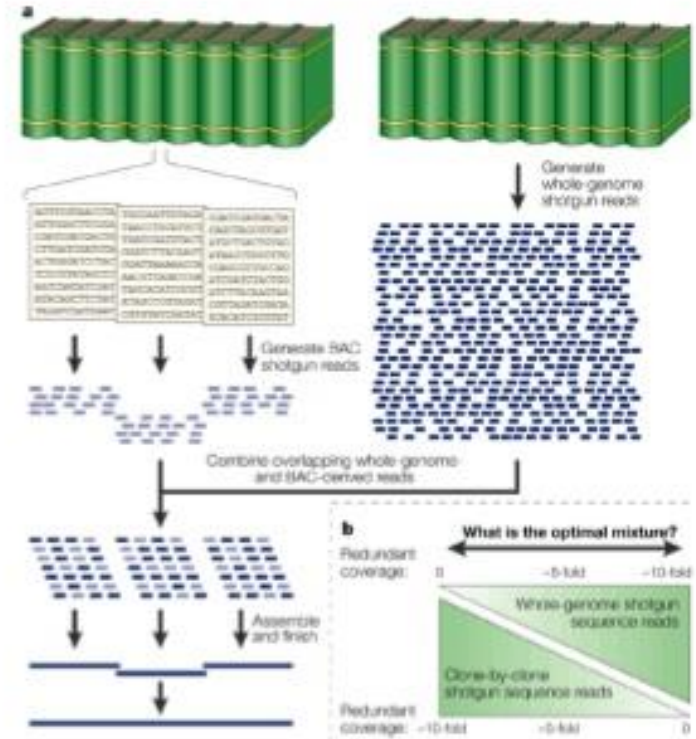
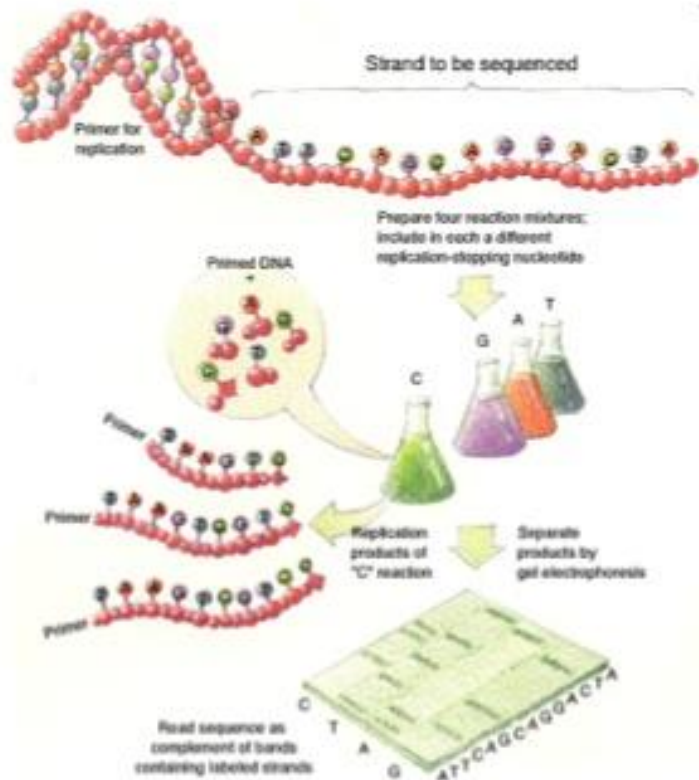


# Sequencing: from DNA to Genomes

Sanger chain termination (1977)



Hierarchical and Shotgun sequencing (1996)



Nature Reviews | Genetics



HiSeqX™

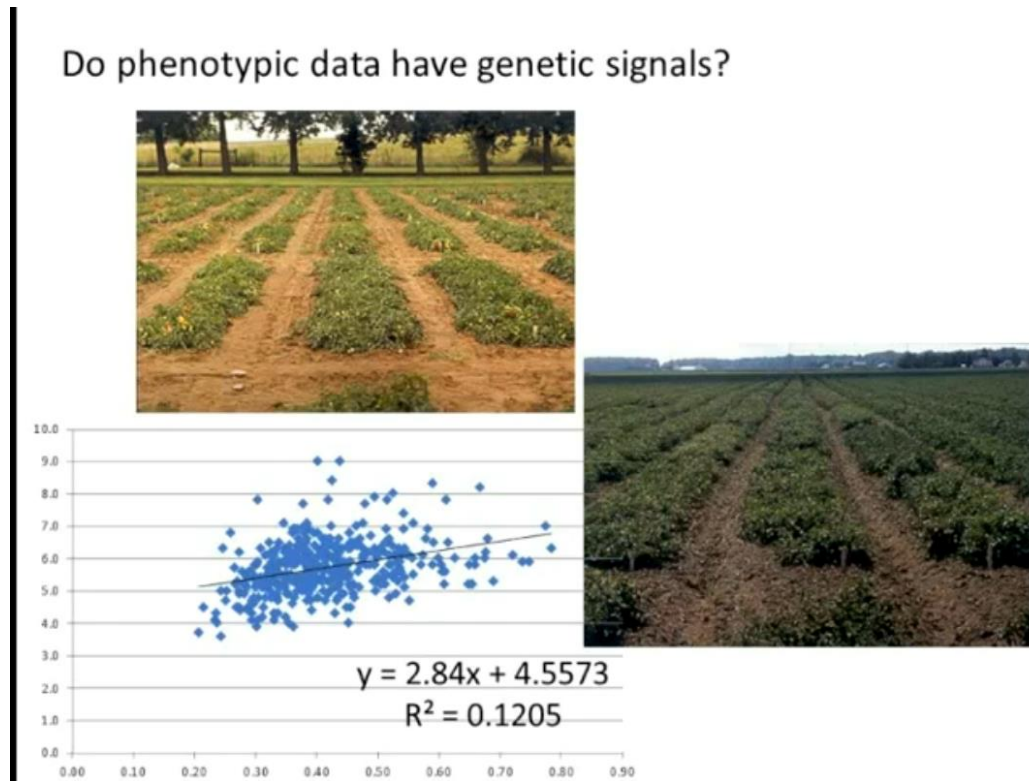
21/7/15	29/7/15
012	012
4018	4019

7.7.15  
7.8.15



# Máme DNA sekvence genomu

## Máme fenotypická data - pozorování

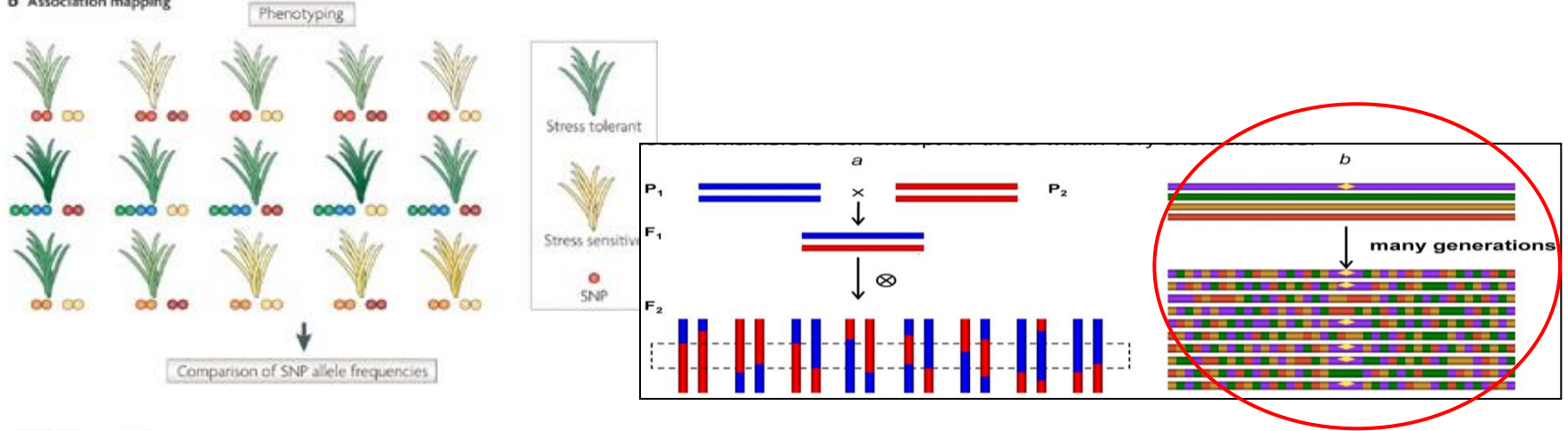


Chceme je spojit, asociovat

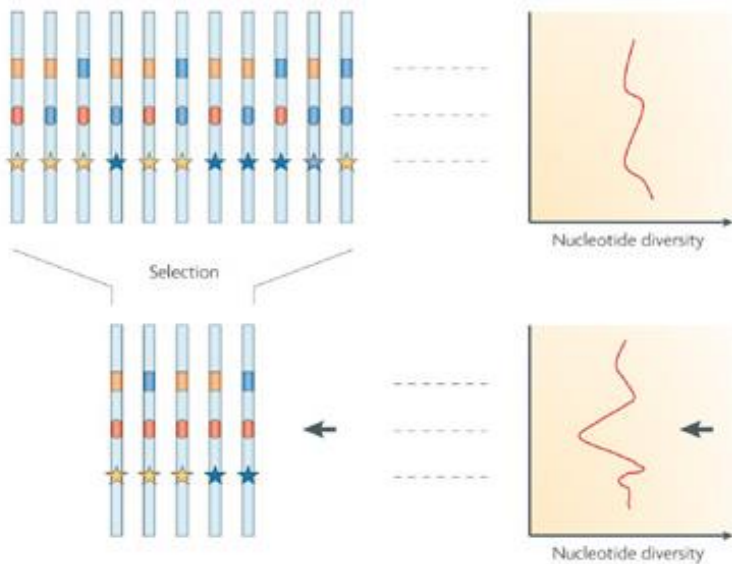
tj. ideálně za co který gen zodpovídá

# Princip asocičního mapování

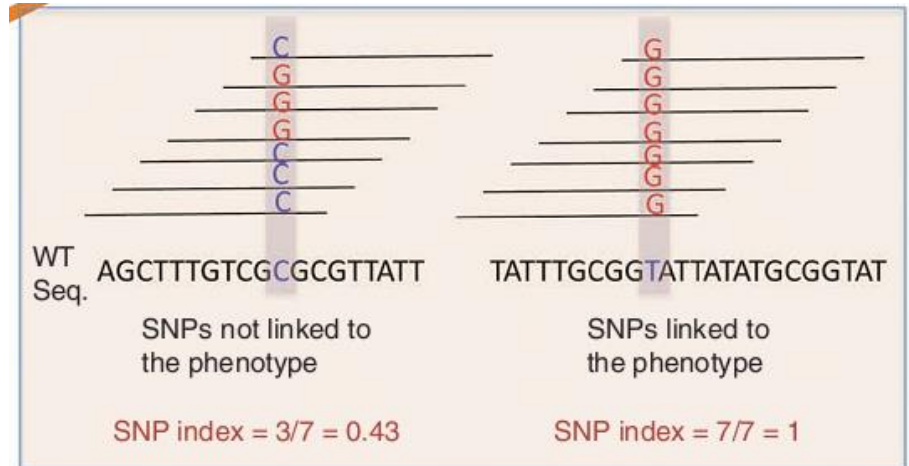
b Association mapping



c Selection screening



využití rekombinací předchozích generací



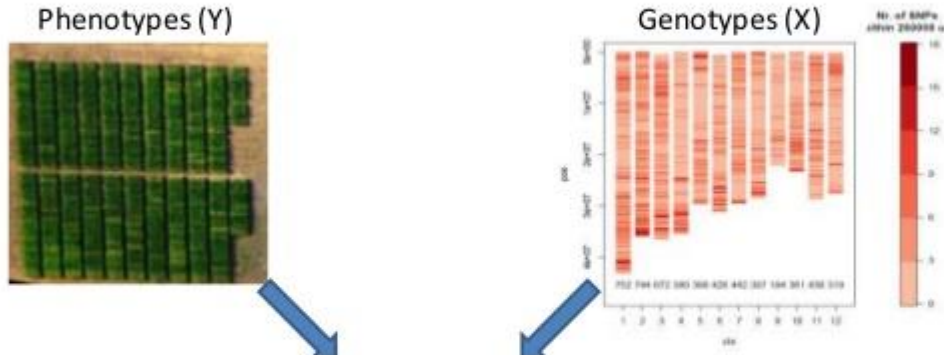
Nature Reviews | Genetics

Statistická asociace dané alely (SNPu) s fenotypovým projevem  
Ideálně napříč genomem, mim 100-1000 genů najednou



# Genomická selekce

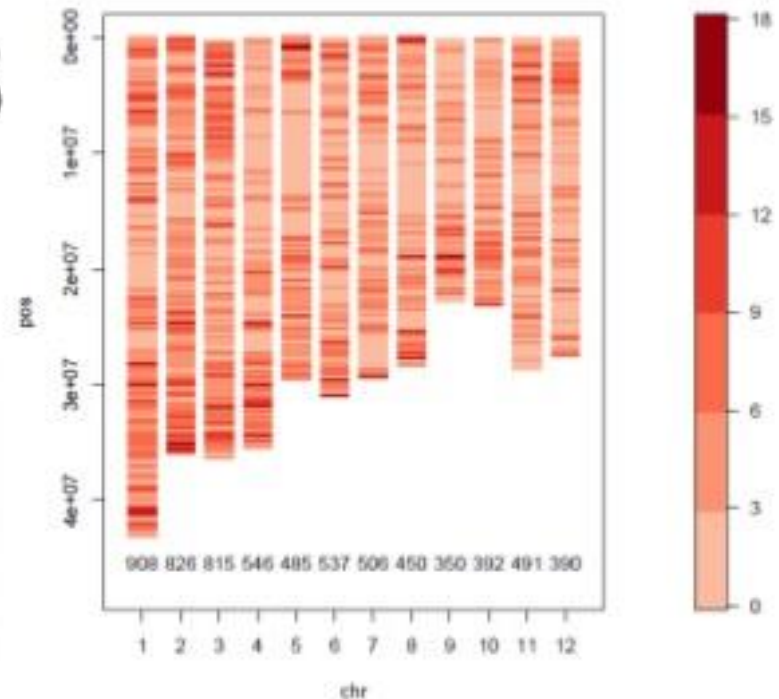
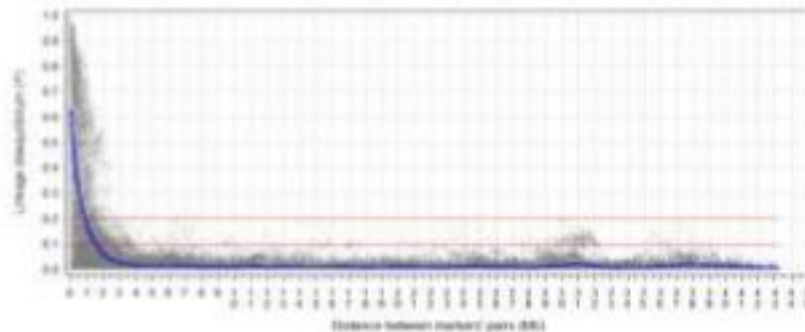
343 families  
(from a SP with 10 cycles of recombination)



# GBS technology

6,874 SNP with MAF  $\geq$  2.5% (1 marker every  $\sim$  57 kb)  
4,098 SNP with MAF  $\geq$  10.0% (1 marker every  $\sim$  95 kb)

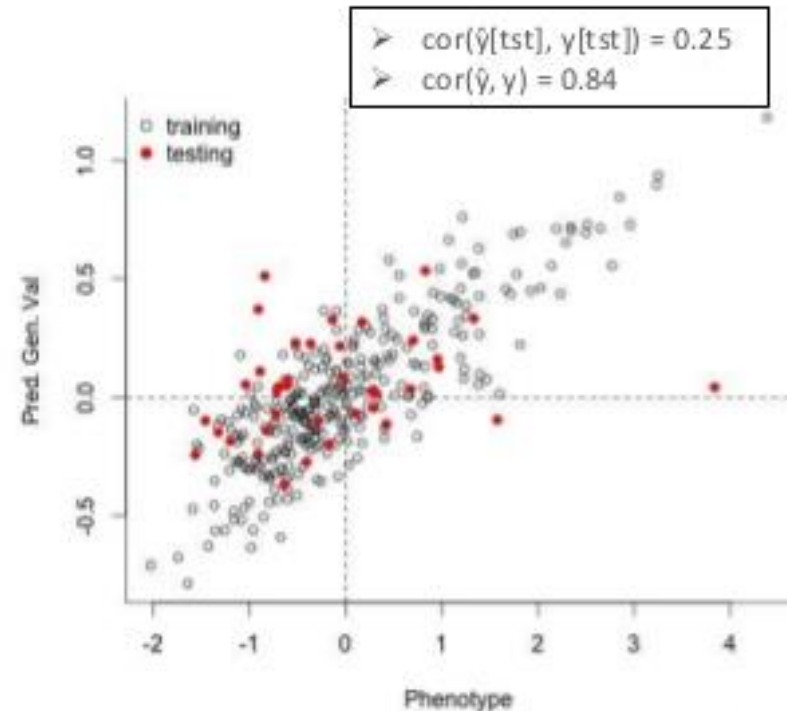
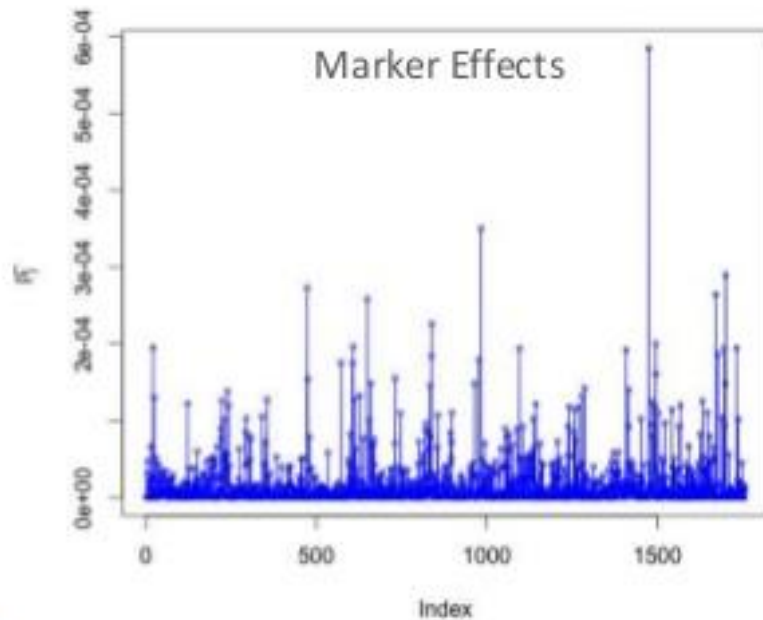
LD decay curve for chromosome 1 and MAF  $\geq$  10%



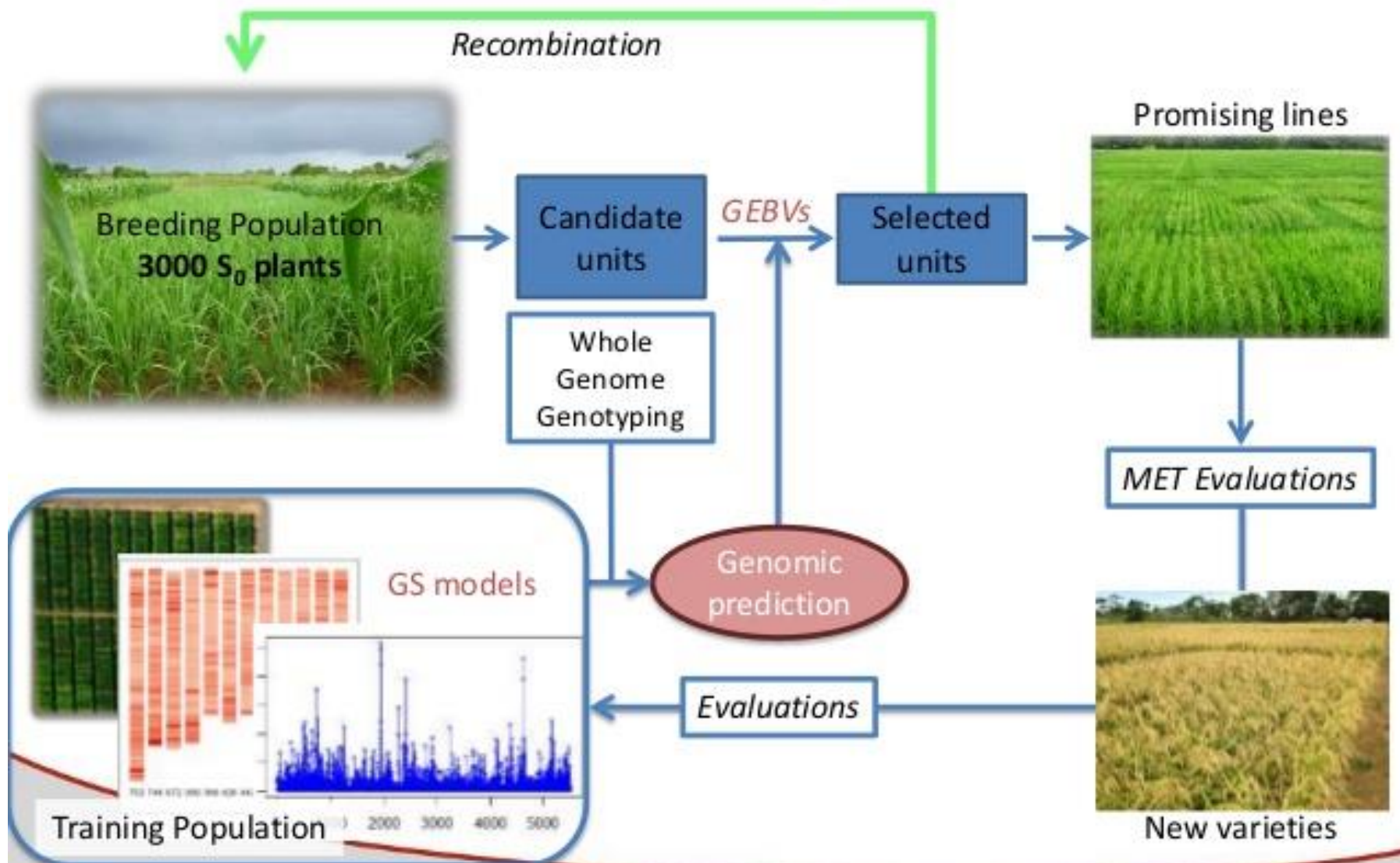
For  $\frac{1}{2}$  initial  $r^2$ , the average extent of LD is  $\sim$  **0.639 Mb**, i.e. at least 610 markers are required to cover the whole genome

# Regression model and marker effects

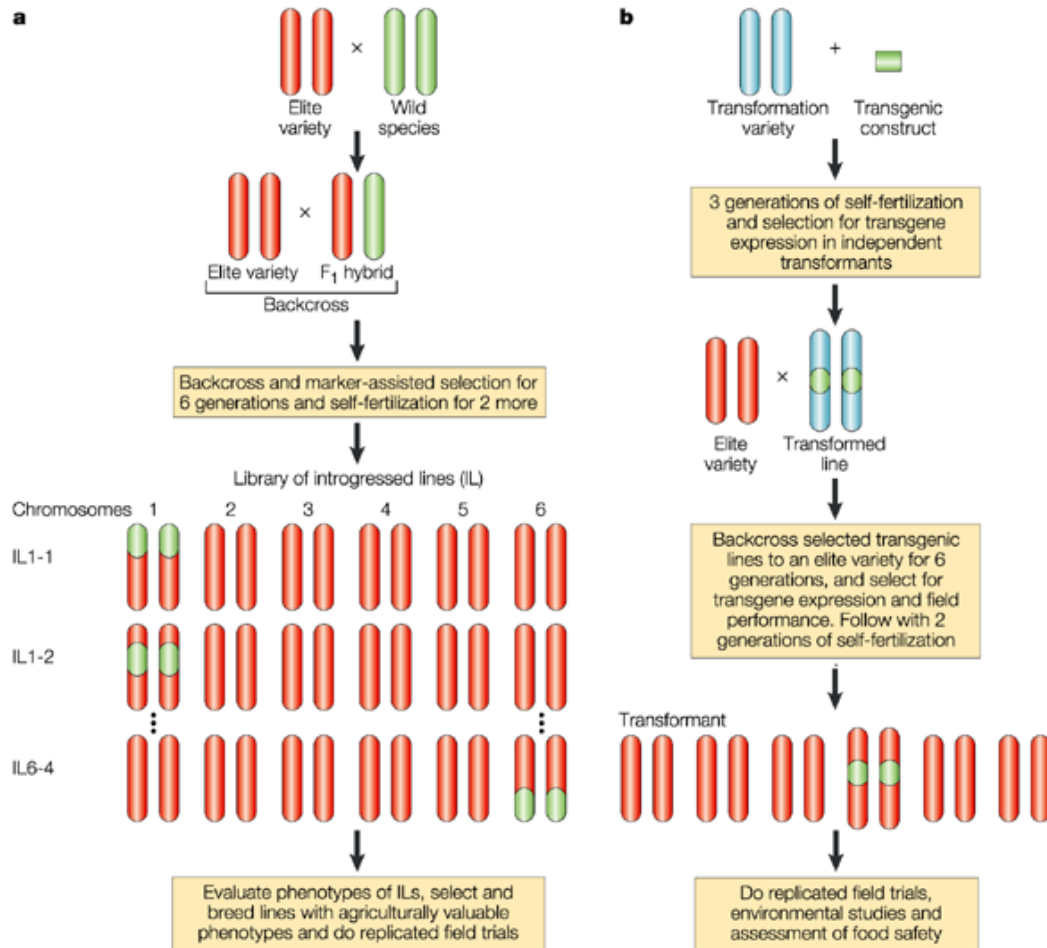
Bayesian LASSO (MAF2.5 -  $r^2 \leq 0.75$ ) with 9-fold CV -- Grain yield



# The RGS breeding scheme

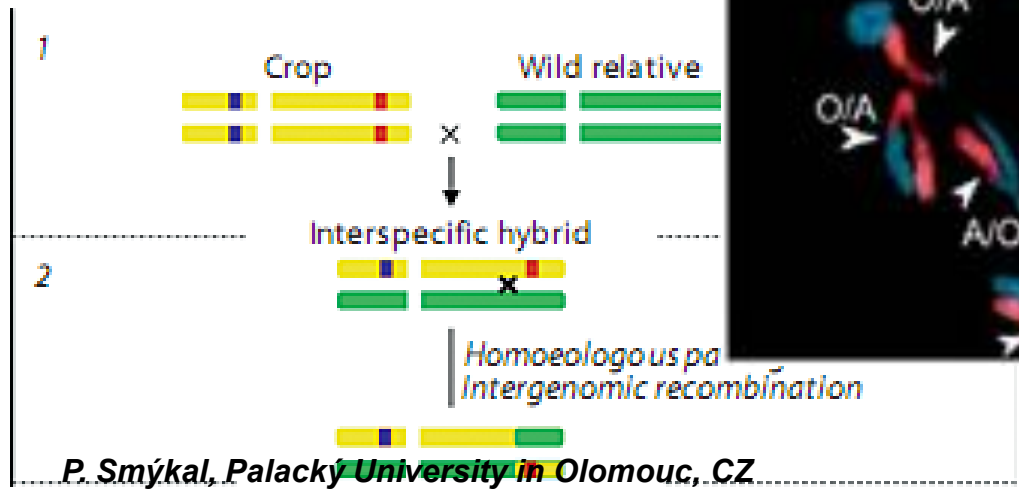
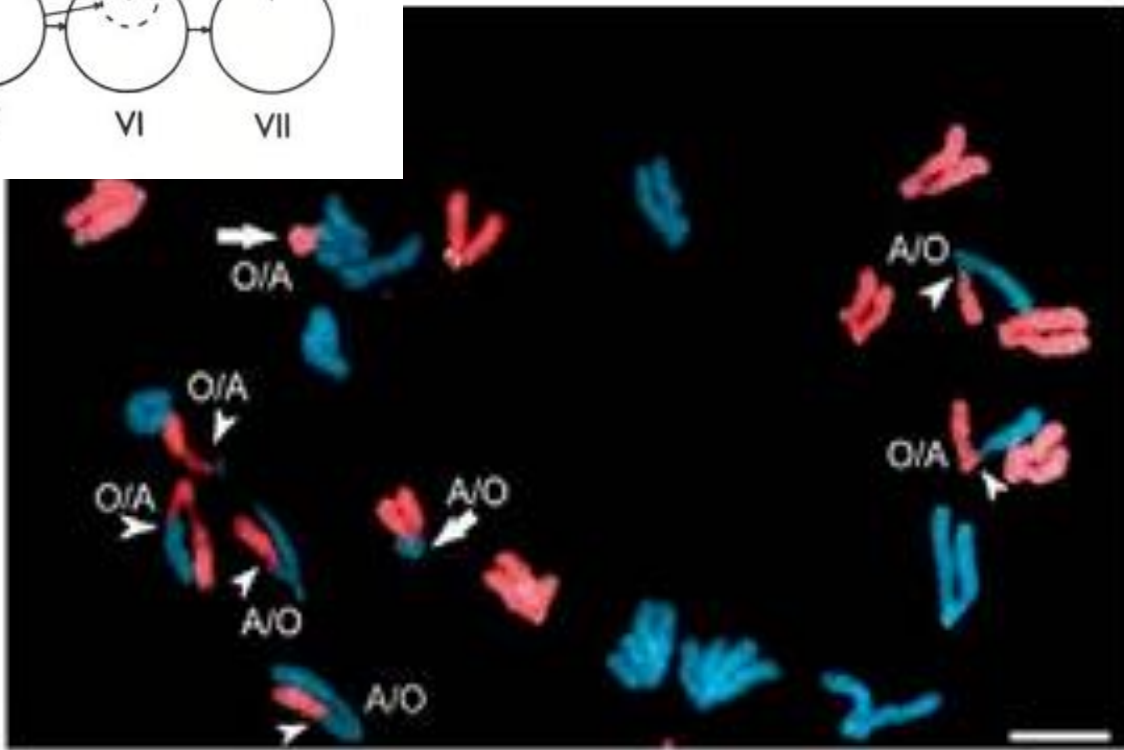
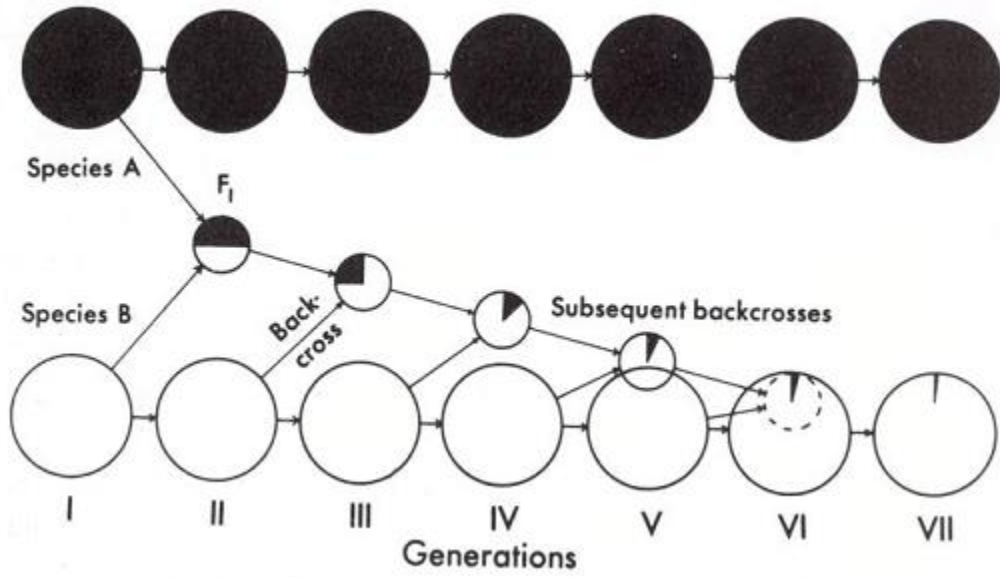


# Rozšíření užitečných vlastností introgrese a transgenose

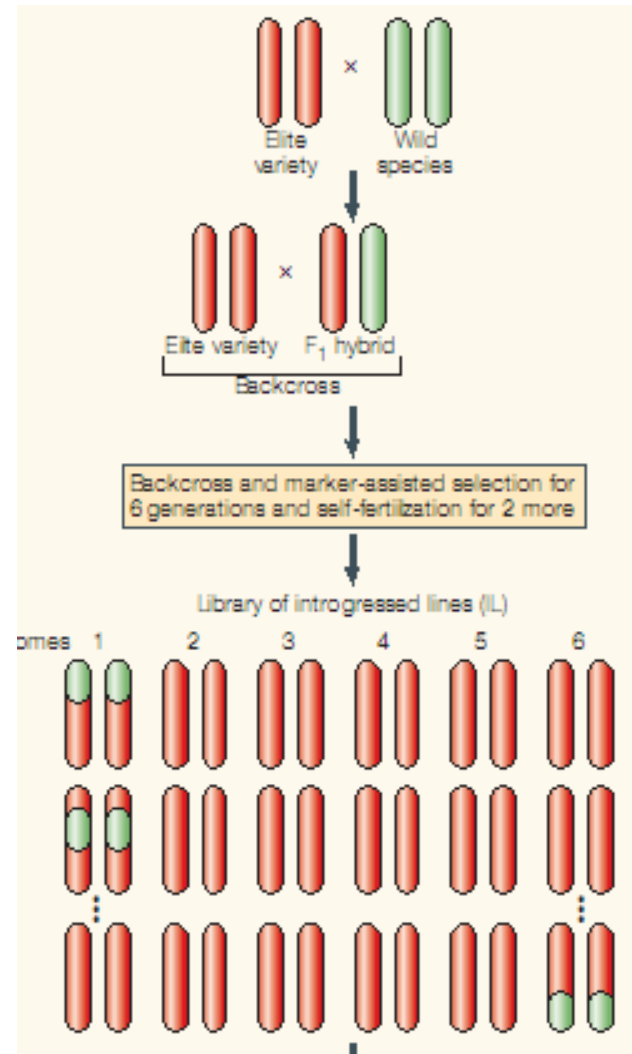
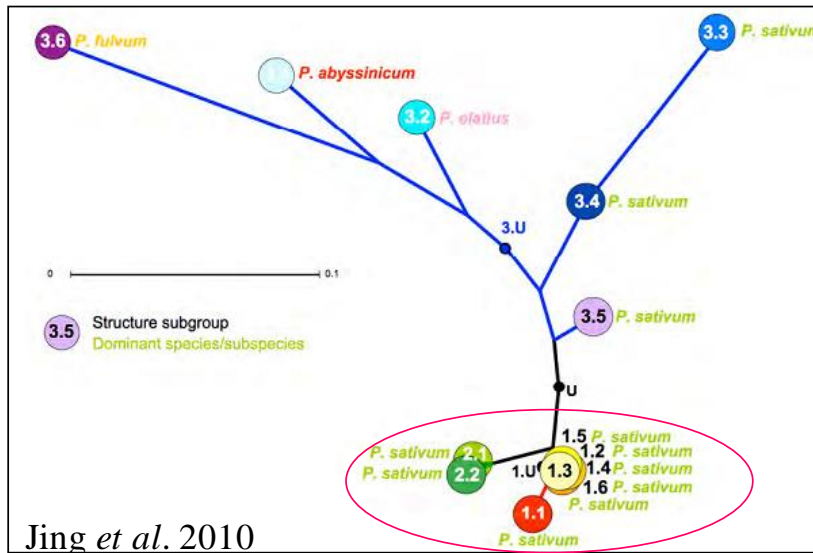




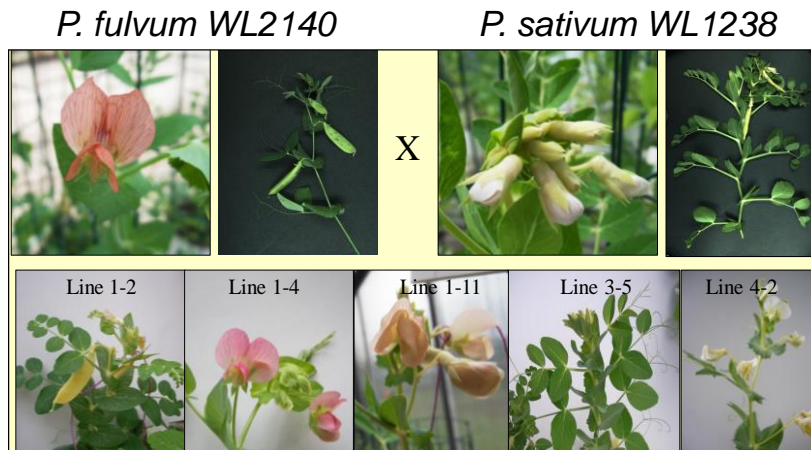
# Crop - wild relatives introgression



# Use of crop wild relatives to broad diversity



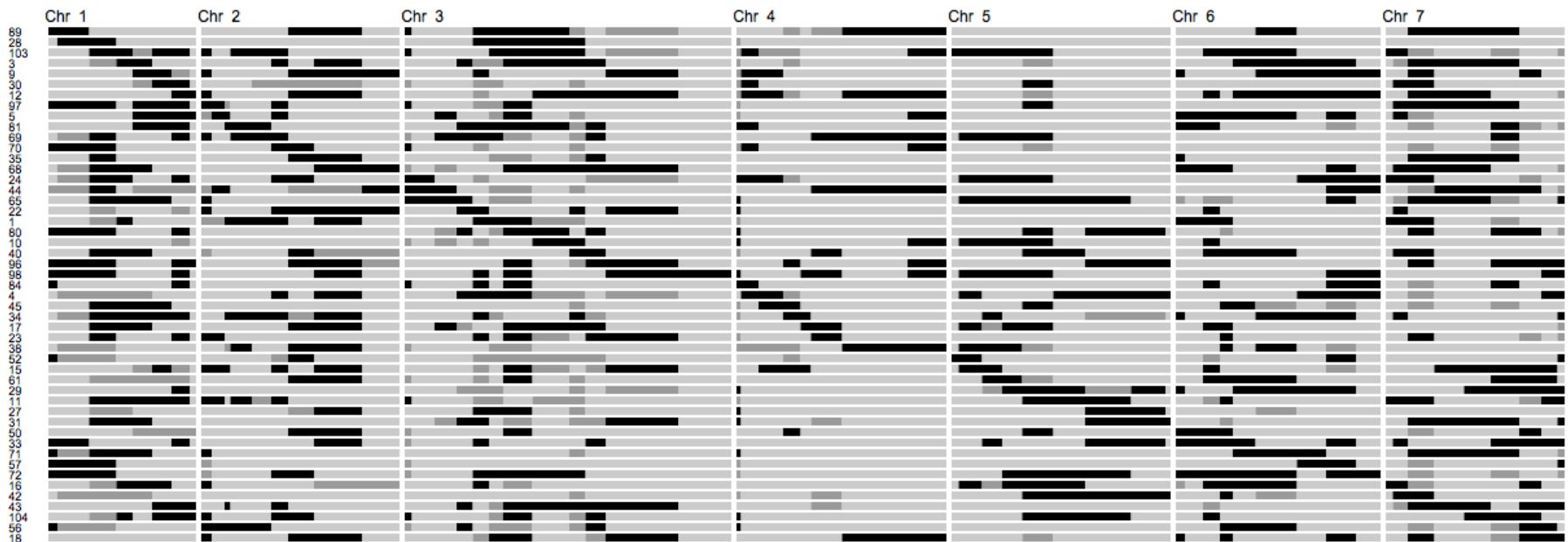
Zamir, 2001 Nat Rev Genet





# Introgression lines using *P. fulvum* wild parent and cultivated pea cv. Terno as recurrent parent

■ *P. fulvum*    □ *P. sativum*    ▒ heterozygous fragment



# Marker Assisted Breeding/Selection (MAS)

šlechtění

molekulární biologie

Marker assisted breeding

# Laboratorní, skleníkové, polní testování fenotypu

inokulace



pěstování



hodnocení



# Vazba markeru se znakem - nepřímý marker

**Marker A**

X

**GEN** (např. rezistence)



5 cM (vzdálenost)

Spolehlivost při selekci : **95%**

Spolehlivost při selekci: **99,5%**

**Marker A**

X

**GEN**

X

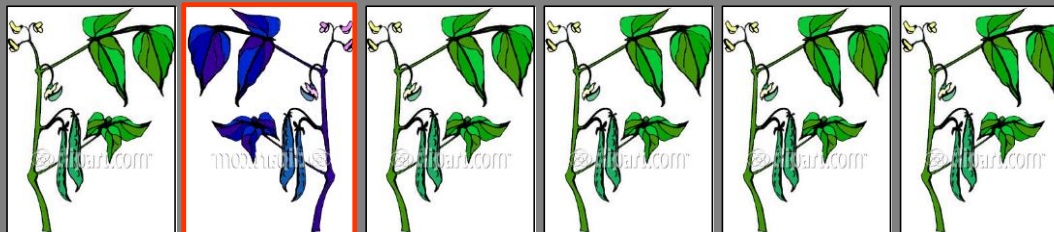
**Marker B**



5 cM (vzdálenost)

5 cM

Výsledek selekce s použitím nepřímého markeru



Rezistentní

**Náchylná**

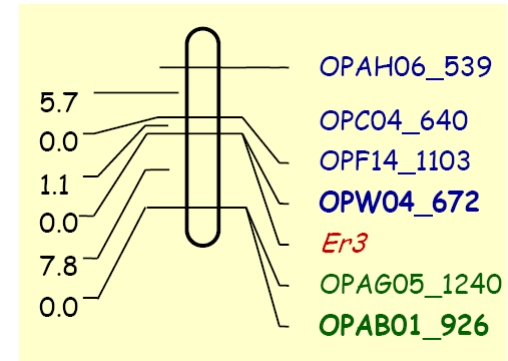
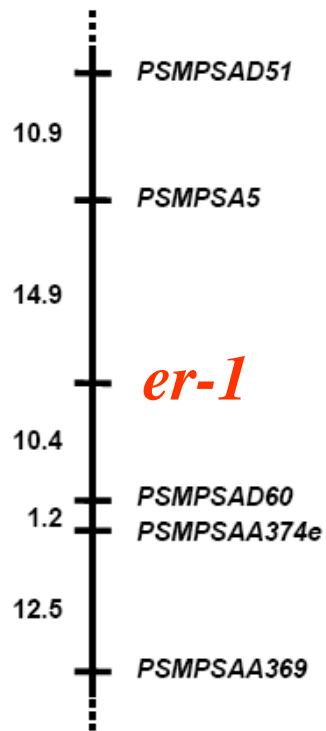
Rezistentní

Rezistentní

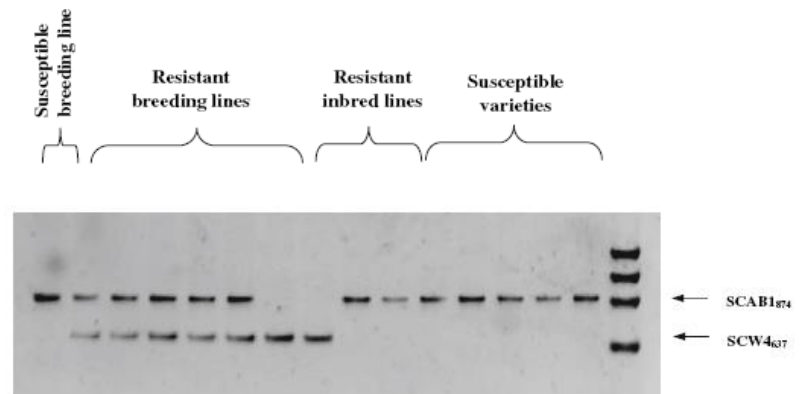
Rezistentní

Rezistentní

# Padlí hrachu (*Erysiphe pisi*)



## *P. fulvum* – dominantní Er-3 gen



## Recesivní er-1 gen

# 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





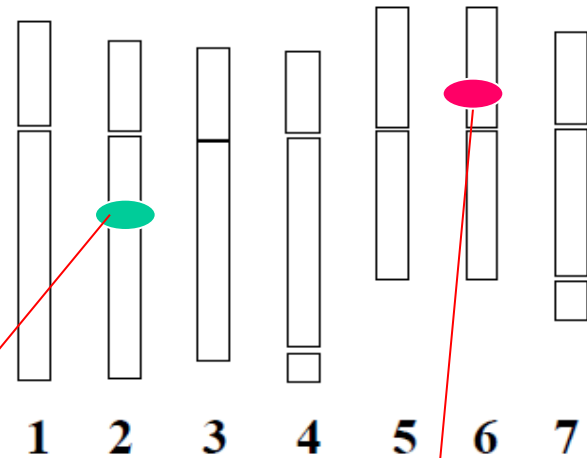
# Classical testing of phenotype during the breeding process



Time, space  
and  
resources  
consuming  
process



# Resistance to PSbMV in pea

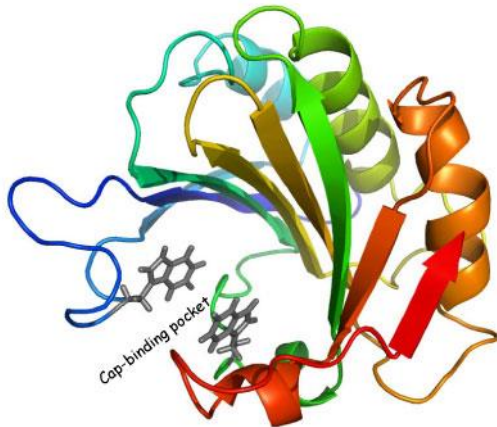


**LG II**

**LG VI**

*Pea seed-borne mosaic virus P2*  
*Bean common mosaic virus (BCMV)*  
*Pea mosaic virus*

*Pea seed-borne mosaic virus P1, P3, P4*  
*Clover yellow vein virus (CIYVV)*  
*Bean yellow mosaic virus (BYMV-W)*



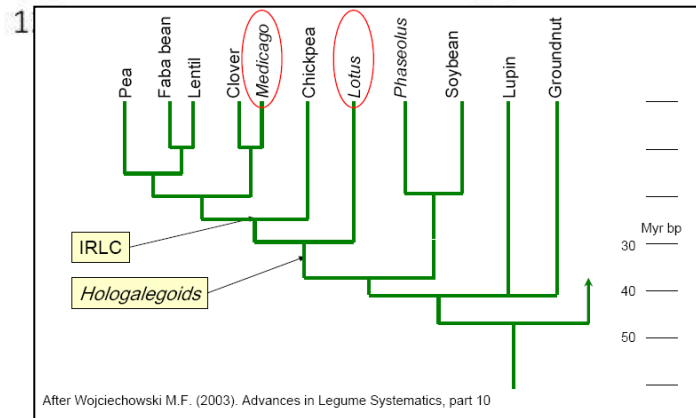
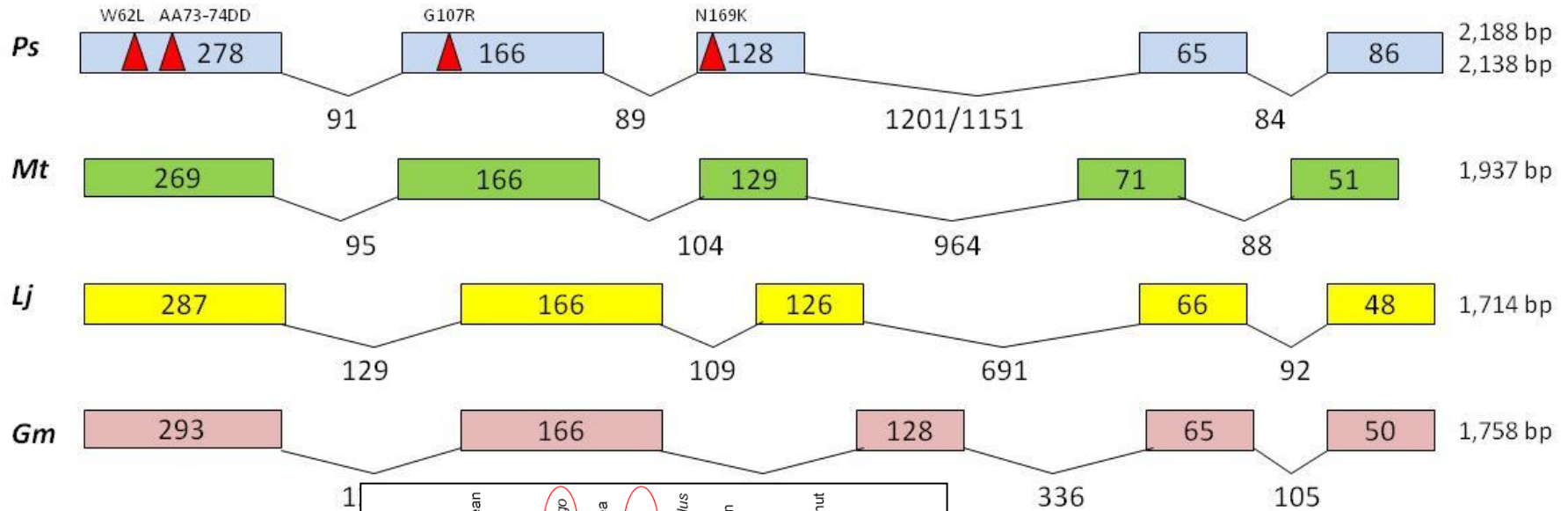
Pea *eIF4E* structure  
 Ashby et al. 2011

lian eIF4E

locus *sbm-2*

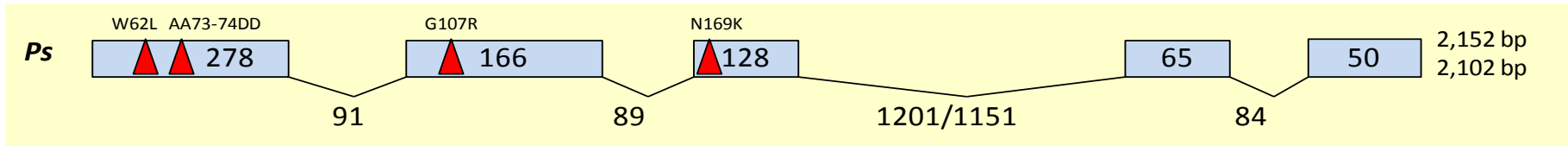
locus *sbm-1*

# Translational genomics approach used to identify pea *eIF4E* gene as *sbm-1* locus

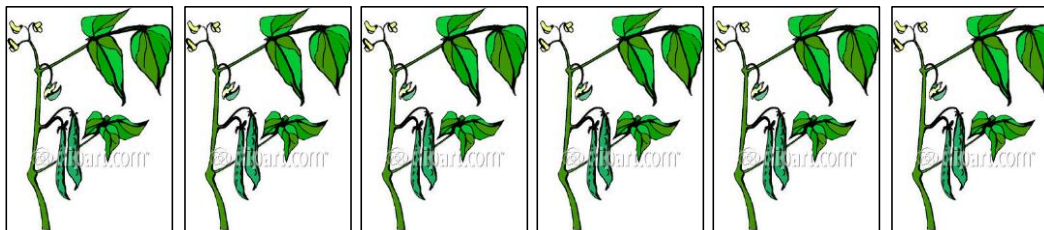
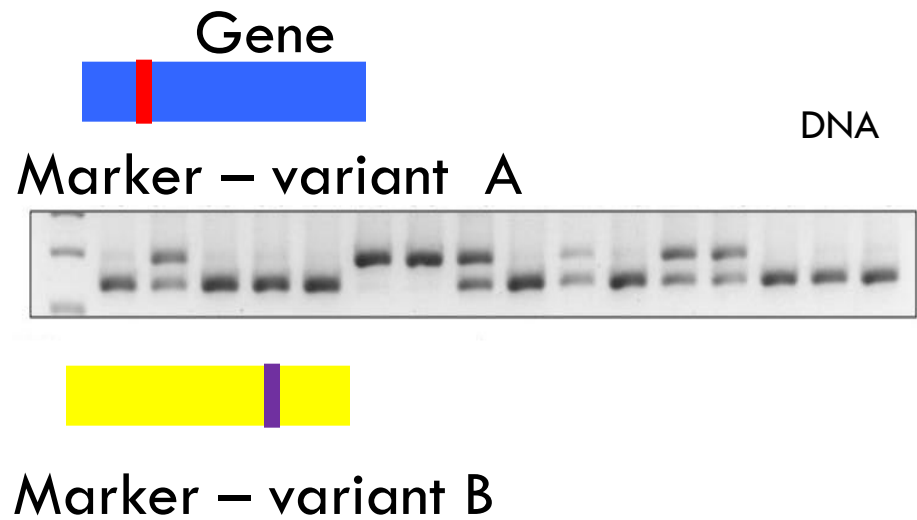


After Wojciechowski M.F. (2003). Advances in Legume Systematics, part 10

# Gene/allele specific (ideal) marker



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



R R R R R R

Selection efficiency  
100 %

# Marker assisted selection (MAS) within pea breeding process



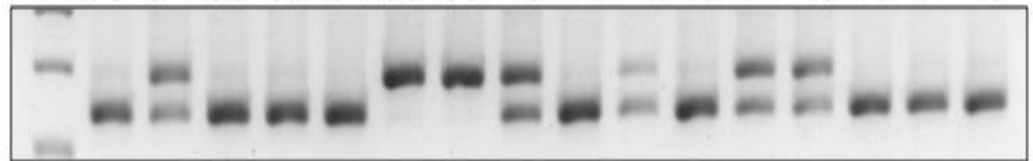
Garden pea cv. „**TWINSET**“

## Resistances

er *Erysiphe pisi*

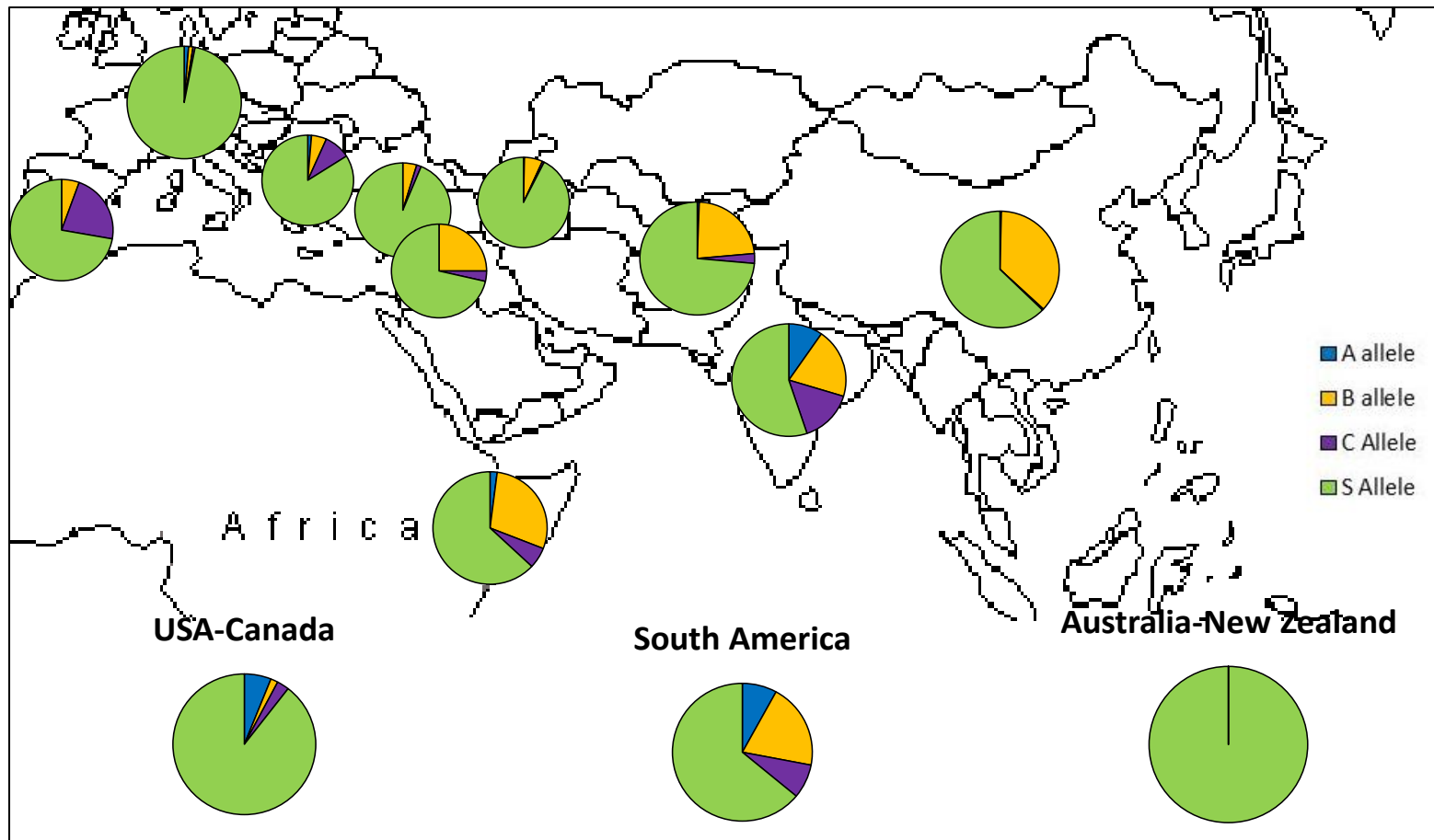
Fw *Fusarium oxysporum*

sbm-1 PSbMV



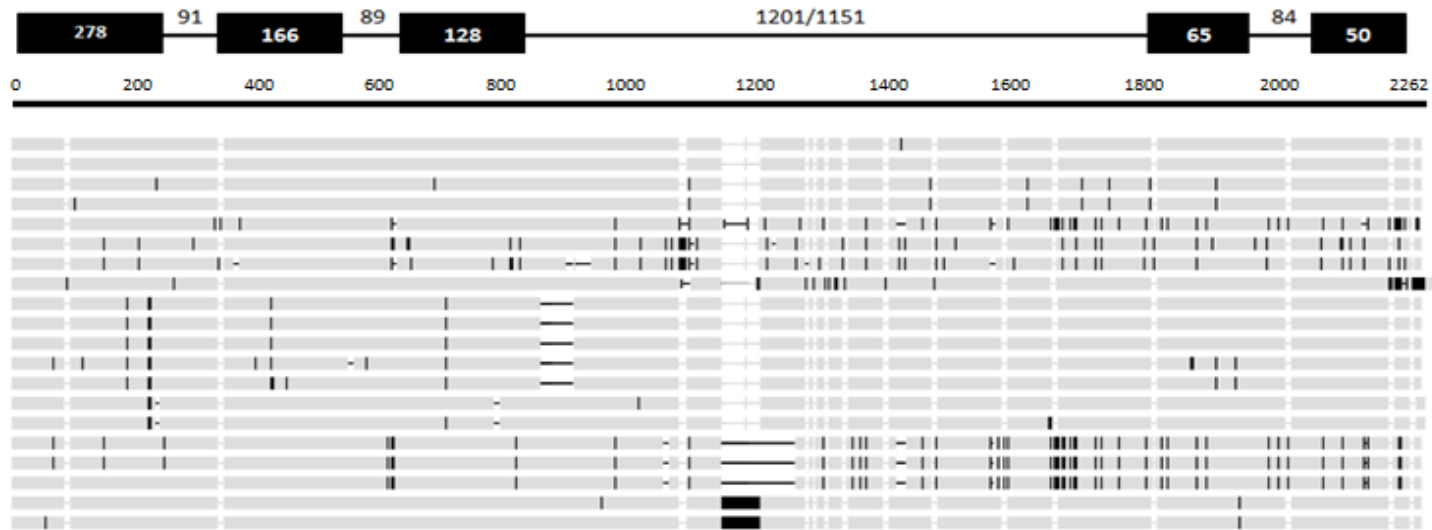
**Is there more allelic variation  
within pea germplasm ?**

# Geographical distribution of *eIF4E* alleles in 2803 pea accessions



Konečná et al. PLOS One 2014

# New *eIF4E* alleles found within cultivated pea germplasm

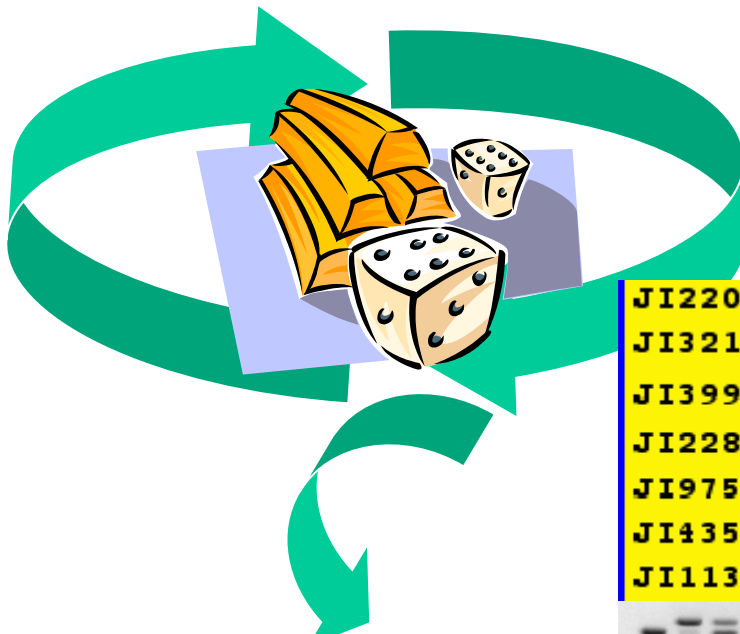
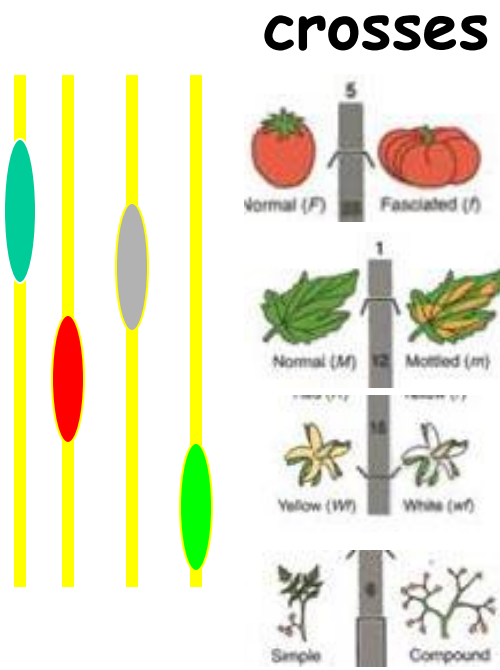


Konečná et al. PLOS One 2014

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



# Phenotype *versus* genotype



**New variety**

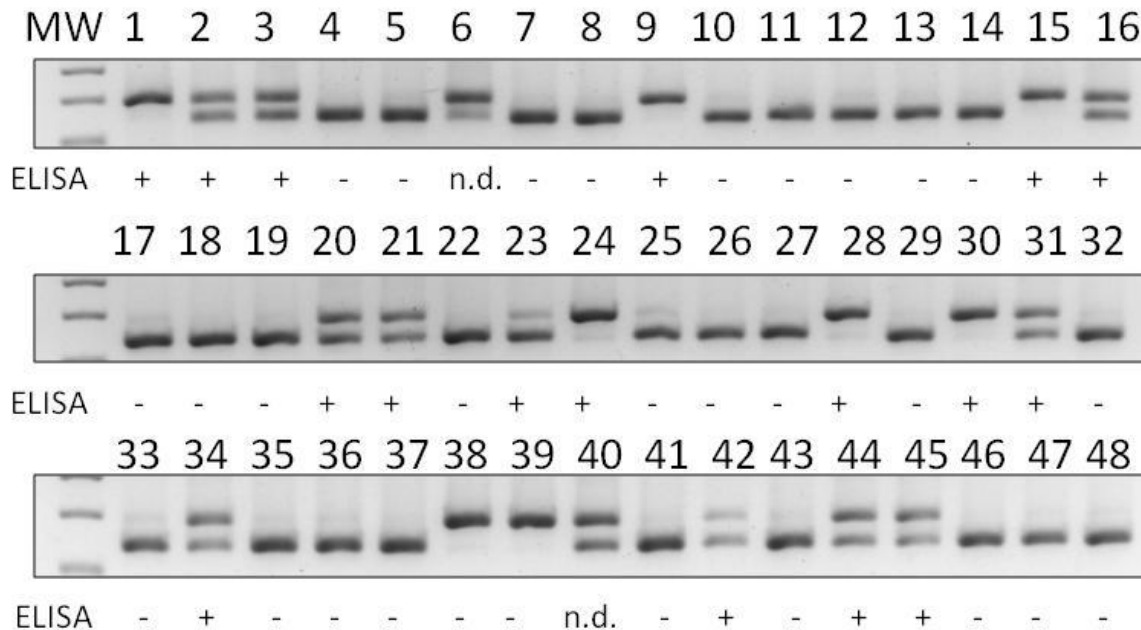
J12200	G	C	G	G	G
J1321	G	C	G	G	G
J1399	G	C	A	G	G
J1228	G	C	A	G	G
J1975	G	T	G	T	A
J1435	G	T	G	T	A
J1113	G	T	G	T	A

**Selection aided by DNA analysis**



# 100% spolehlivost DNA analýz versus 75% virologické testování

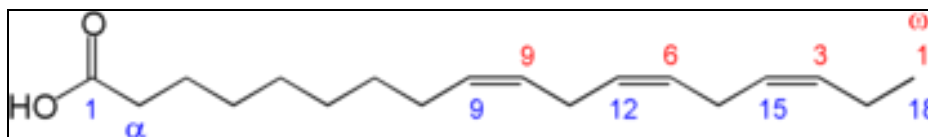
plus úspora času a materiálu



# Len setý (*Linum usitatissimum* L.)



Původně přadná rostlina  
ale i 35% oleje v semeni



**$\alpha$ -linolenová kyselina**

**(C18:3)**

**60%**

**linolová kyselina**

**(C18:2)**

**14%**

**olejová kyselina**

**(C18:1)**

**20%**



# Nízkolinolenový len - mutace FAD3A,B genů (2x recesivního znaku)

## FAD 3A exon 5

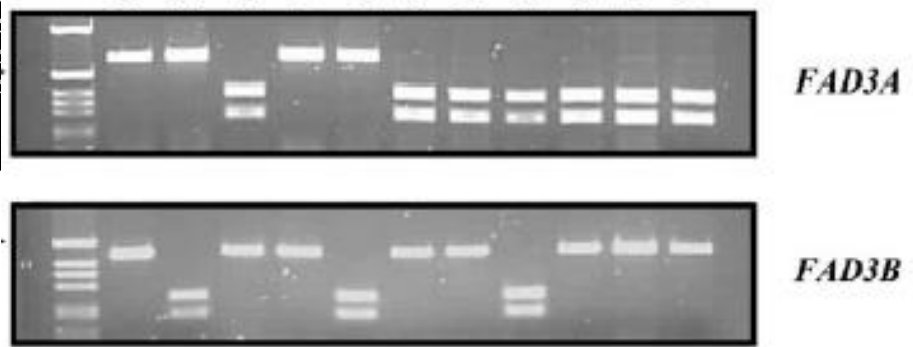
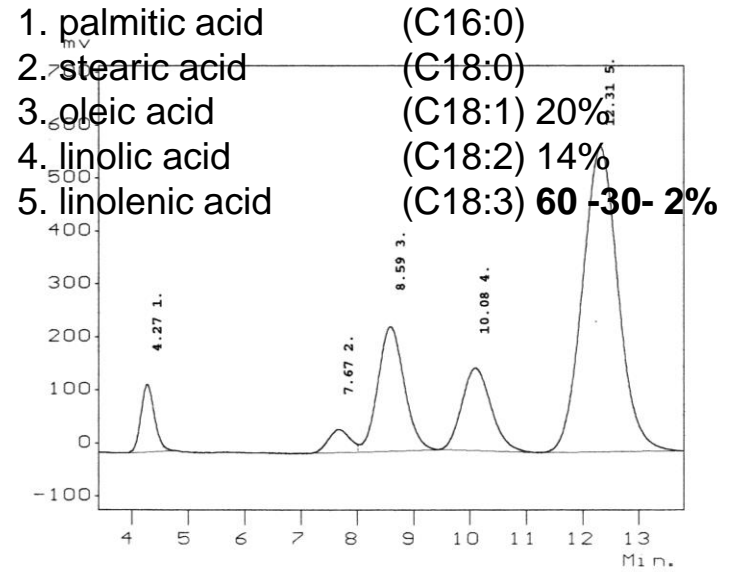
Windemere	250	GACGACCGTCGATCGAGATTACGGGGTCATCAACAA
Jantar	250	GACGACCGTCGATCGAGATTACGGGGTCATCAACAA
Venica-wt	250	GACGACCGTCGATCGAGATTACGGGGTCATCAACAA
Normandy-wt	250	GACGACCGTCGATCGAGATTACGGGGTCATCAACAA
Lola	250	GACGACCGTCGAT <b>TGA</b> GATTACGGGGTCATCAACAA
981/03	250	GACGACCGTCGAT <b>TGA</b> GATTACGGGGTCATCAACAA
962/03	250	GACGACCGTCGAT <b>TGA</b> GATTACGGGGTCATCAACAA

\* Stop codon

## FAD 3B exon 1

Amon	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCTGAGA
Windemere	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCTGAGA
Jantar	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCTGAGA
Venica-wt	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCTGAGA
Normandy-wt	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCTGAGA
Lola	174	TGGGTGAAGAACCC <b>TGA</b> AGGTCGCTCAGCTAC
984/05	174	TGGGTGAAGAACCC <b>TGA</b> AGGTCGCTCAGCTAC

\* Stop codon



# Transgenose (GMO) mezi vědou, etikou a politikou



Bt Gene is inserted into crop

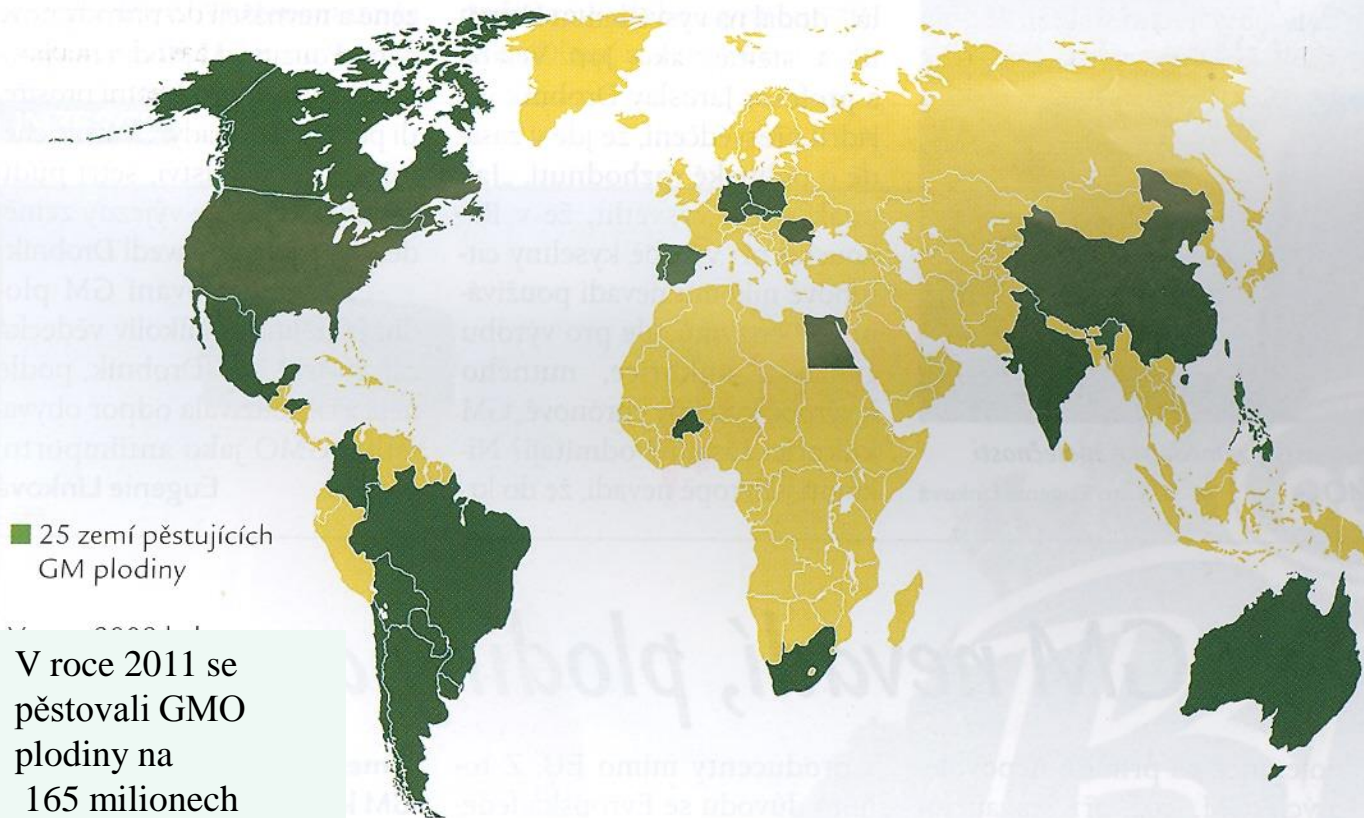
Crop is infected by European corn borer

Pest dies when feeding on any plant part



# Pěstování GMO rostlin

## Globální stav GM plodin v roce 2008



■ 25 zemí pěstujících GM plodiny

V roce 2011 se pěstovali GMO plodiny na 165 milionech hektarech

**více než 50 000 ha  
(v mil. ha)**

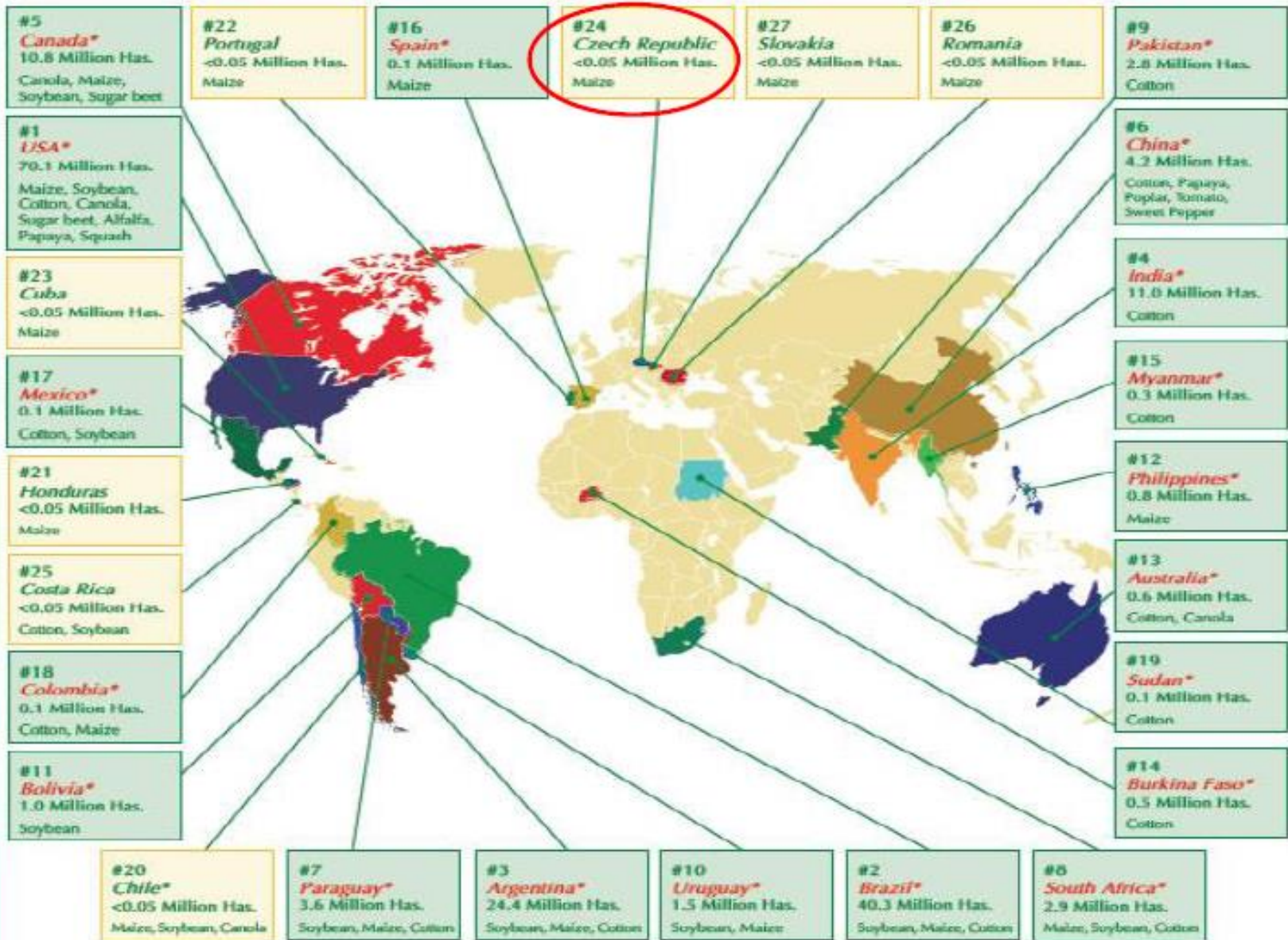
USA	62,5
Argentina	21,0
Brazílie	15,8
Indie	7,6
Kanada	7,6
Čína	3,8
Paraguay	2,7
Jižní Afrika	1,8
Uruguay	0,7
Bolívie	0,6
Filipíny	0,4
Austrálie	0,2
Mexiko	0,1
Španělsko	0,1

**méně než 50 000 ha**

Chile	Portugalsko
Kolumbie	Německo
Honduras	Polsko
Burkina Faso	Slovensko
<b>ČR</b>	Egypt
Rumunsko	

Zdroj: Clive James, ISAAA, 2009

## Biotech Crop Countries and Mega-Countries\*, 2013



■ \*19 biotech mega-countries growing 50,000 hectares, or more, of biotech crops.

Source: Clive James, 2013.

# Pěstování GMO rostlin

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

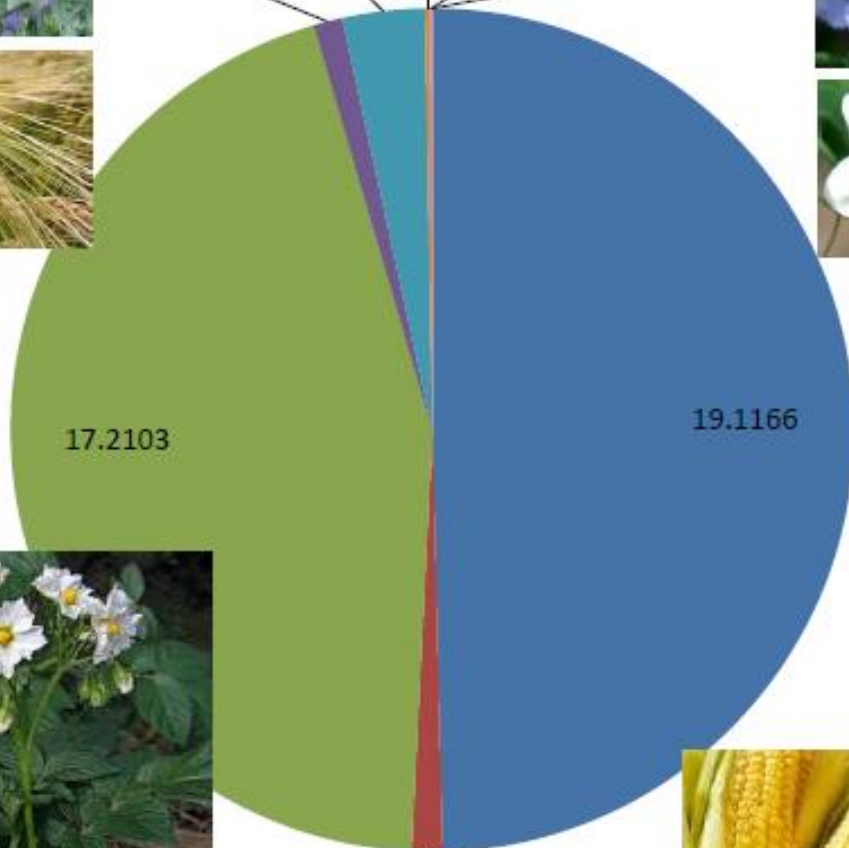




# GM crops - field trials 2005-2014 by area (ha) in CR



0.424 1.2183 0.08 0.0076 0.0175

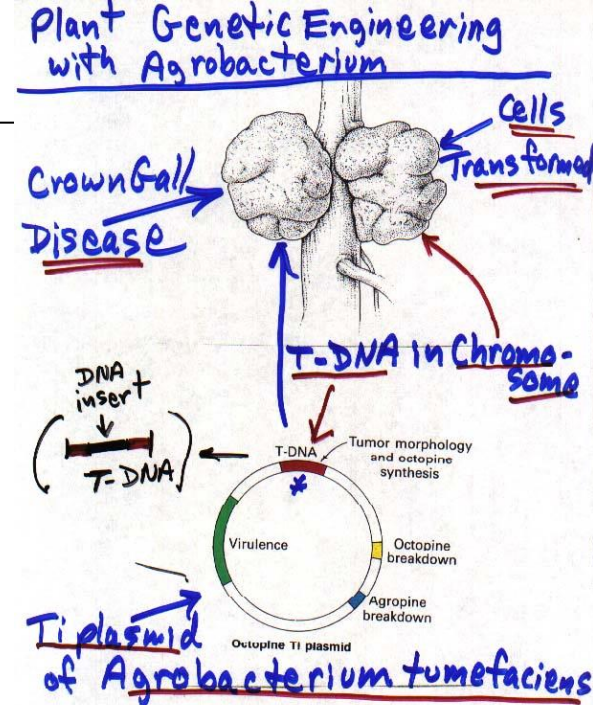


	Area (ha)
<b>Maize</b>	19.1166
<b>Sugar beet</b>	0.4517
<b>Potato</b>	17.2103
<b>Plum</b>	0.4240
<b>Barley</b>	1.2183
<b>Pea</b>	0.0800
<b>Flax</b>	0.0076
<b>Tobacco</b>	0.0175

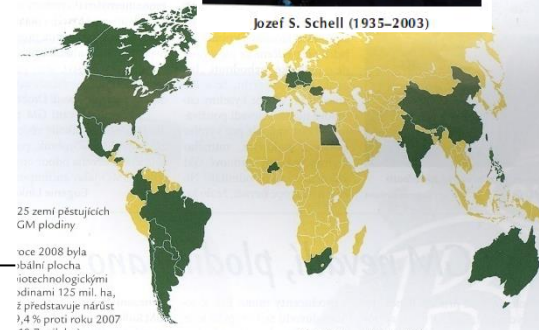
0.4517



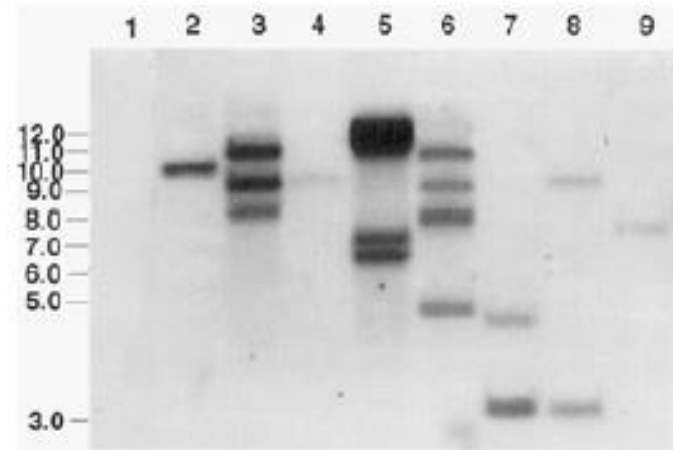
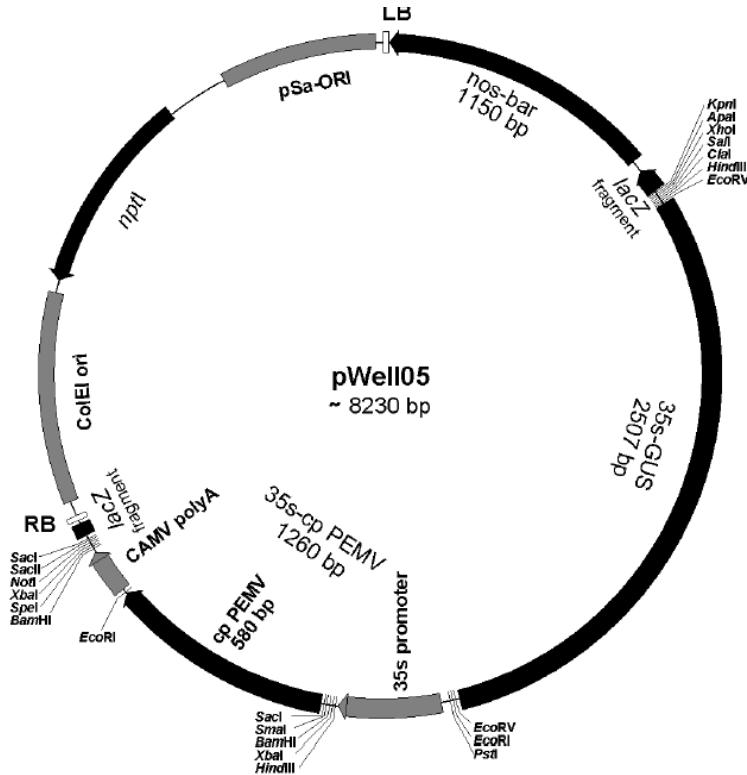
- 1959 *Agrobacterium* tvorba nádoru
- 1973 první GMO organismus *E.coli*
- 1976 Ti plasmid (Mary-Dell Chilton)
- 1980 Ti plasmid jako vektor cizorodé DNA
- 1983 první GMO rostlina s využitím T-DNA
- 1986 transgenní *Bt* tabák (Plant Genetic Systems, Belgie)
- 1994 FlavrSavr rajče (USA)
- 2009 11 transgeních plodin pěstováno na 150 miliónech hektarů ve 25 zemích



Jozef S. Schell (1935–2003)



# T-DNA transgenose



## T-DNA

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

# Biolistická metoda transformace



# *Bt* kukuřice (MON 810, YieldGard™)

story by

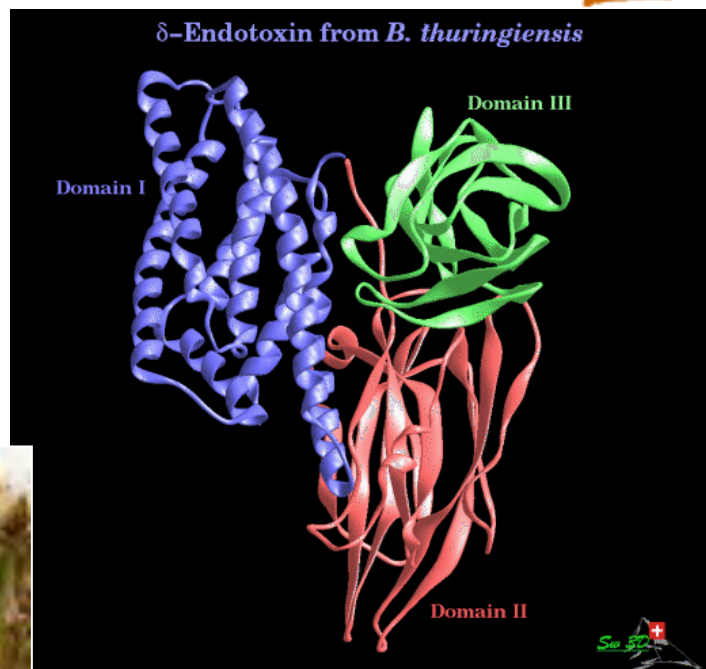
MONSANTO



*B. thuringiensis*

objeveno v roce 1901 v Japonsku

Ernst Berliner (1911) nemoc housenek motýlů  
(Schlaffsucht)



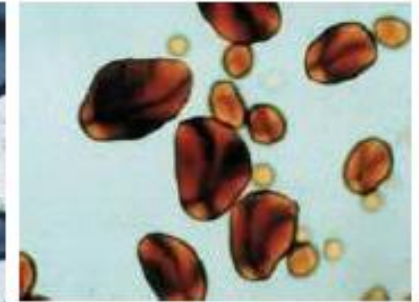
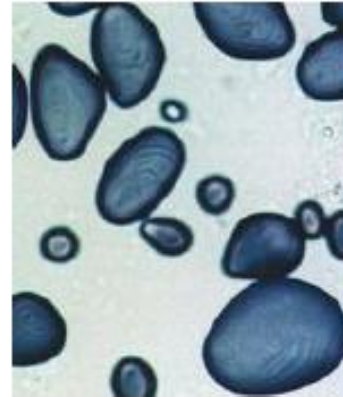
Cry1Ab protein

## Growing area of GM crops (placed on the market) in CR 2010-2012

Ukončeno 2011

Pěstební plocha **GM bramboru EH92-527-1 (Amflora)** v r. 2010 oznámená na základě § 23 zákona č. 78/2004 Sb.:

- V r. 2010 bylo možné poprvé v ČR pěstovat GM brambory.
- Ve škrobu upraven **poměr amylosa : amylopektin (20:80) ve prospěch amylopektinu.**
- Změna fyzikálně-chemických vlastností pro průmyslové zpracování škrobu.
- Škrob **není určen pro potravinářský průmysl, ale pro textilní a papírenský průmysl.**



147 ha

Pěstební plocha **Bt-kukuřice MON810** v r. 2010 oznámená na základě § 23 zákona č. 78/2004 Sb.:

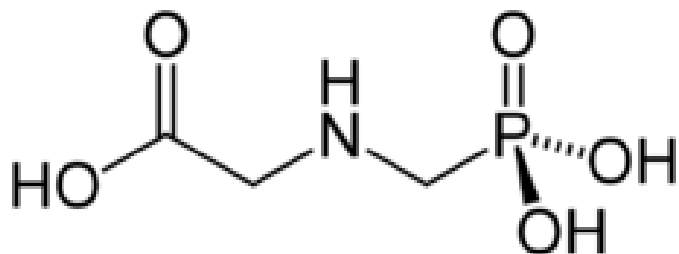
- **Bt-kukuřice** je odolná vůči zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*).
- Obsahuje gen pro  $\delta$ -endotoxin z mikroorganismu *Bacillus thuringiensis*.
- Testy prokázaly, že GM kukuřice škodí jen larvám zavíječe, nikoli teplokrevným živočichům či člověku. Zrno zdravější – protože konvenční kukuřice atakovaná zavíječem je napadána plísněmi a díky jim obsahuje aflatoxiny. Ty jsou na rozdíl od Bt-toxinu skutečně nebezpečné a mohou u člověka a zvířat vyvolávat rakovinu.



4667 ha

# Roundup Ready ®

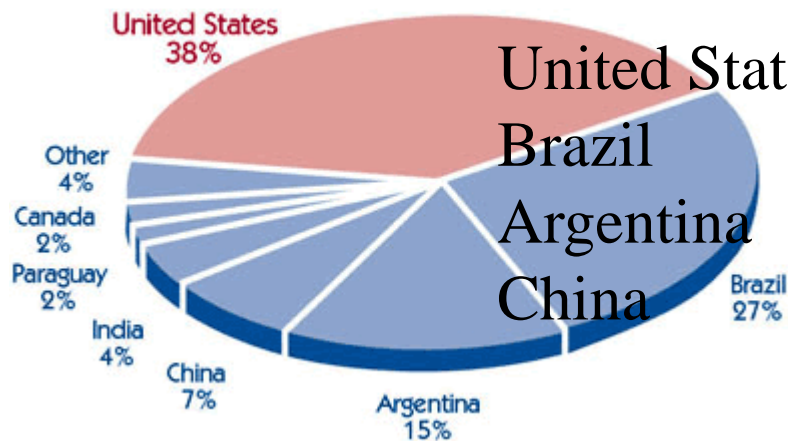
glyphosate story by MONSANTO



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

Rezistence :

EPSPS z *Bacillus licheniformis*



United States 99

Brazil 62

Argentina 45

China 25

mil tun



# Flavr Savr

the first commercially grown genetically engineered food to be granted a license for human consumption.

Produced by Calgene, and submitted to the U.S. Food and Drug Administration in 1992.

On May 17, 1994

*"is as safe as tomatoes bred by conventional means" and "that the use of aminoglycoside 3'-phosphotransferase II is safe for use as a processing aid in the development of new varieties of tomato"*





# 1., 2. a 3. generace transgenních rostlin

- **Agronomické znaky**

Tolerance / rezistence k herbicidům, hmyzím škůdcům, virovým a houbovým chorobám, suchu, zasolení ... (pěstitel)

- **Kvalitativní znaky**

Obsah a skladba aminokyselin semenných zásobních proteinů; změny typů/podjednotek zásobních semenných proteinů; obsah a skladba mastných kyselin v oleji semen ... (+ zpracovatel, uživatel)

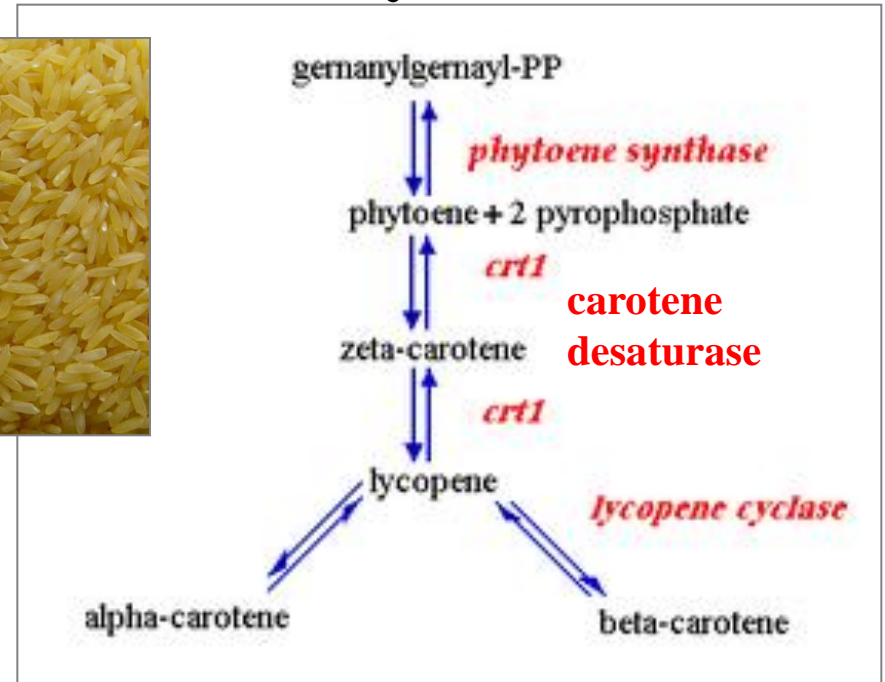
- **Molekulární farming**

Protilátky, biofarmaceutika, jedlé vakcíny, bioplasty...

# Příběh zlaté rýže



$\beta$ - karoten  
10-35  $\mu\text{g/g}$



psy (phytoene synthase) (*Narcissus pseudonarcissus*)

lyc (lycopene cyclase) (*Narcissus pseudonarcissus*)

crt1 z půdní bakterie *Erwinia uredovora*



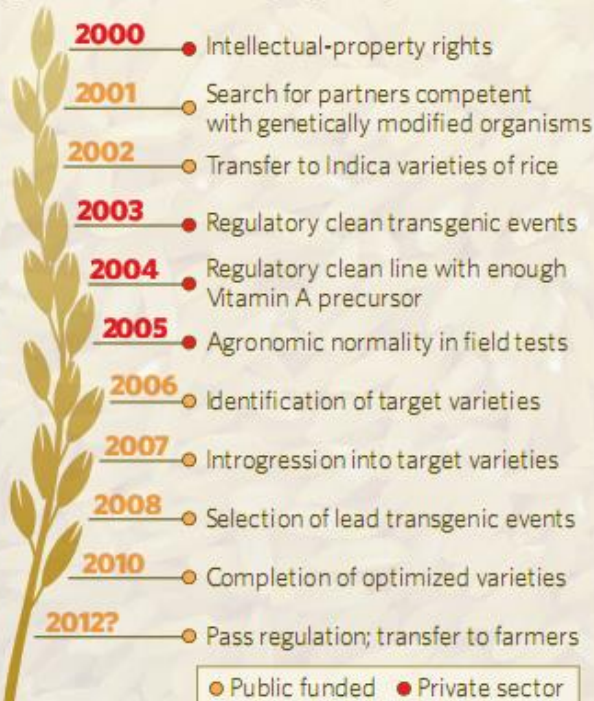
<http://www.goldenrice.org>

# Regulation must be revolutionized

Unjustified and impractical legal requirements are stopping genetically engineered crops from saving millions from starvation and malnutrition, says **Ingo Potrykus**.

## FROM BENCH TO BELLY

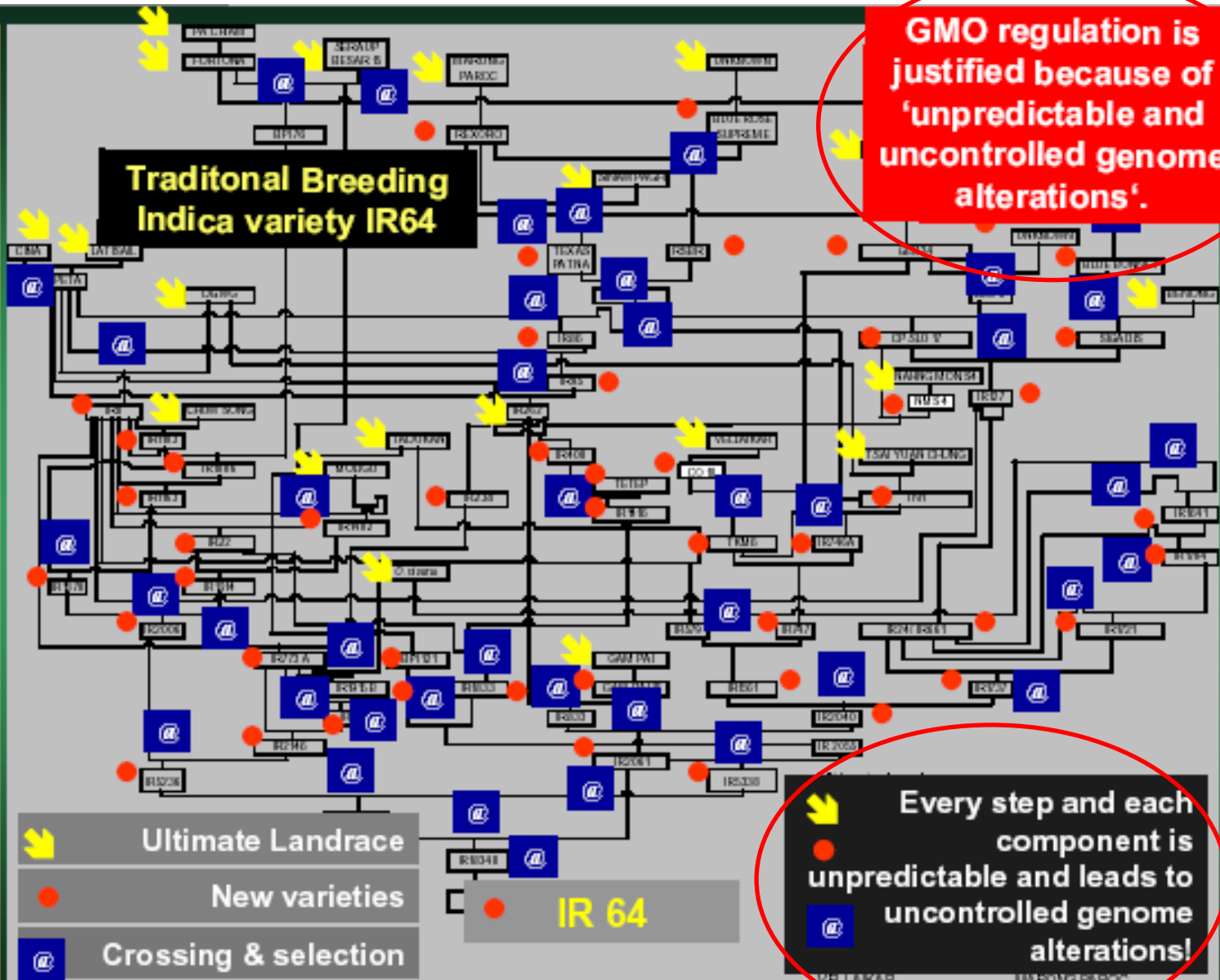
More than a decade since completion in a public lab, golden rice is still clearing regulatory hurdles.



Genetically engineered crops could save many millions from starvation and malnutrition — if they can be freed from excessive regulation. That is the conclusion I've reached from my experience over the past 11 years chairing the Golden Rice Humanitarian project ([www.goldenrice.org](http://www.goldenrice.org)), and after a meeting at the Vatican last year on transgenic plants for food security in the context of development<sup>1</sup>.

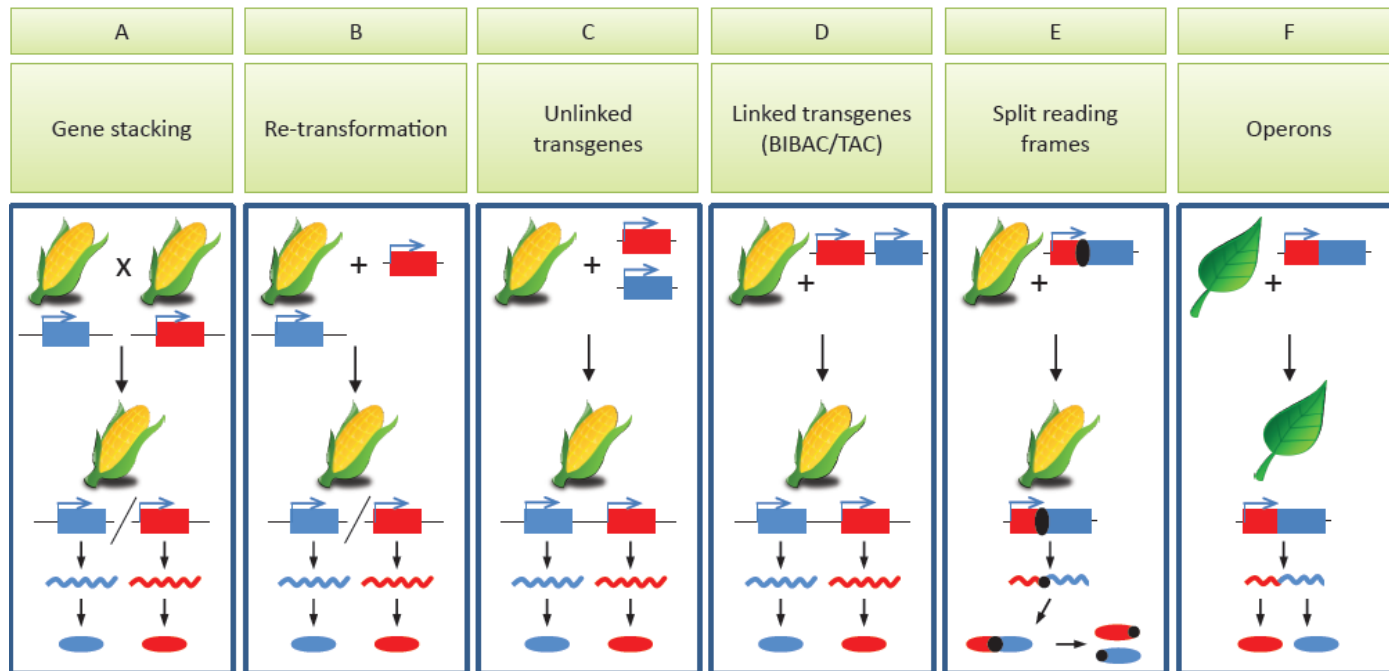
Golden rice will probably reach the market in 2012. It was ready in the lab by 1999. This lag is because of the regulatory differentiation of genetic engineering from other, traditional methods of crop improvement. The discrimination is scientifically unjustified. It is wasting resources and stopping many potentially transformative crops such as golden rice making the leap from lab to plate.

Traditional breeding leads to massive and uncontrolled modifications of the genome!

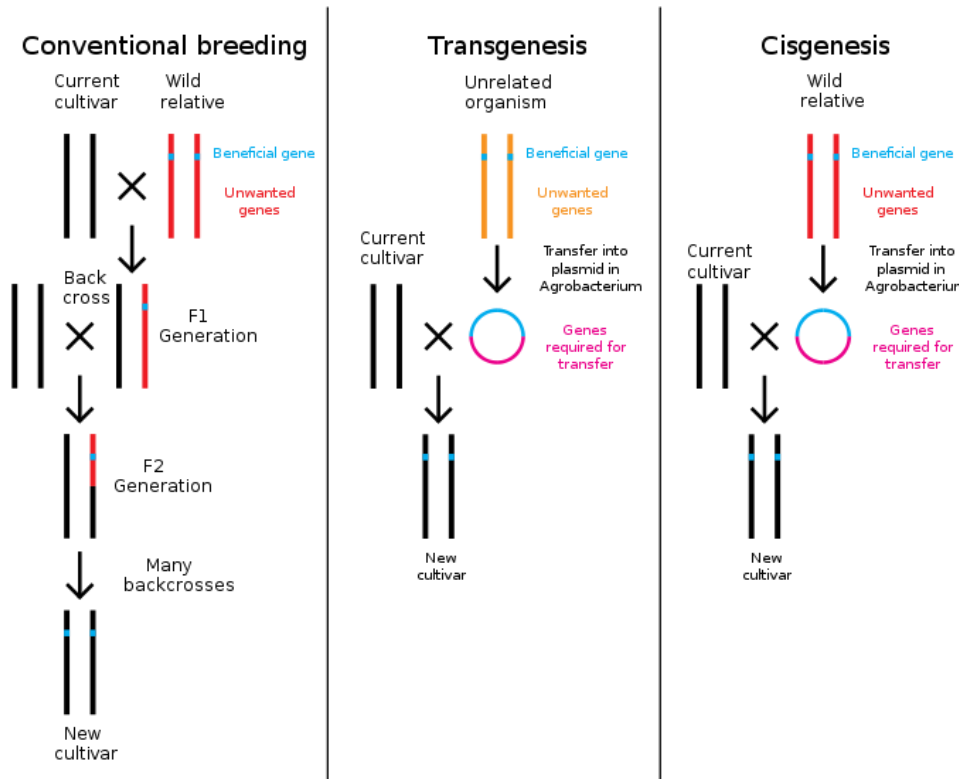


# Integrace více transgenů najednou

- Zkřížení transformantů s jedním genem
- Postupná transformace dalšími transgeny
- Konstrukt mající více genů v jedné T-DNA kazetě
- Kotransformace nezávislými geny



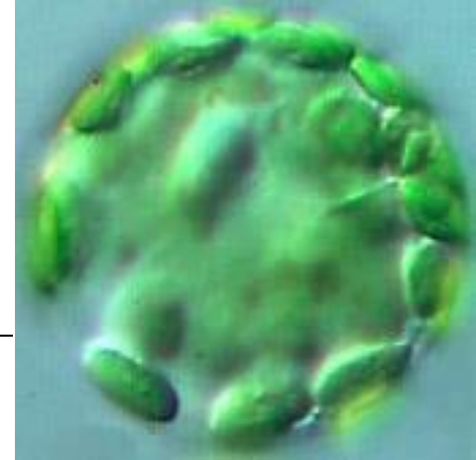
# Trans-genní versus cis-genní rostliny



rostliny, do jejichž dědičné informace byly přeneseny úplné geny – tedy geny obsahující všechny introny a s připojenými regulačními a terminačními sekvencemi – z druhů, z kterých by rostliny mohly získat tentýž gen tradičním křížením.



# Transformace plastidů

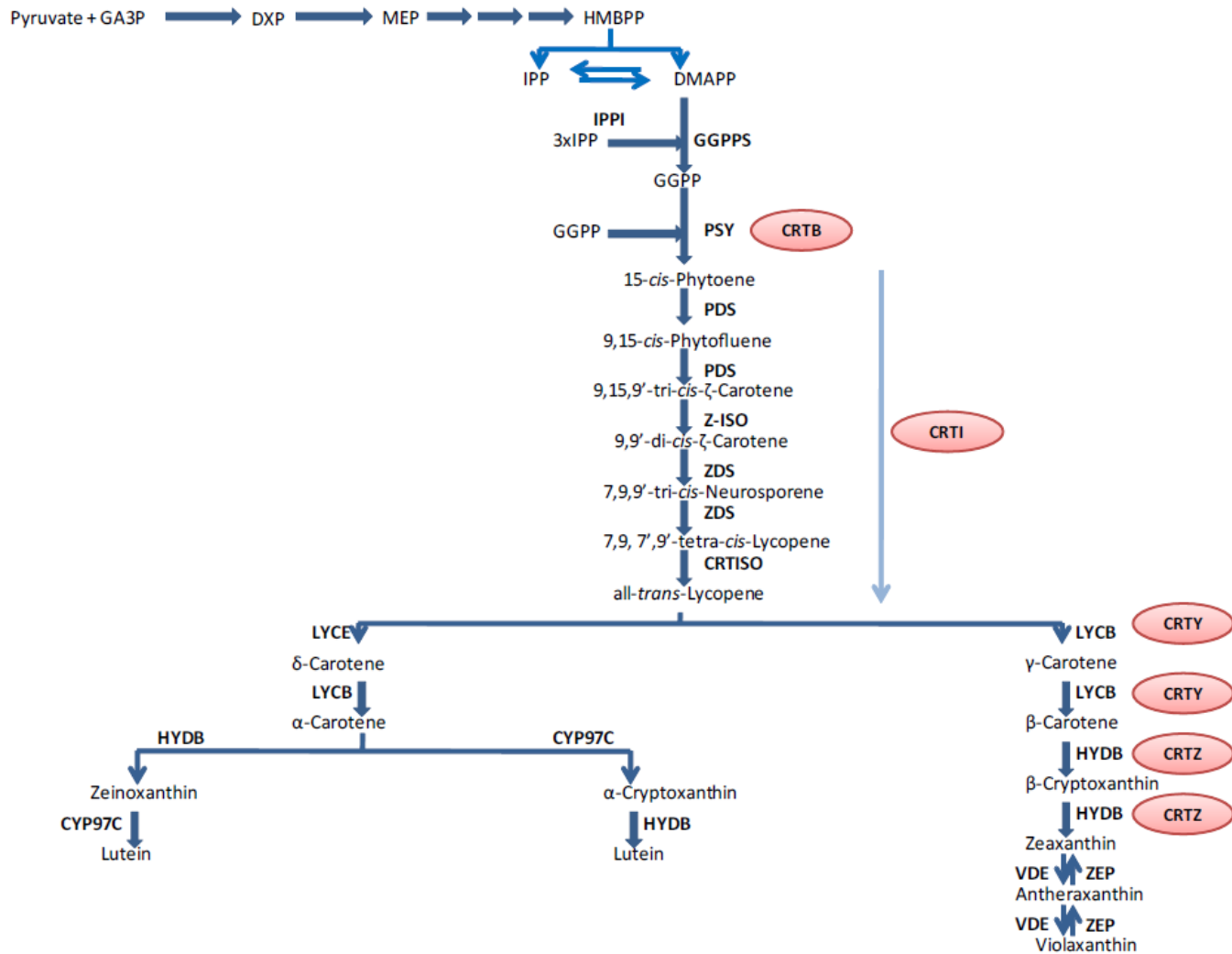


- omezení / zabránění přenosu transgenu
- místo integrace transgenu - homologní rekombinace
- vnesení a exprese více než jednoho genu (polycistronická)
- úroveň exprese (5-20% protein)
- eliminace nestability transgenu

TABLE 3 Plastid transgenes for biotechnological applications

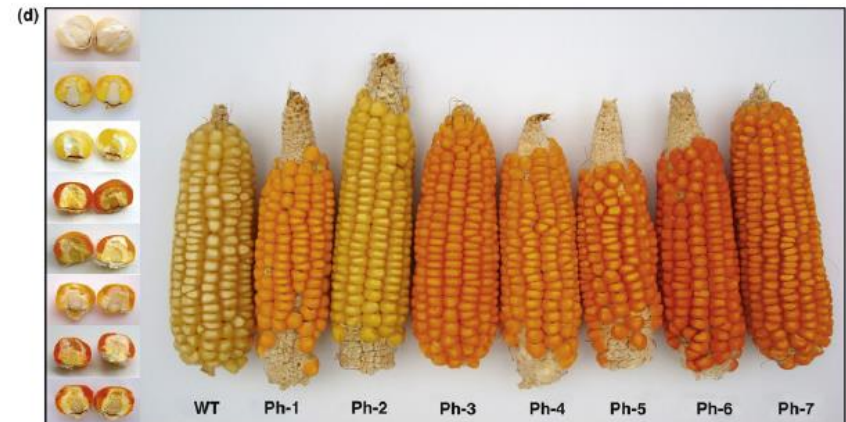
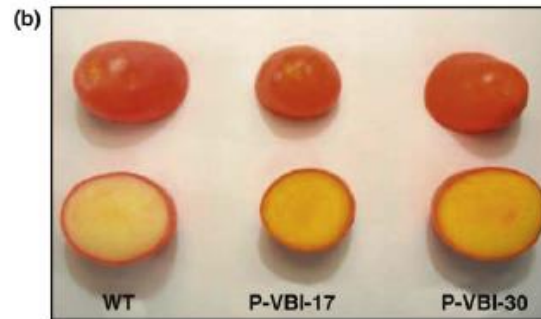
Gene	Function
<i>bar</i>	Herbicide res./PPT
<i>CP4</i>	Herbicide res./glyphosate
<i>Ic-EPSPSc</i>	Herbicide res./glyphosate
<i>cry1Ac</i>	B.t. Insecticidal prot.
<i>cry2Aa2</i>	B.t. insecticidal prot
<i>cryIIa5</i>	B.t. insecticidal prot.
Somatotropin	Human growth hormone
CTB	Cholera toxin B subunit
<i>TetC</i>	Tetanus vaccine
<i>HSA</i>	Human serum albumin
PBP	Protein-based polymer
<i>ASA2</i>	Tryptophan biosynthesis
MS1-99	Antimicrobial peptide
<i>phb</i> operon	Polyhydroxybutyrate
<i>TPS1</i>	Trehalose phosph. synthase

# Transgenní kukuřice s vnesenou biosyntetickou dráhou karotenoidů





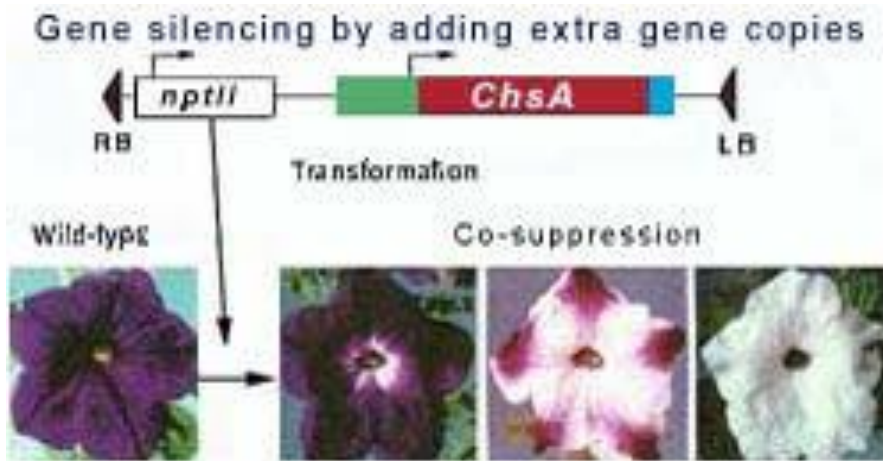
# Transgenní kukuřice s vnesenou biosyntetickou dráhou karotenoidů



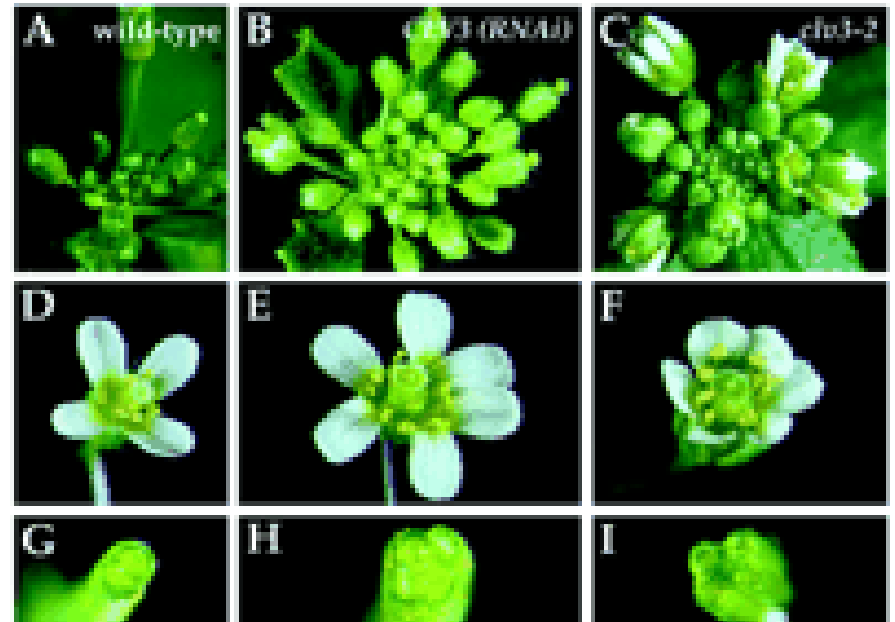
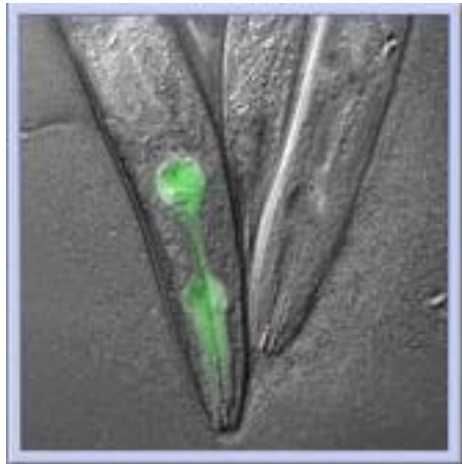
# RNA interference / PTGS

a její

praktické využití



PI.Cell 1990

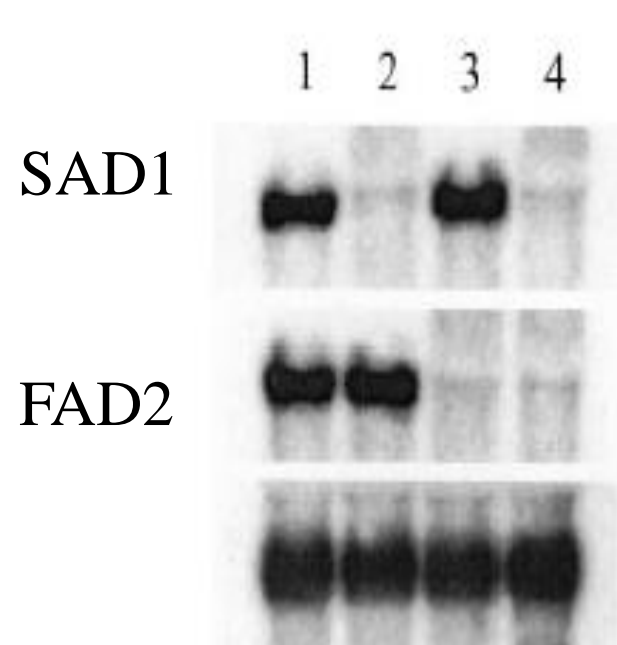




# High-Stearic and High-Oleic Cottonseed Oils Produced by Hairpin RNA-Mediated Post-Transcriptional Gene Silencing<sup>1</sup>

Qing Liu, Surinder P. Singh, and Allan G. Green\*

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Plant Industry, P.O. Box 1600, Canberra, Australian Capital Territory 2601, Australia



1. control
2. RNAi - SAD1
3. RNAi - FAD2
4. SAD1 x FAD2

Line	Fatty Acid Composition					
	Palmitic (16:0)	Stearic (18:0)	Oleic (18:1)	Linoleic (18:2)	Linolenic (18:3)	Arachidic (20:0)
Coker 315	25.6	2.3	13.2	58.5	0.1	0.3
Δ9-HP*150	14.9	39.8	3.8	38.8	0.2	2.4
Δ12-HP*23	15.3	2.3	78.2	3.7	0.1	0.3
F <sub>2</sub>	13.7	39.9	37.4	6.0	0.6	2.4

Plant Physiol. 2002: 129, p. 1732-1743



# Plenish™ High Oleic Soybeans

Plenish™ high oleic soybean oil offers an attractive trans fat solution to the food industry. The high oleic content makes the oil extremely stable, eliminating the need for partial hydrogenation.

## Typical Fatty Acid Composition

	C16:0 Palmitic Acid	C18:0 Stearic Acid	C18:1 Oleic Acid	C18:2 Linoleic Acid	C18:3 Linolenic Acid
Plenish® High Oleic Soybean Oil	6.5	4	75	7	2.5
Commodity Soybean Oil	11	4	22	55	8

Note: Fatty acid profiles may vary slightly.

Plenish™ high oleic soybeans were developed using a biotech process known as gene silencing. This process was used to suppress expression of an enzyme in the seed to limit the amount of linoleic and linolenic acid developed, and increased the content of oleic acid. By using a biotech process we were able to develop a very stable trait that produces more than 75 percent oleic acid

**Conventional  
Apple Variety**



**Arctic®  
Apple Variety**



Zablokování funkce enzymu polyfenol oxidázy – oxidace fenolických látek = hnědnutí, pomocí RNA interference



# Řepka - model pro manipulaci složení oleje



Laurical<sup>TM</sup> - pro mýdla, detergenty - kys.laurová  
2:0-ACP thioesterase California bay, 40-60%

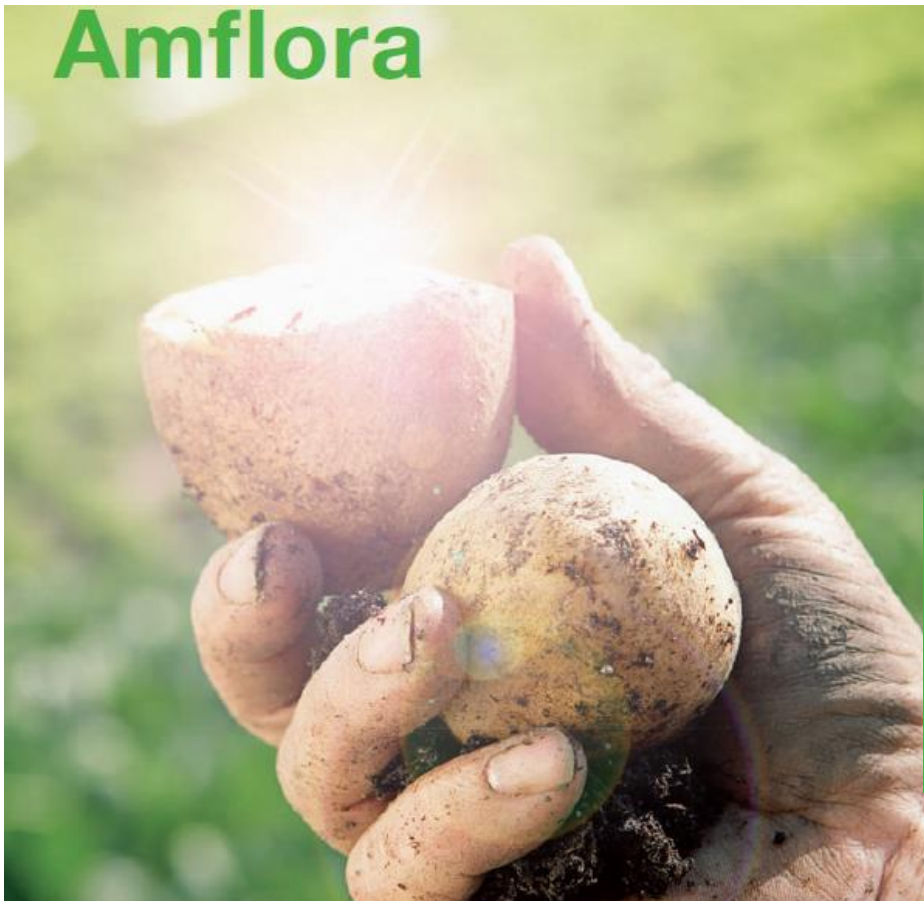
thioesterase *Ch FatB2 Cuphea hookeriana*  
10 mol% C8:0 and 25 mol% C10:0.



acyl-ACP thioesterase *Garcinia mangostana*  
20% obsah kys. stearové (C16:0)

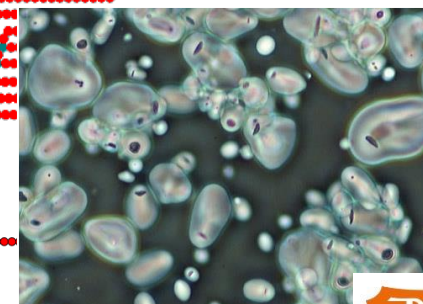
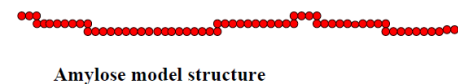
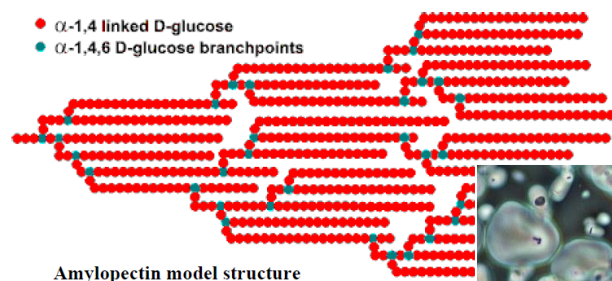
vysoký obsah kys. erukové - lubrikanty  
acyl-CoA synthase jojoba - 50-60%

# Amflora



## Amflora – the amylopectin potato

- Pure amylopectin starch
- Benefits in manufacturing paper, adhesives, textiles and more
- Environmentally- and resource-friendly, sustainable
- Added value for producers and processors
- Safe for humans, animals and the environment



A starch is born

 **BASF**  
The Chemical Company





# Amflora

(BASF Plant Science)

**Amflora is a starch potato developed specifically for industrial use.**

Starch found in conventional potatoes consists of two different components: **amylopectin (80%) and amylose (20%)**.

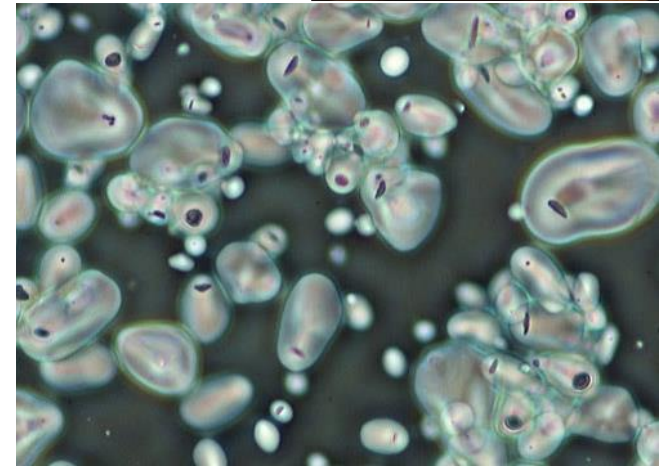
In many applications, the amylose is not desirable but separating out the different kinds of starch is uneconomical.

*(2 milióny tun škrobu/rok/ EU)*

With the aid of biotechnology researchers have succeeded in "**deactivating**" the gene responsible for synthesizing **amylose**.

The result is Amflora - a starch potato tailor-made for industrial use that produces **pure amylopectin**.

The European Commission approved Amflora for commercial application in Europe in 2. března 2010.



# Jedlé vakcíny

## - futuristická vize či realita ....



- enterogenní *E.coli*
- cholera
- Hepatitis B
- vzteklna
- cytomegalovirus
  
- kulhavka- slintavka
- gastroenteritis
- coronavirus

# When is a GM plant not a GM plant?

## A bumper crop of genome-edited plants


Challenging older forms of genetic modification, four recently developed genome-editing methods—meganucleases, zinc finger nucleases (ZFNs), TALENs, and CRISPR—have produced many plant varieties with useful new traits, some highlighted below. A few are in field trials already.

### Genome-editing methods




- Drought resistant
- Disease resistant
- Consumer benefits
- Herbicide resistant
- Yield, storage, or processing improvement
- Altered growth

**Corn**  
*Zea mays*

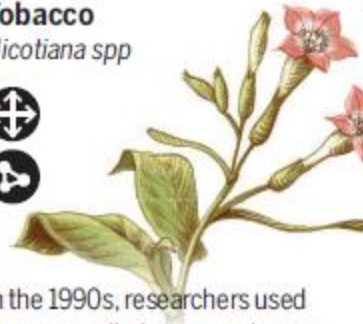


- 
- 
- 
- 

DuPont Pioneer plans a CRISPR-altered version of its "waxy corn" variety; Dow AgroSciences is using ZFN technology to make corn simultaneously healthier and herbicide resistant.




**Tobacco**  
*Nicotiana spp*




- 
- 

In the 1990s, researchers used enzymes called meganucleases to edit tobacco's genome; TALENs have now helped make a tobacco relative that can synthesize human therapeutic proteins.

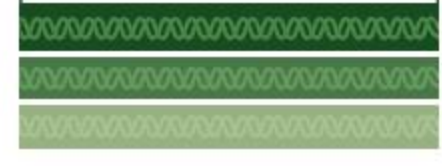


**Soybean**  
*Glycine max*



- 
- 
- 

Calyxt's TALEN®-edited soybeans may help food companies reduce trans fats in their products by 2018, as required by the United States for health reasons.

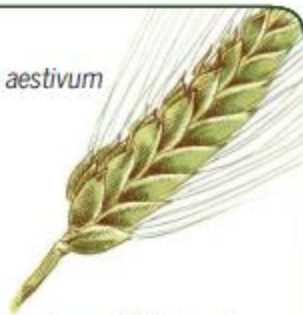


### The plant engineer

Elizabeth Pennisi (September 15, 2016)  
*Science* 353 (6305), 1220-1224. [doi:  
10.1126/science.353.6305.1220]

## Wheat

*Triticum aestivum*



Chinese plant geneticists used TALENs to knock out all six copies of a gene that confers susceptibility to powdery mildew. Calyxt is readying field trials of the disease-resistant strain.

## Rice

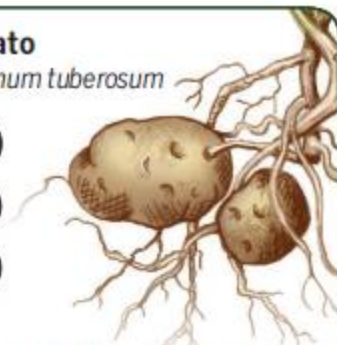
*Oryza sativa*



USDA gave a green light to Iowa State University's bacterial blight-resistant rice made by TALENs, but there are no plans for commercialization yet.

## Potato

*Solanum tuberosum*



Calyxt's TALEN®-altered potatoes store longer in the cold, and yield less of a potential carcinogen when cooked; CRISPR'ed spuds are resistant to herbicide.

## Tomato

*Solanum lycopersicum*



Genetic engineers have been trying to improve the shelf life of tomatoes since the 1990s, and now new genome editors are making the fruit resistant to bacterial and viral infections.

## Poplar

*Populus sp*



At least two groups have used CRISPR to alter the lignin and tannin content of poplar seedlings, paving the way for trees better suited for biofuel and other uses.

## Lettuce

*Lactuca sativa*



Using a version of CRISPR that involved no introduced DNA—just RNA and proteins—a South Korean group altered lettuce to be more stress resistant.

## Grape

*Vitis vinifera*



A Chinese group knocked out a gene promoting the production of tartaric acid, possibly paving the way to wine richer in vitamin C; others hope to engineer grapes to resist powdery mildew.

## Grapefruit

*Citrus paradisi*



After demonstrating that CRISPR works in oranges, a team knocked out a grapefruit gene that confers susceptibility to citrus canker, a widespread bacterial disease.



[ABOUT US](#) ▾

[PRODUCTS](#) ▾

[TECHNOLOGY](#) ▾

[COLLABORATIONS](#)

[NEWS/EVENTS](#) ▾

[CONTACT US](#)

Healthier Food for a Better Life

Reduced Trans Fat Soybean  
Oil

Improved Quality Potato

Gluten Reduced Wheat

Lower Saturated Fat Canola Oil

A Minnesota Company

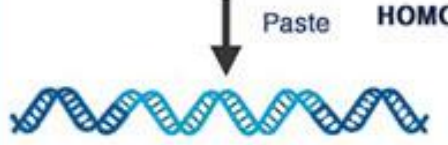
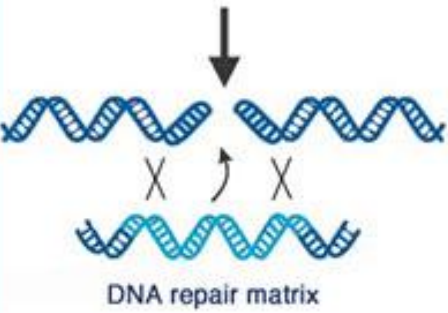
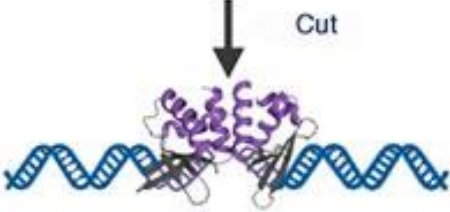
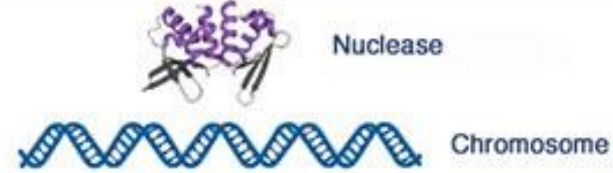
[www.calyxt.com/products/improved-quality-potato/](http://www.calyxt.com/products/improved-quality-potato/)

[Contact Us](#)

[Legal Notice](#)

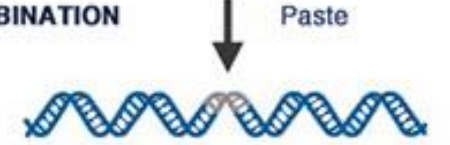
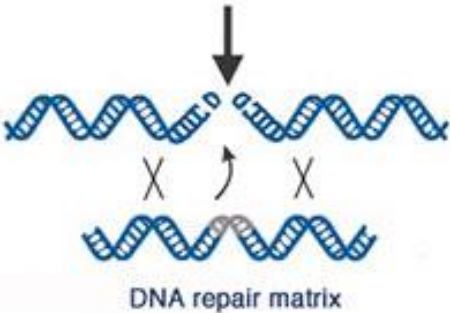
© 2016 Calyxt - All Rights Reserved.

# Editace genomu



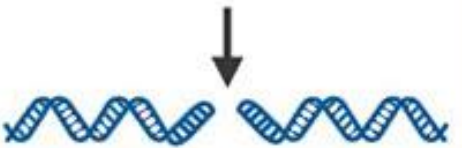
GENE INSERTION  
KNOCK IN

**HOMOLOGOUS RECOMBINATION**

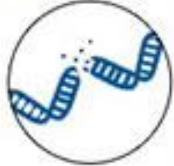


GENE REPAIR

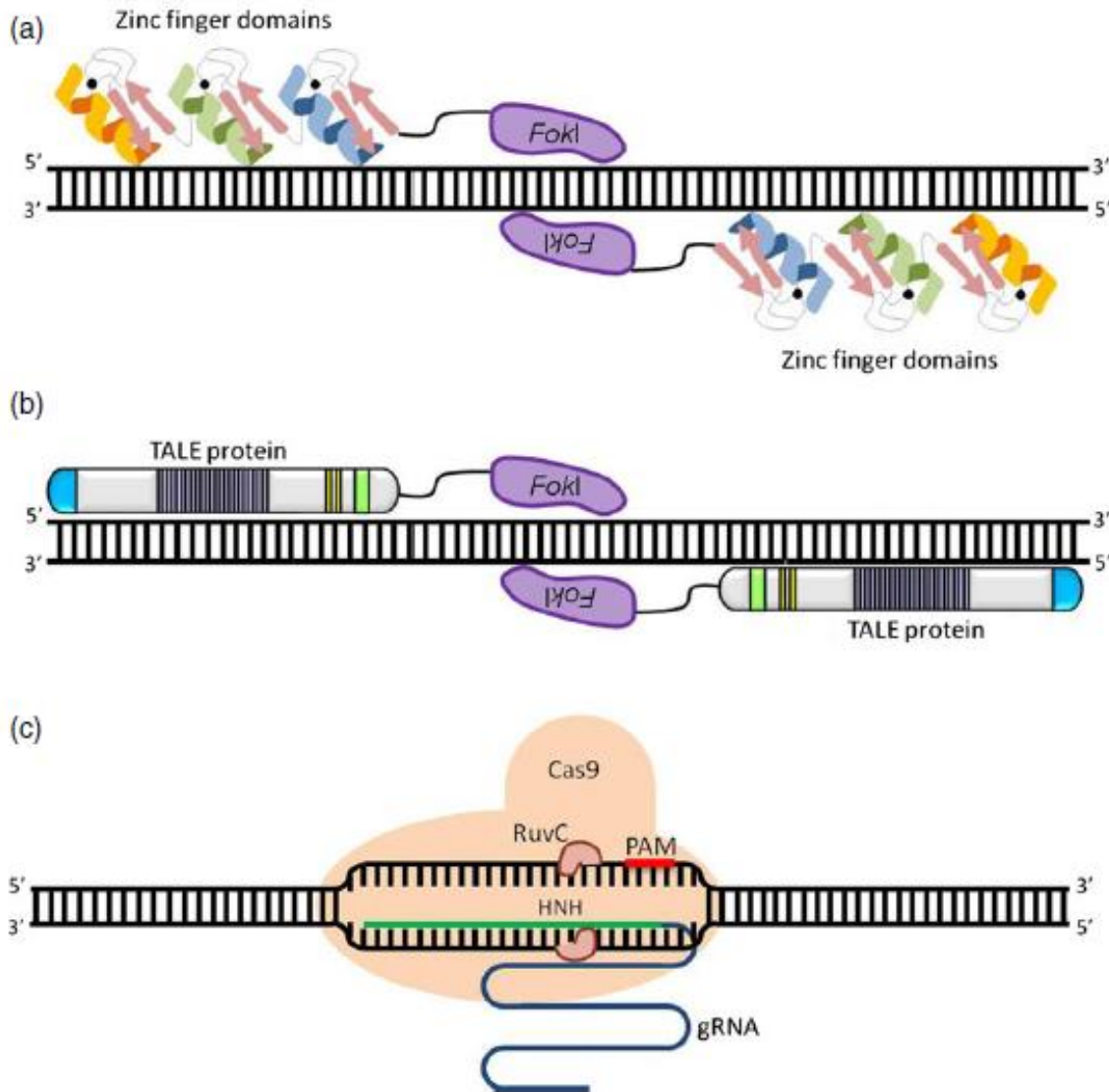
**NON HOMOLOGOUS END JOINING (NHEJ)**



Loss of a few base pairs



GENE INACTIVATION  
KNOCK OUT



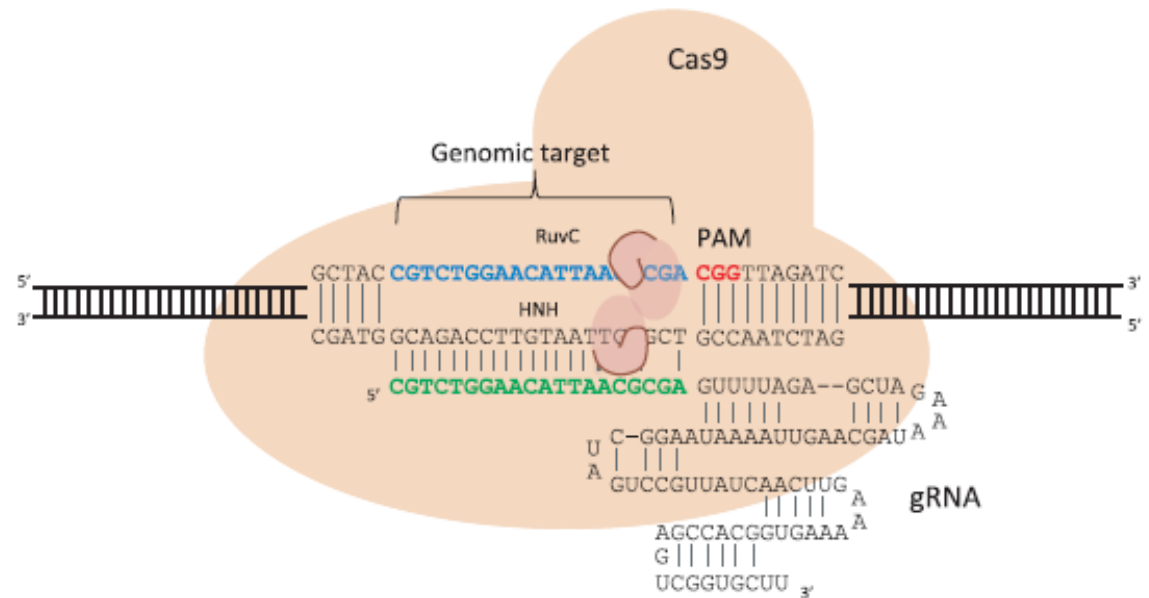
## Zinc fingers

## TALENs

## CRISP/Cas

**Figure 2** Schematic representation of various genome-editing platforms. (a) Zinc finger nucleases (ZFNs) are composed of DNA recognition domains and FokI nuclease catalytic domain fusions. Each zinc finger in the DNA recognition domains binds three nucleotides. On average three to four zinc fingers are fused to recognize 9–12 nucleotides. Two ZFNs are required to produce double-strand breaks (DSB) as the FokI domain requires dimerization to be catalytically active. (b) Transcription activator-like effector nucleases (TALENs) are composed of TAL central DNA-binding repeat domain and FokI catalytic domain fusions. DNA-binding specificity is determined by the 12th and 13th hypervariable residues of each repeat [repeat variable diresidue (RVD)]. Similarly, two TALENs heterodimer binding in a tail-to-tail orientation with proper spacer length to allow dimerization of the FokI domains are required for activity and DSB formation. (c) Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas9 mediates DSBs formation. Cas9 is guided to the 20 nt DNA target by a synthetic single guide RNA (gRNA) molecule composed of crRNA and tracrRNA. Cas9 recognizes a specific protospacer associated motif (PAM) sequence on the DNA (NGG—marked in red) and performs a complete cut with the two active nuclease domains RuvC and HNH.

**Figure 3** Targeted genome editing via RNA-guided Cas9 endonuclease. Cas9 endonuclease is guided to the target DNA sequence called protospacer (shown in blue) by a single guide RNA (gRNA) molecule that contains a 20 nt spacer sequence (shown in green). Protospacer associated motif (PAM) sequence (shown in red) is a prerequisite for binding and cleavage and is situated upstream of the protospacer. The Cas9 two nuclease domains RuvC and HNH, each cleave one strand of a double-stranded DNA molecule (dark pink).

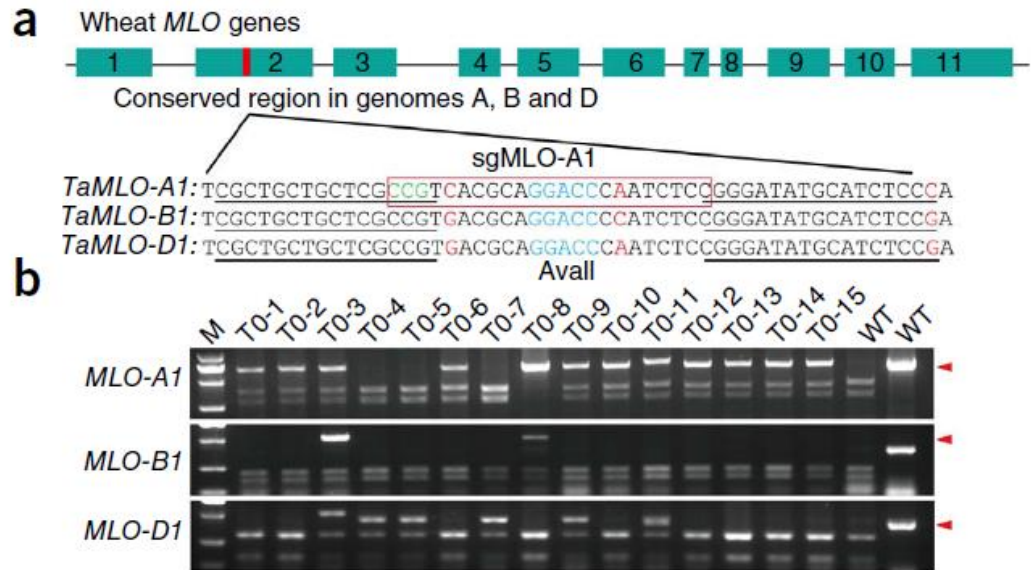






# Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew

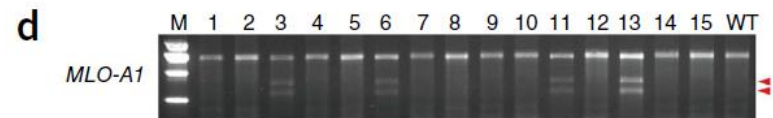
Yanpeng Wang<sup>1,3</sup>, Xi Cheng<sup>2,3</sup>, Qiwei Shan<sup>1</sup>, Yi Zhang<sup>1</sup>, Jinxing Liu<sup>1</sup>, Caixia



**Figure 1** Targeted knockout of *TaMLO* genes using the TALEN and CRISPR-Cas9 systems. (a) Sites within a conserved region of exon 2 of wheat *TaMLO* homoeologs targeted by the TALEN and CRISPR-Cas9 systems. The TALEN-targeted sequences in *MLO-A1*, *MLO-B1* and *MLO-D1* are underlined, and the *Avall* restriction site in the spacer is blue. Of the three SNPs highlighted in red, two are in the spacer region and one lies near the far right of the TALEN binding site. The CRISPR-Cas9 targeted sequence in *MLO-A1* is indicated in the box, and the

**C**

T0-1 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.....TATGCATCTCCCA -19  
 T0-2 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgagga...aatctcCGGGATATGCATCTCCCA -3  
 T0-3 A1: .....caatctcCGGGATATGCATCTCCCA -32  
 B1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagga/ccccatctcCGGGATATGCATCTCCGA +141  
 D1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagga...../GGATATGCATCTCCGA -11/+81  
 T0-4 D1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagg....atctcCGGGATATGCATCTCCGA -5  
 T0-5 D1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcag....aatctcCGGGATATGCATCTCCGA -5  
 T0-6 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgca.....aatctcCGGGATATGCATCTCCCA -6  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgagga...aatctcCGGGATATGCATCTCCCA -3  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTcagcagga....atctcCGGGATATGCATCTCCCA -4  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTcagcaggac..aatctcCGGGATATGCATCTCCCA -2  
 T0-7 D1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac...aatctcCGGGATATGCATCTCCGA -2  
 T0-8 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacgca.....tctcCGGGATATGCATCTCCCA -7  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTcagcagg...caatctcCGGGATATGCATCTCCCA -3  
 B1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcagg../cccatctcCGGGATATGCATCTCCGA -2/+113  
 T0-9 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.....tctcCGGGATATGCATCTCCCA -10  
 D1: TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac....ctcCGGGATATGCATCTCCGA -5  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac....tctcCGGGATATGCATCTCCGA -4  
 TCGCTGCTGCTCGCCGTgacgcaggac..aatctcCGGGATATGCATCTCCGA -2  
 T0-10 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.....ctcCGGGATATGCATCTCCCA -11  
 T0-11 A1: TCGCTGCTGCTCGCCGTcacg.../gaccaaatctcCGGGATATGCATCTCCCA -3/+61  
 D1: TCGCTGCTGCTC.....CATCTCCGA -29  
 T0-12 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacg.....atctcCGGGATATGCATCTCCCA -8  
 T0-13 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcagcagga.....ctcCGGGATATGCATCTCCCA -6  
 T0-14 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacg.....aatctcCGGGATATGCATCTCCCA -7  
 T0-15 A1: TCGCTGCCGCTCGCCGTcacgca.....cCGGGATATGCATCTCCCA -11



**e**

MLO-A1: TCGCTGCTGCTCGCCGT**CACGCAGGACCAATCTCCGGATATGCATCTCCCA**  
 M3: TCGCTGCTGCTCGCCGTCA...AGGACCAATCTCCGGATATGCATCTCCCA -3  
 M6: TCGCTGCTGCTCGCCGTCA.GCAGGACCAATCTCCGGATATGCATCTCCCA -1  
 M11: TCGCTGCTGCTCGCCGTCA...GGACCAATCTCCGGATATGCATCTCCCA -4  
 M13: TCGCTGCTGCTCGCCGTCA**TCCGAGGACCAATCTCCGGATATGCATCTCCCA** +1

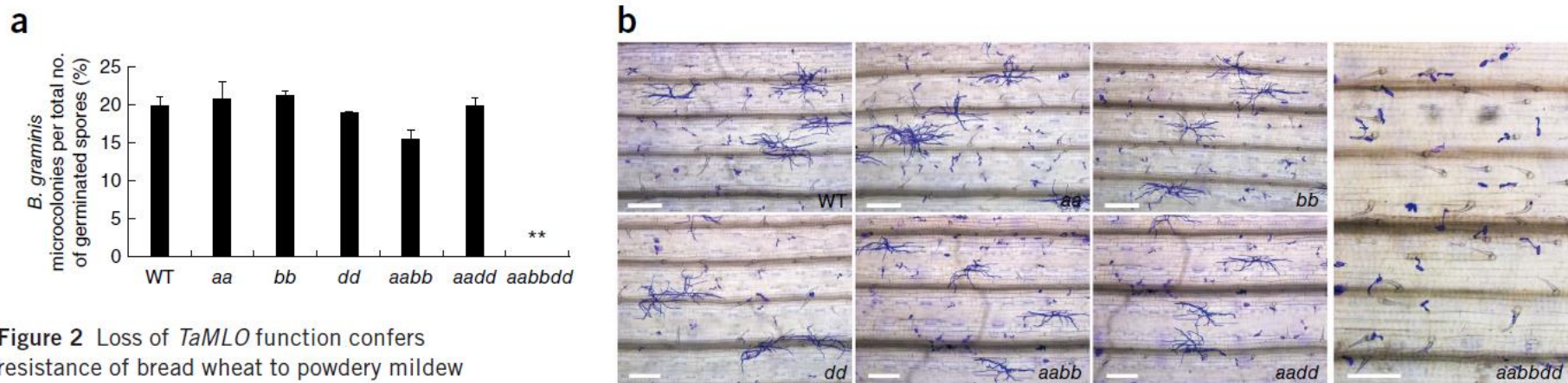
induced mutations. (c) TALEN-induced mutant *TaMLO* alleles identified by sequencing 15 representative transgenic wheat plants. The numbers on the right show the type of mutation and how many nucleotides are involved, with “-” and “+” indicating deletion or insertion of the given number of nucleotides, respectively. (d) Outcome of T7E1 assay to detect CRISPR-induced mutations in 15 representative T0 transgenic wheat plants. Red arrowheads indicate the fragments digested by T7E1. (e) Mutations in the *TaMLO-A1* site that were induced by sgMLO-A1.

**Table 1 Molecular and genetic analysis of TALEN-induced mutations in *TaMLO* homoeologs and their transmission to the T1 generation**

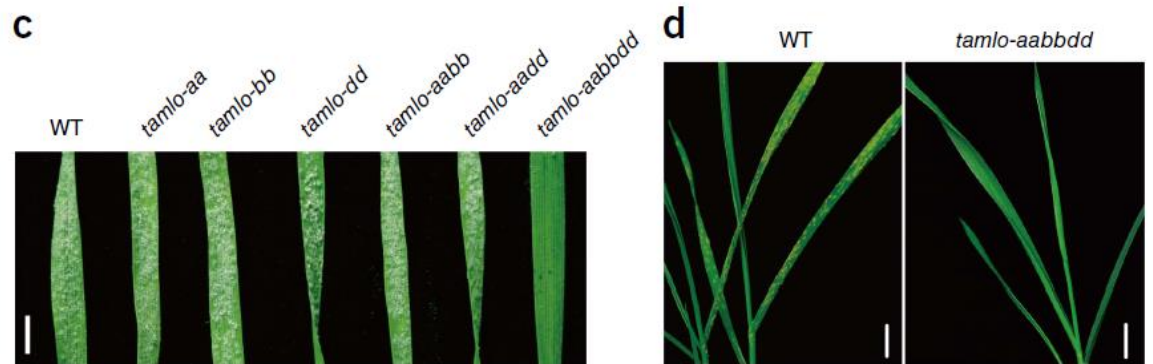
Analysis of T0 plants			Mutation segregation in T1 population						
Plant ID	Genotype of <i>TaMLO</i> homoeologs	Mutation detected (bp) <sup>a</sup>	No. of tested plants	Wild type	Hetero	Homo	Mutation transmission (%) <sup>b</sup>	TALEN-free (%) <sup>c</sup>	
T0-2	Aa	-3	56	11 (AA)	31 (Aa)	14 (aa)	80.4 <sup>d</sup>	5.4	
	BB			54 (BB)	2 (Bb)	0 (bb)		0	
	DD			53 (DD)	3 (Dd)	0 (dd)		0	
T0-3	Aa	-32	3	1 (AA)	1 (Aa)	1 (aa)	66.7	0	
	Bb	+141		0 (BB)	3 (Bb)	0 (bb)			100
	Dd	-11/+81		0 (DD)	0 (Dd)	3 (dd)			100
T0-4	AA		123	114 (AA)	9 (Aa)	0 (aa)	75.6 <sup>d</sup>	0	
	BB			121 (BB)	2 (Bb)	0 (bb)		0	
	Dd	-5		30 (DD)	73 (Dd)	20 (dd)		8.1	
T0-5	Dd	-5	149	25 (DD)	95 (Dd)	29 (dd)	83.2 <sup>d</sup>	6.0	
T0-6	Aa	-2, -4, -3, -6	68	58 (AA)	10 (Aa)	0 (aa)	14.7	1.5	
T0-7	AA		48	47 (AA)	1 (Aa)	0 (aa)	91.7	0	
	BB			46 (BB)	2 (Bb)	0 (bb)		0	
	Dd	-2		4 (DD)	36 (Dd)	8 (dd)		8.3	
T0-8	aa	-3, -7	58	0 (AA)	0 (Aa)	58 (aa)	100	12.1	
	Bb	-2/+113		16 (BB)	31 (Bb)	11 (bb)			72.4 <sup>d</sup>
T0-9	Aa	-10	59	19 (AA)	25 (Aa)	15 (aa)	67.8 <sup>d</sup>	6.8	
	Dd	-2, -4, -5		54 (DD)	5 (Dd)	0 (dd)			8.5
T0-11	Aa	-3/+61	88	23 (AA)	44 (Aa)	21 (aa)	73.9 <sup>d</sup>	8.0	
	Dd	-29		21 (DD)	41 (Dd)	26 (dd)			76.1 <sup>d</sup>

Hetero, heterozygous; Homo, homozygous.

<sup>a</sup>"-" indicates deletion of the indicated number of nucleotides; "+" indicates insertion of indicated number of nucleotides; "-/+" indicates simultaneous deletion and insertion of the indicated



**Figure 2** Loss of *TaMLO* function confers resistance of bread wheat to powdery mildew disease. (a) Percentage of microcolonies formed from the total number of germinated spores of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*) inoculated on the leaves of wild-type (WT) and various *tamlo* mutants. At least 2,000 germinated spores per genotype per experiment were examined 72 h after inoculation with virulent *Bgt* isolate E09. Values are the mean  $\pm$  s.d. of four independent experiments. \*\* $P < 0.01$  (*t*-test). (b) Micrographs of microcolony formation of *Bgt* on the surfaces of leaves of the indicated genotypes 3 d postinoculation. Powdery mildew spores and colonies were stained with Coomassie blue. Scale bars, 200  $\mu$ m. (c) Macroscopic infection phenotypes of representative leaves of WT and the indicated *mlo* mutants 7 d after inoculation of detached leaves with *Bgt*. Scale bar, 1 cm. (d) Disease symptoms of wild-type (WT) and *tamlo-aabbdd* mutant plants. The photograph was taken 7 d after inoculation *in planta*. Scale bars, 2 cm.



# Po většinu své existence lidstvo žilo v těsném kontaktu s přírodou, půdou



- lovci - sběrači 300 000 generací
- zemědělci 600
- industriální 10 generací