

GM ROSTLINY v PRAXI

HT a IR rostliny

Zdeněk OPATRNÝ

Katedra experimentální biologie rostlin

Přírodovědecká fakulta UK Praha

BAGIR

listopad 2016

Hlavní komerčně využitelné GM plodiny současnosti :

- herbicid - tolerantní (HT)
- insect - resistantní (IR) ... od bavlny po biopaliva

Omezená komerce

- patogen resistantní (virus resistantní papaje, brambor resistantní k fuzarioze)
- abiotres tolerantní plodiny (sucho-slano „vzdorné“)
- plodiny v molekulárním farmářství (léčiva, diagnostika)
- okrasné byliny/dřeviny
- fytoemediátory

Černí Petři

- biofortifikované plodiny (zlatá a železná rýže)

viz trochu statistiky

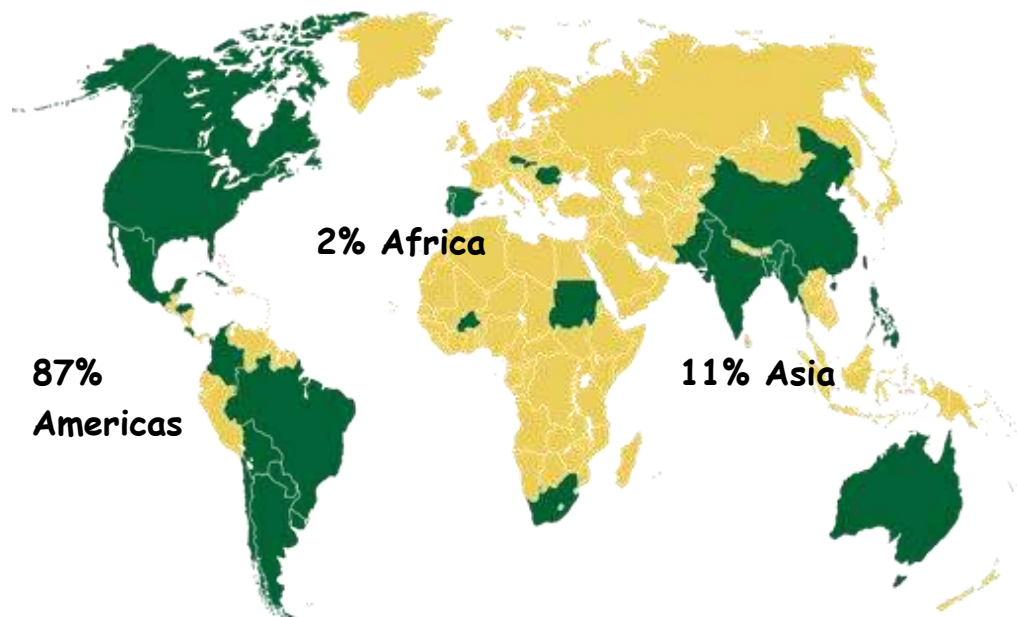


International Service for the Acquisition
of Agri-biotech Applications (ISAAA)

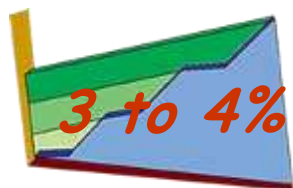
<http://www.isaaa.org>

Global Area (Million Hectares) of Biotech Crops, 2014: by Country

28 celkem, 19 Mega



Increase over 2013



28 countries which have adopted biotech crops

In 2014, global area of biotech crops was 181.5 million hectares, representing an increase of 3 to 4% over 2013, equivalent to 6.3 million hectares.

Source: Clive James, 2014.

Biotech Mega Countries

50,000 hectares (125,000 acres), or more

		Million Hectares
1.	USA	73.1
2.	Brazil*	42.2
3.	Argentina*	24.3
4.	India*	11.6
5.	Canada	11.6
6.	China*	3.9
7.	Paraguay*	3.9
8.	Pakistan*	2.9
9.	South Africa*	2.7
10.	Uruguay*	1.6
11.	Bolivia*	1.0
12.	Philippines*	0.8
13.	Australia	0.5
14.	Burkina Faso*	0.5
15.	Myanmar*	0.3
16.	Mexico*	0.2
17.	Spain	0.1
18.	Colombia*	0.1
19.	Sudan*	0.1

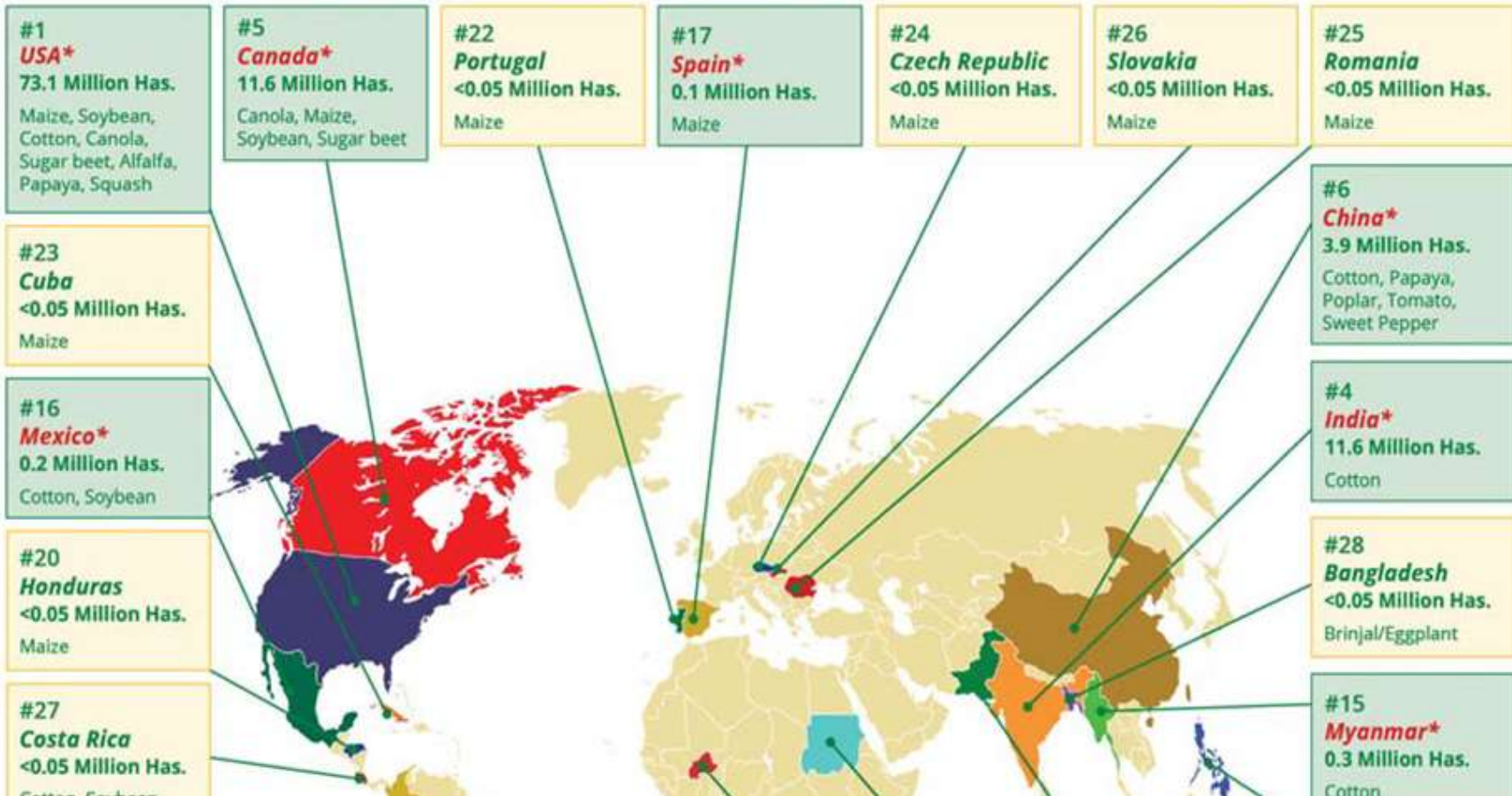
Less than 50,000 hectares

Honduras*	Romania
Chile*	Slovakia
Portugal	Costa Rica*
Cuba*	Bangladesh*
Czech Republic	

* Developing countries

Údaje každoročního přehledu ISAAA - za rok 2014

Biotech Crop Countries and Mega-Countries*, 2014



Údaje každoročního přehledu ISAAA - za rok 2014

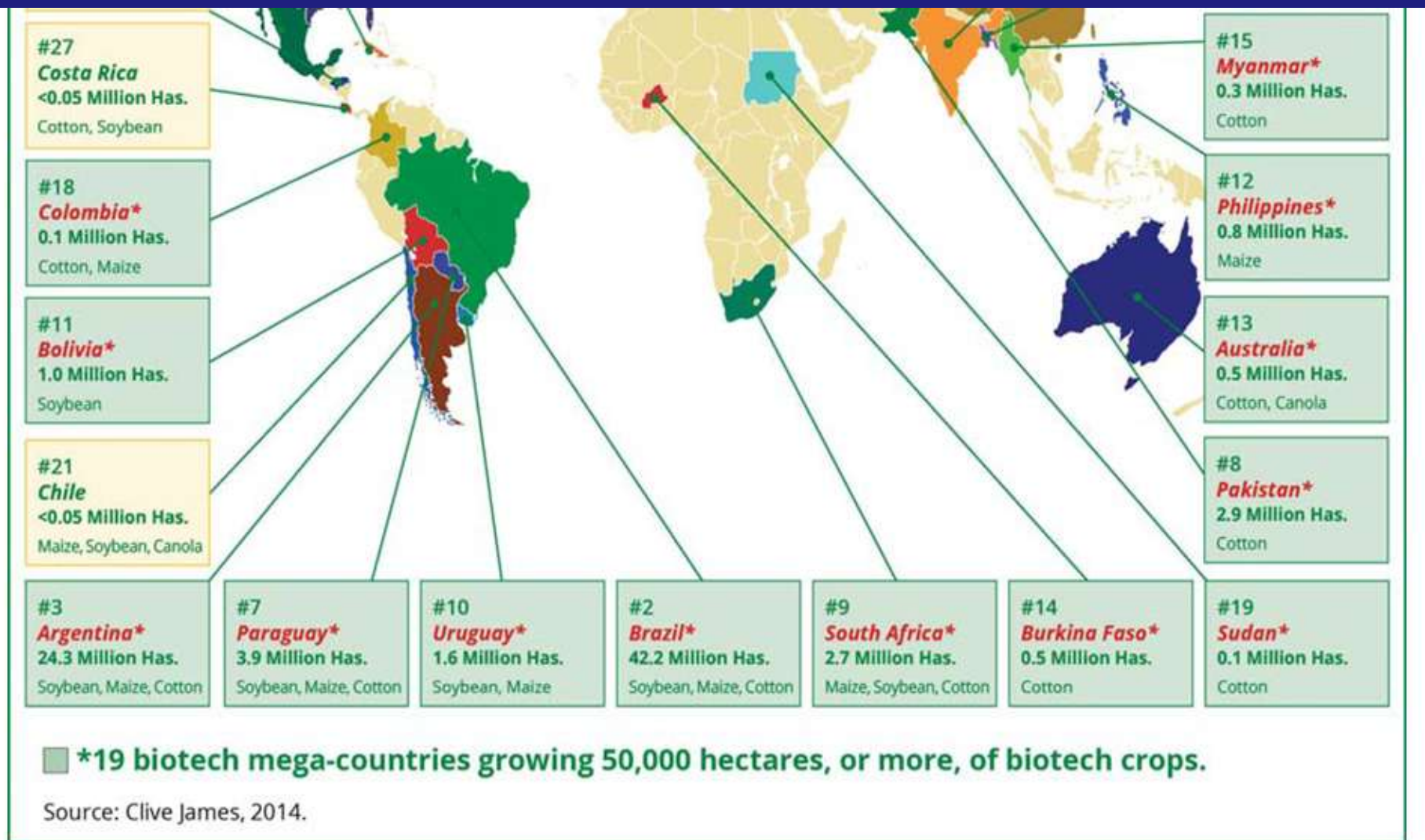


Figure 1. Global Map of Biotech Crop Countries and Mega-Countries in 2014

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2014: By Trait (Million Hectares, Million Acres)



M Acres

297 120

247 100

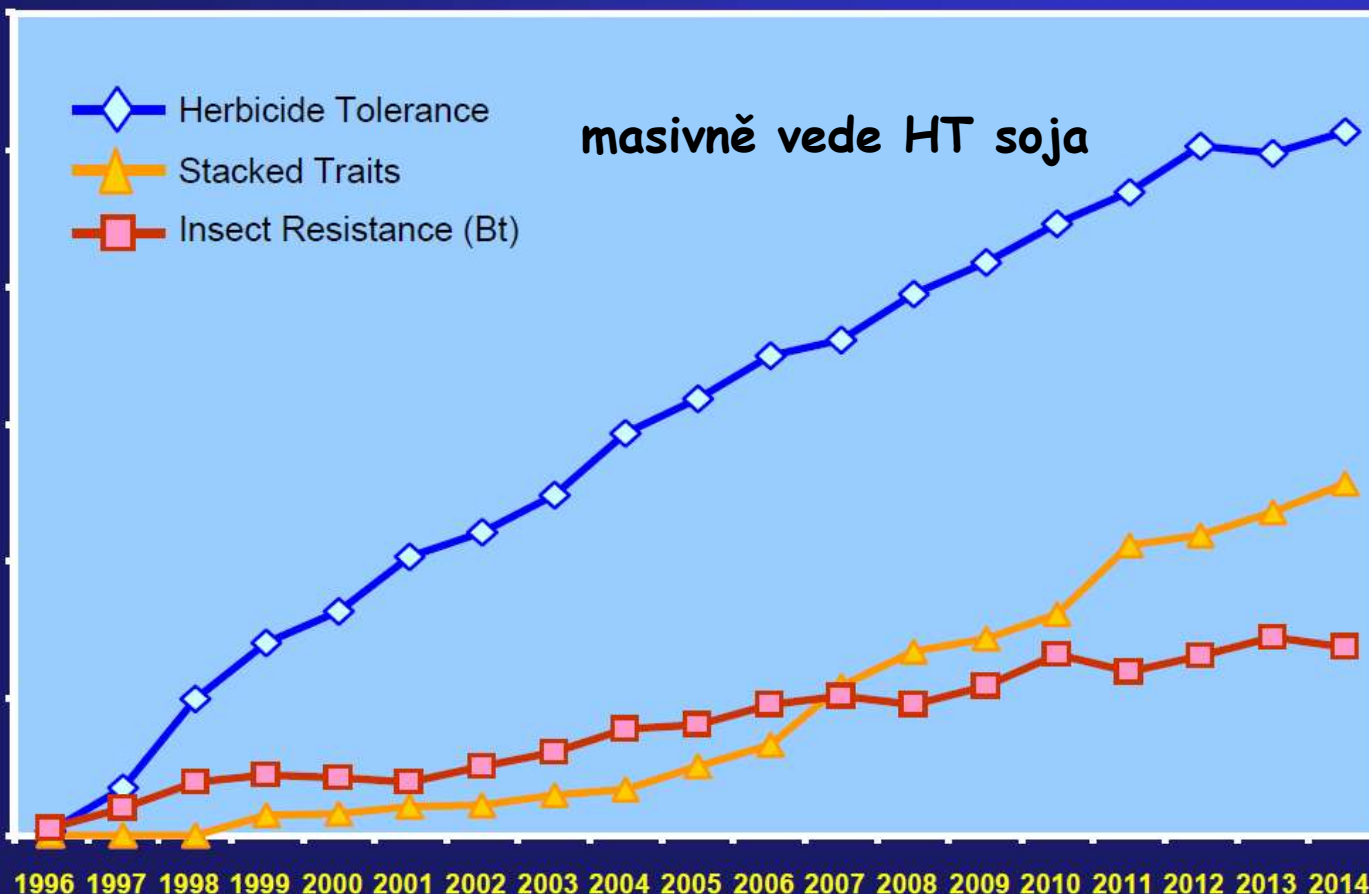
198 80

148 60

99 40

49 20

0 0



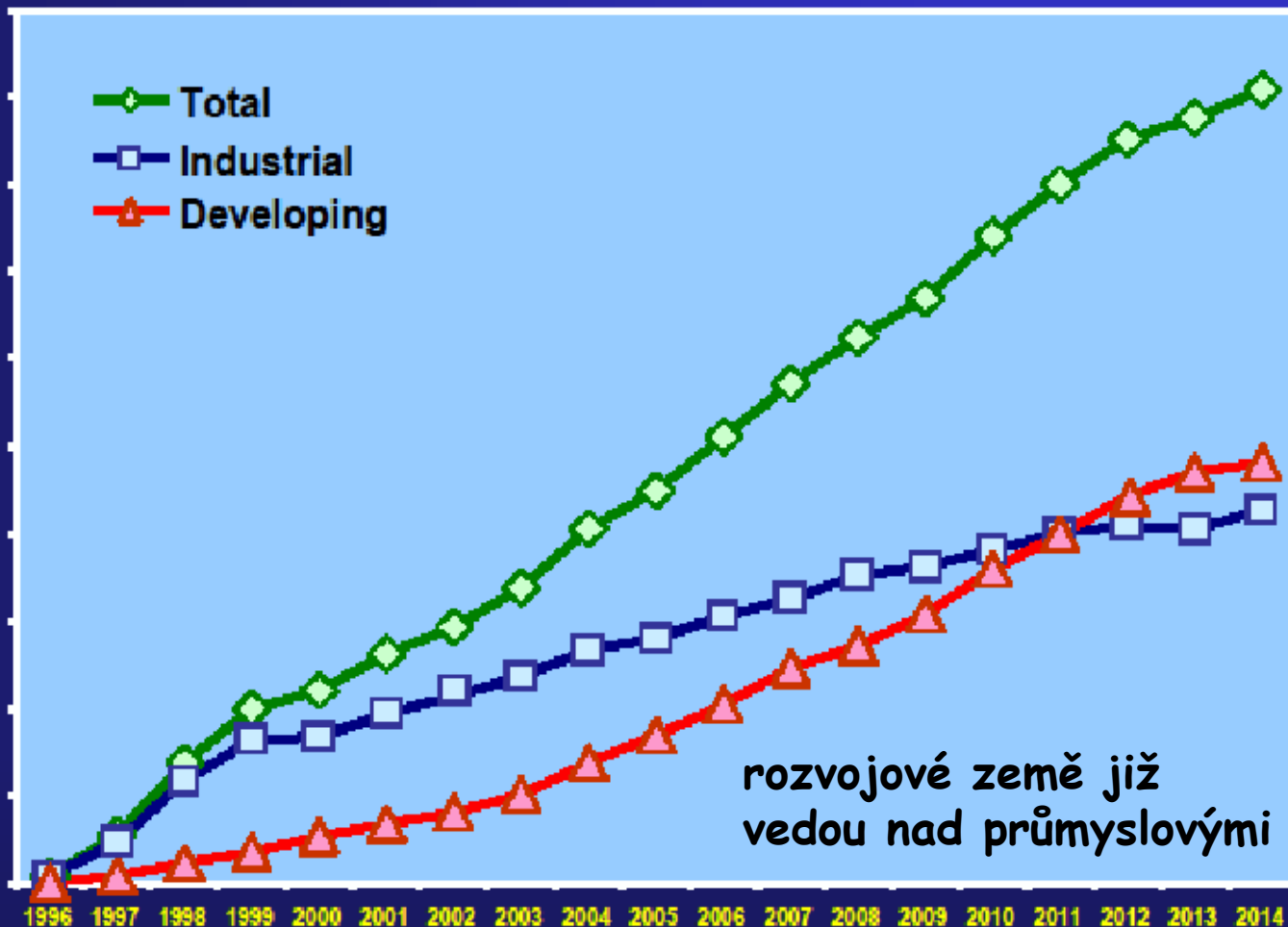
Source: Clive James, 2014

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2014: Industrial and Developing Countries (M Has, M Acres)



M Acres

494 200
445 180
395 160
346 140
296 120
247 100
198 80
148 60
99 40
49 20
0 0

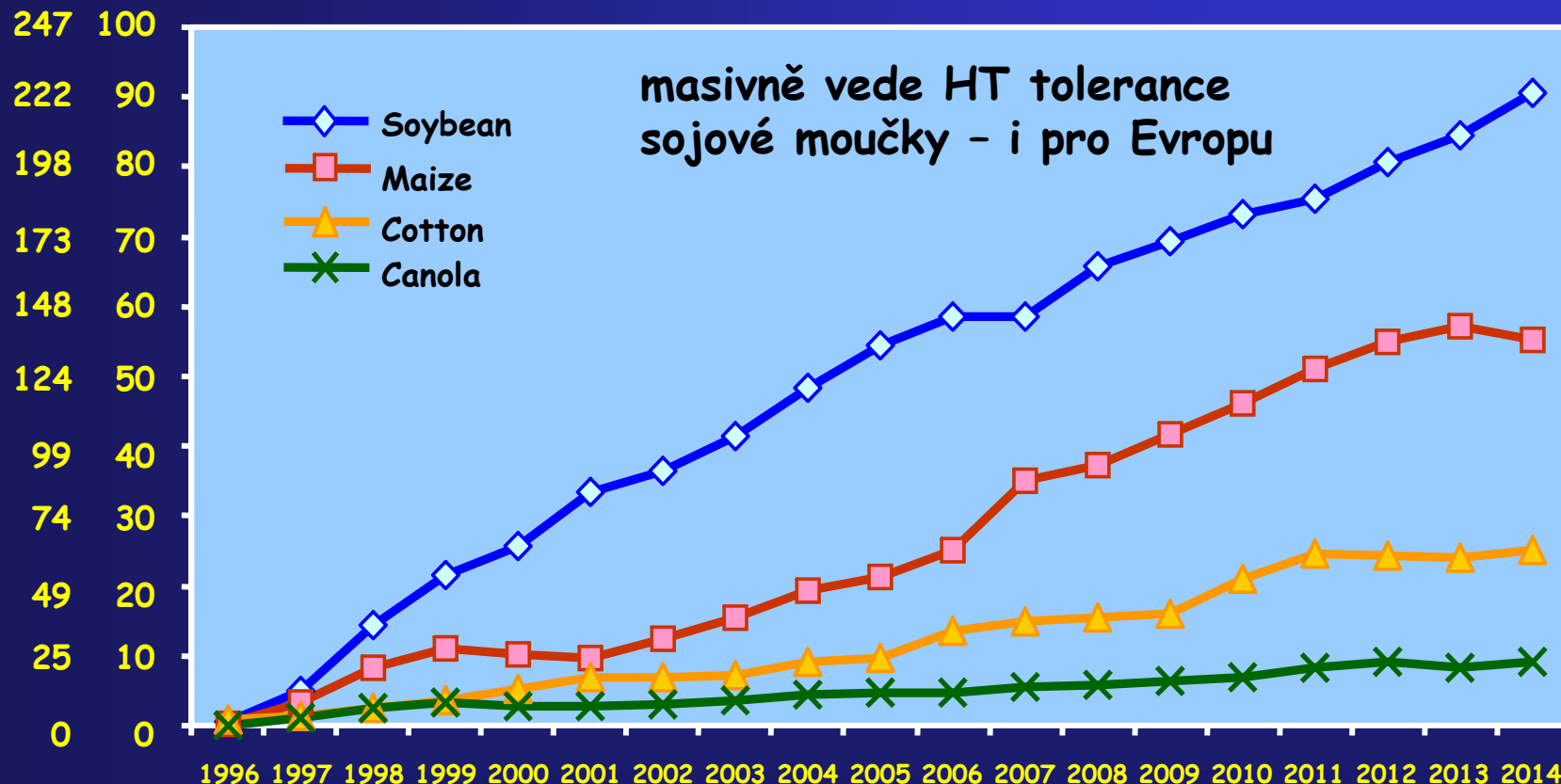


Source: Clive James, 2014

Global Area of Biotech Crops, 1996 to 2014: By Crop (Million Hectares, Million Acres)



M Acres

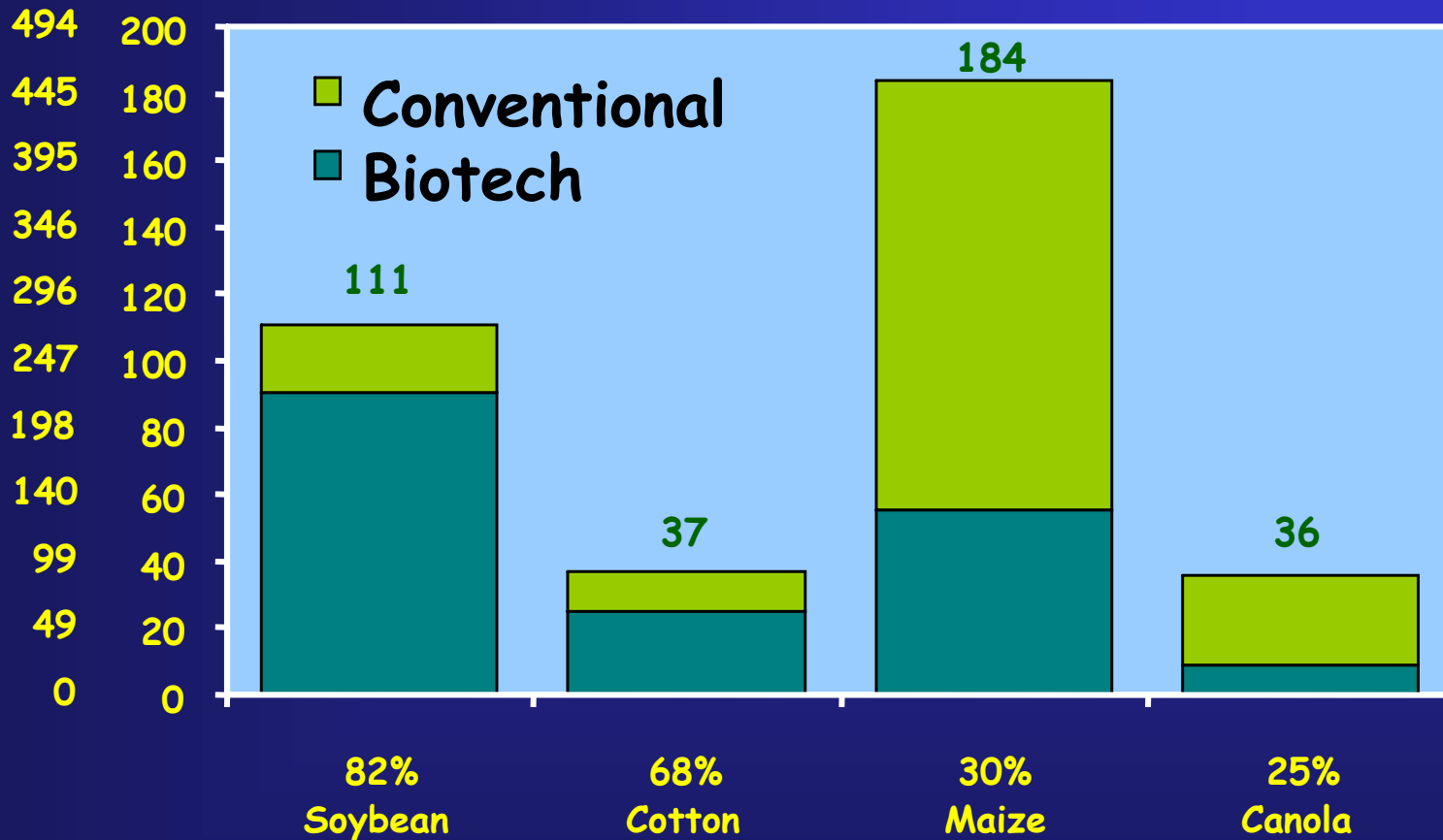


Source: Clive James, 2014

Global Adoption Rates (%) for Principal Biotech Crops (Million Hectares, Million Acres), 2014



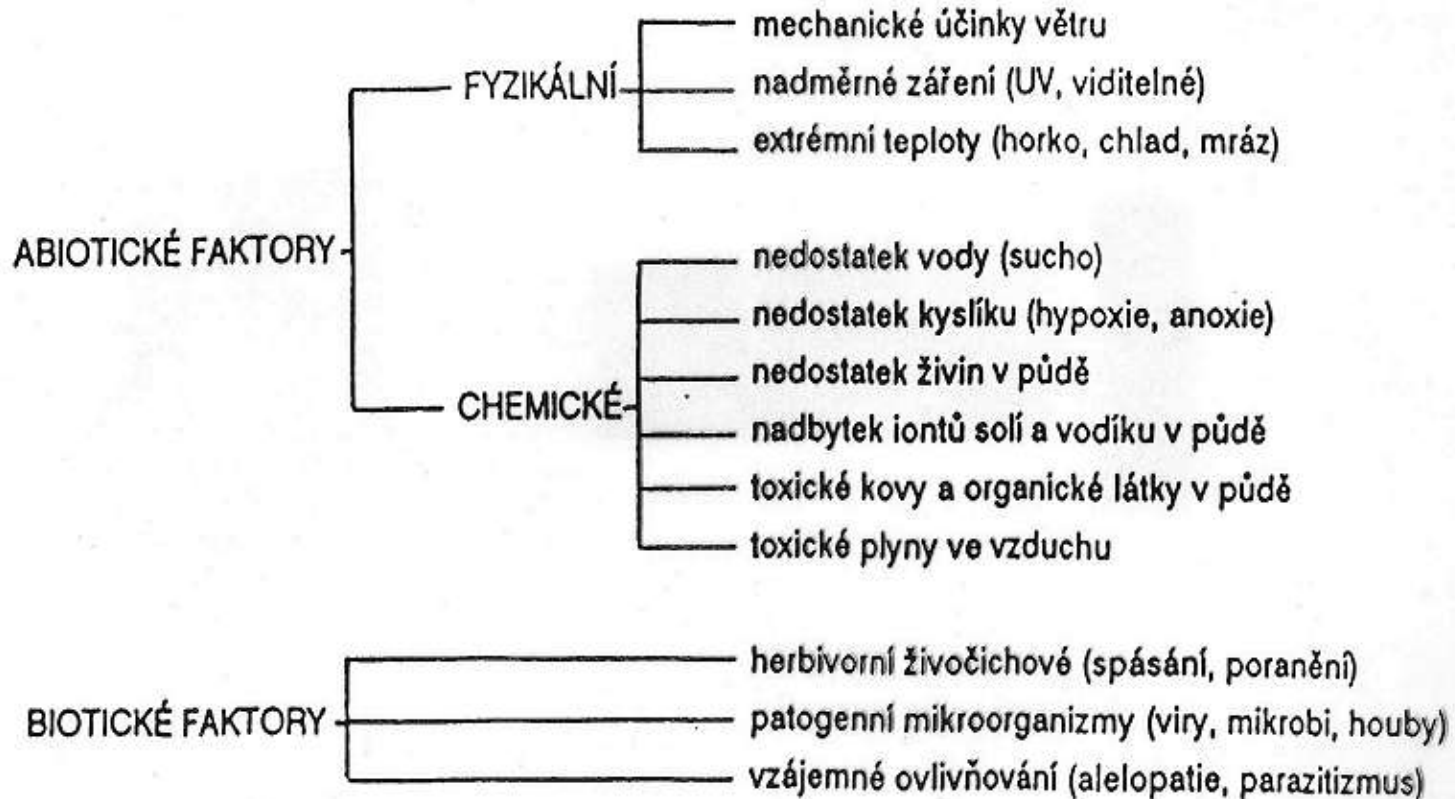
M Acres



Source: Clive James, 2014

Hectarage based on FAO Preliminary Data for 2012.

Souhrnná tabulka stresorů



Přehled nejdůležitějších stresových faktorů, se kterými se rostliny setkávají v přírodě.

GM techniky alternativou klasického šlechtění

ABIOTICKÝ STRES

PLODINY

„SUCHOVZDORNÉ“

Kudy k nim ???

Přenosy genů kodujících/regulujících :

- tvorbu či funkci antioxidantů
- tvorbu či funkci osmoprotektantů
- ERD (early responses to dehydration)
- integritu buněčných membrán
- iontovou homeostázi
- vazebné proteiny vápníku

bezprostřední návaznost na problematiku
„slanuvzdornosti“

Suchovzdorná odrůda kukuřice Optimum AQUAmax



klasický hybrid
zvýšení produkce
za sucha
proti kontrole o 5%

mechanismus ?

**DuPont - Pioneer Hi Bred
2011**

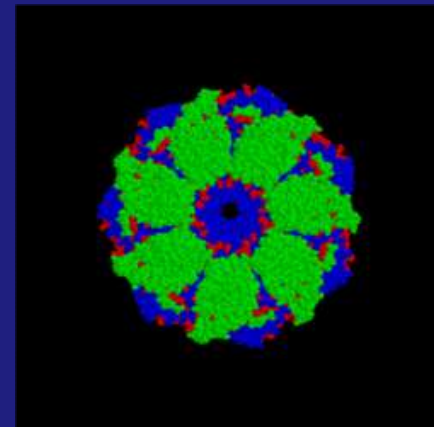
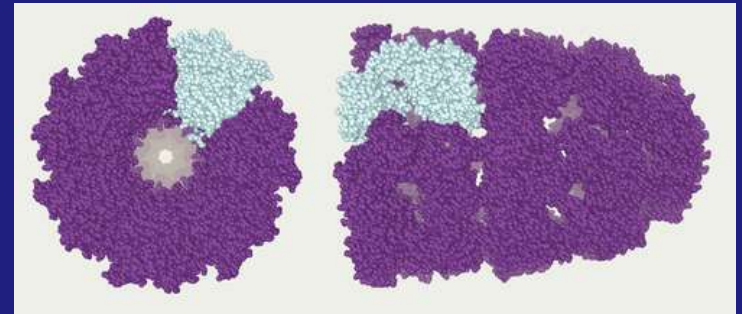
Colorado, Kansas, Nebraska, Texas

Světová biotechnologická trojka Monsanto, Du Pont-Pioneer, Syngenta

Technologie založená na přenosech bakteriálních
CHAPERONŮ (zejm. typu „cold shock proteinů -CSPs)

Modely: **Arabidopsis, rýže**
Plodiny : **kukuřice, bavlník**

Pěstování :
zejména středo západ USA -
sezonní sucha
Kansas, Nebraska



Bacterial RNA Chaperones Confer Abiotic Stress Tolerance in Plants and Improved Grain Yield in Maize under Water-Limited Conditions^[W]

Paolo Castiglioni¹, Dave Warner, Robert J. Bensen, Don C. Anstrom, Jay Harrison, Martin Stoecker, Mark Abad, Ganesh Kumar², Sara Salvador, Robert D'Ordine, Santiago Navarro, Stephanie Back, Mary Fernandes, Jayaprakash Targolli, Santanu Dasgupta², Christopher Bonin, Michael H. Luethy, and Jacqueline E. Heard*

Monsanto Company, Mystic Research, Mystic, Connecticut 06355 (P.C., D.W., R.J.B., D.C.A., C.B., M.H.L., J.E.H.); Monsanto Company, Chesterfield, Missouri 63017 (J.H., M.S., M.A., R.D., S.N., S.B., M.F.); Monsanto Company, Malleswaram, Bangalore, 560003 India (G.K., J.T., S.D.); and Monsanto Company, Cambridge, Massachusetts 02139 (S.S.)

Plant Physiology, June 2008, Vol. 147, pp. 446–455, www.pla



MONSANTO 2008

SCIENTIFIC
AMERICAN™

Sign in / Register

www.sciencemag.com

Energy & Sustainability · Climate · July 27, 2012 · 10 Columns · Email · Print

Drought-Tolerant Corn Efforts Show Positive Early Results

Types of genetically modified corn could offer modest protection for drought tolerance and might help individual farmers recoup yield losses in drought conditions.

By Tiffany Steyer and Christopher

Continued

In the midst of the nation's worst drought in 50 years, two of the world's largest agricultural companies are testing corn that is bred and genetically engineered to withstand low rainfall levels.

Monsanto's DroughtGard hybrid corn — the first-ever hybrid genetically engineered for drought tolerance — was planted this spring in initial field trials. Sowed amid sufficient rain and optimism for a record-breaking crop yield, the company has encountered a close to worst-case scenario to test its product.

In addition, DuPont Pioneer's hybrid AQUAmax corn — developed using advanced breeding techniques rather than biotechnology — debuted last year with five different versions. This year, the company is launching six more with drought tolerance traits combined with pest resistance and other high-yielding attributes.

But the drought ripping through the Midwest is persistent and widespread. Despite positive feedback from farmers, the companies admit that cutting-edge technology can only go so far.



Image: Boby/Corbis/Bett

MONSANTO
2012



cspB RNA chaperon protein
z *Bacillus subtilis*



Matt DiLeo



http://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=LZvJ1vJHiec

Polní pokusy firmy **SYNGENTA** na Western Kentucky University 2011



Sezonní sucho těsně před kvetením výrazně snižuje násadu zrn v klasu . GM varieta (vpravo) tento stres toleruje.

Genetically Modified Plants To Resist Intense Drought

Dívka s kukuřicí, pokusy s GM tabákem, cíl „suchovzdorná“ bavlna tolerující střídavé zavlažování brakickou vodou (1/3 solí vody mořské), ale také odolná rajčata, čirok, rýže



Israeli agro-biotechnology company, **Rosetta Green**, has developed a new technology to develop plants that are better able to withstand prolonged periods of **severe drought**.

The company, **based in Rehovot, Israel**, experimented on **tobacco plants** that were irrigated with **seawater instead of freshwater**. The genetically modified plants created by the company were able to grow under seawater irrigation, as opposed to the control group of plants.

GM technologie založené na přenosech
genů kodujících různé micro-RNA

BIOTICKÝ STRES

PLODINY

HERBICID TOLERANTNÍ

Biotický stres

je vyvolán interakcí rostliny s jinými organizmy
nebo jejich produkty

- * jiná rostlina : allelopatie, parazitismus
- * patogenní /parazitický (mikro)organismus
 - viry
 - bakterie
 - houby
- * herbivorní živočich

Rostlina rostlině VLKEM

allelopatie ... přírodní **realita** nebo jen laboratorní **fikce** ?

vliv jedné rostliny na druhou v přírodních podmínkách, který je vyvolaný chemickými látkami - allelopatiky, vzájemné ovlivnění může být i příznivé, stimulační

parazitismus ... kokotice, záraza, striga

různě výrazná hostitelská specifita, schopnost „vyčenichat obět“, haustoria prorůstají do cévních svazků, ztráta vlastního kořene parazita.

Rizika systémového šíření virů: oslabení hostitele proti jiným stresorům.

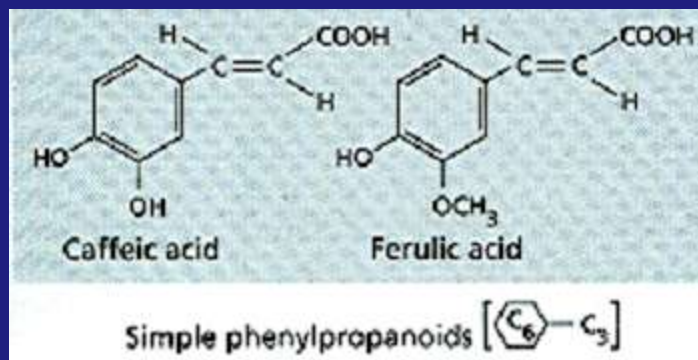
Kalamitní druhy, nutnost karantény - jižní Evropa, tropy. Co do toho vnesou globální klimatické změny ?

saprophytismus ... primární či druhotný

prostá konkurence ... potrava, voda, světlo

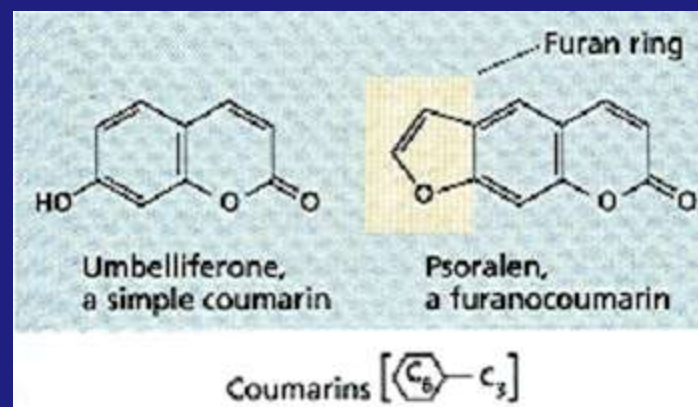
Fenolické látky v obraně rostlin

kyseliny kávová a ferulová
inhibice růstu sousedních rostlin

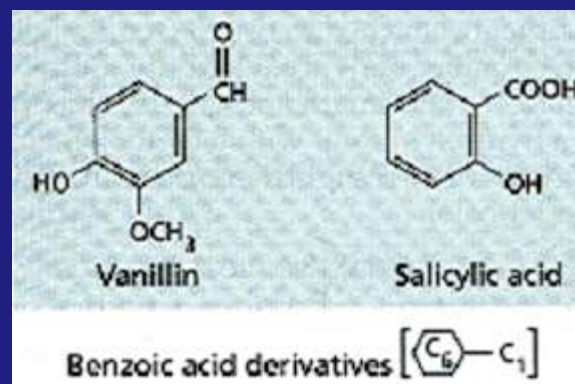


psoralen

po ozáření toxický
pro herbivory - fototoxicita



salicylová kyselina
systemická resistance



Parazitické rostliny v tropickém a subtropickém farmářství možná brzy problém i u nás

AfricaBio

**Biotechnology
for
Small Scale Farmers**



For more information
contact AfricaBio:
Tel: (012) 667 2689

AfricaBio

Šlechtění kulturních rostlin na

resistenci vůči parazitickým rostlinám

prozatím jen „klasické“, bez využití transgenních technik.

např. herbicid přidáván k osivu hybridní kukuřice

Princip:

rozdílná citlivost vůči selektivním či totálním herbicidům

***Ua Kayongo* Hybrid Maize:**

The *Striga* Killer is now available to Kenyan maize producers!

Strigaway™ is based upon inherited resistance to a systemic herbicide (Imazapyr).

When Imazapyr-resistant (I-R) maize seed is coated with the herbicide, *striga* attempting to parasitize the resulting plants are destroyed!

For the first time, farmers can actively suppress and reduce *striga* seed banks in soil by protecting maize with a “chemical barrier” to *striga* infection.

Ua Kayongo hybrid maize has been treated with

Strigaway™ (Imazapyr) herbicide, Lindane insecticide and

Thiram fungicide and is intended

for planting in fields infested with *Striga*.

Ua Kayongo is planted and managed in the same way

you normally cultivate your maize in terms of spacing

and early weed management but

special care must be taken

not to damage intercrops planted with maize by

avoiding contact with *Strigaway™*. *Ua Kayongo* is a modern

herbicide technology and NOT a GMO.

Ua Kayongo Hybrid Maize

The Striga Killer

A New Approach to Controlling Parasitic
Striga for Kenyan Maize Producers!



Prepared by P.L. Woomer
and Musa N. Omare for the
AATF Striga Management
Project



Bt Maize

Case Study

South Africa

budoucnost hybridního osiva
s kombinovanou resistencí
tj. herbicid-tolerantního
insekt resistantního ?

JULY 2006

HERBICIDY

používány od třicátých let minulého století

selektivní

širokospektrální

aplikace během pěstování plodin

totální (padesátá léta) „short lifespan“

aplikace před setím plodiny

GM technologie umožňují použití i během celé pěstební doby

HERBICIDY

hubí „cílové“ rostliny inhibicí/desorganizací procesů:

- **syntézy aminokyselin/bílkovin**

chlorsulfuron sloučeniny, Roundup, Basta

- **tvorby/transportu/funkce růstových látek**

retardanty, defolianty (2,4-D;2,3,5-T)

- **fotosyntézy**

atrazin, simazin, bromoxynil....fotosystem II

fenmedan ...Hillova reakce

**různé typy metabolismu u různých druhů
úzké listy obilovin x široké plevelů**

Shodná aktivní látka, různé komerční názvy

Table 2.1. Overview of herbicides in use

Herbicide families	Examples
Amino acid synthesis inhibitors	Roundup, Rodeo, Harmony Extra
Ammonia assimilation inhibitors	Basta, Liberty
Cell membrane disrupters	Gramoxon, Diquat, Cobra
Growth regulators	Banviel, 2,4-D, MCPA, Stinger
Inhibitors of plant pigment synthesis	Zorial, Balance, Callisto, Command
Lipid synthesis inhibitors	Assure II, Acclaim Extra, Fusillade
Photosynthesis inhibitors	Velpar, Basagran, Buctril, Aatrex
Seedling growth inhibitors	Treflan, Prowl, Sonalan, Barricade

Průběžný vznik resistantních subpopulací plevelů je trvalým fenoménem klasického zemědělství

Herbicid Tolerant GM plodiny nejsou výjimkou z tohoto pravidla,

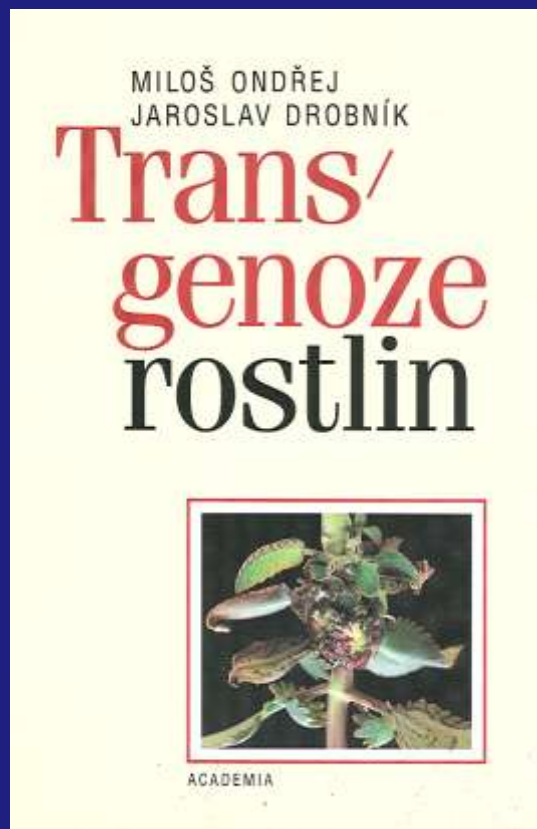
ALE

riziko je sníženo využitím **TOTÁLNÍCH** herbicidů s originální přípravou v účinné dávce

Herbicid -tolerantní plodiny

už v roce 2001
tedy 15 let pěstování

rozsah ploch mnohonásobně narostl
NEJSOU V EVROPĚ



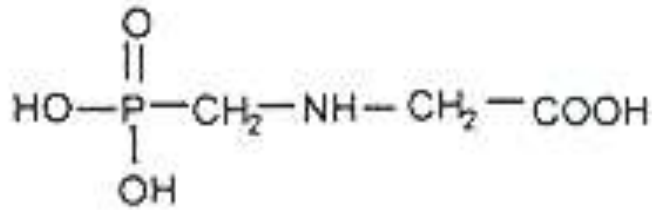
Tab. 22 Transgenní odrůdy

a) Rezistentní k herbicidům – odrůdy povolené v Kanadě

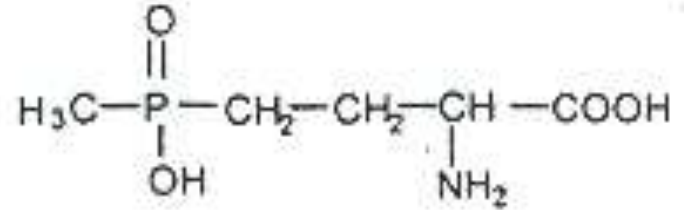
Druh	Tolerance k herbicidům	Instituce – firma	Odrůda
cukrovka	glyfozát	Monsanto	
	glufosinát	*AgrEvo	
řepka	glufosinát	Hoechst-AgrEvo	Liberty Link
	glyfozát	Monsanto	Roundup Ready
	bromoxynil	Rhône-Poulenc Ag Co.	
čekanika	glufosinát a pylová sterilita	Bejo Zaden	Seed Link
leň	rezistence k sulfonylmočovině	Univerzita v Saskatchewanu	
kukuřice	glyfozát	Monsanto	
	glyfozát a Bt-toxin	Monsanto	
	glufosinát	Monsanto/DeKalb	
	glufosinát	Hoechst/AgrEvo	Liberty Link
	glufosinát/pyl. sterilita	Hoechst/AgrEvo/PGS	Seed Link
	glyfozát	Monsanto/DeKalb	Roundup Ready
havlík	bromoxynil	Monsanto/Calgene/Rhône Poulenc	BXN Cotton
	sulfonylmočovina	DuPont	Roundup Ready
	bromoxynil a Bt-toxin	Monsanto/Calgene/Rhône Poulenc	
	glyfozát	Monsanto	Roundup Ready
rýže	glufosinát	Aventis	
sója	glyfozát	Monsanto	Roundup Ready
	glufosinát	Hoechst/AgrEvo	

b) Rezistentní k herbicidům – odrůdy povolené v Evropě

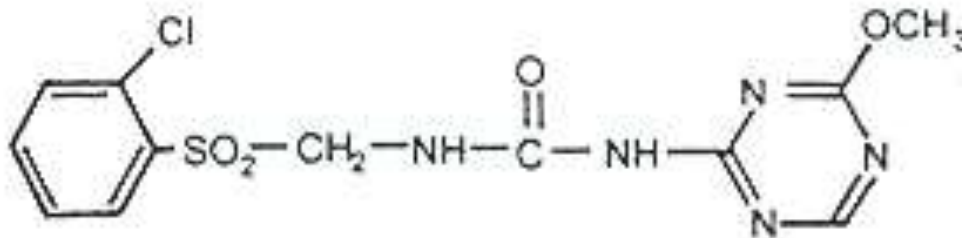
tabák	bromoxynil	Scita	
řepka	glufosinát/stamonium	Plant Genetic Systems	
sója	glyfozát	Monsanto	
čekanika	glufosinát/pylová sterilita	Bejo Zaden BV	
kukuřice	glufosinát/Bt-toxin	Ciba Geigy	



glyfozát



D,L-fosfinotricin



chlorsulfuron



bromoxynil

Obr. 15 Vzorce hlavních herbicidů, k nimž lze do rostlinného genomu vnést toleranci transgenozí.

Ondřej a Drobník 2001

Vlajková loď

tolerance ke **GLYFOSÁTU**

Roundup-Ready plodiny

1985 - první GFT tabák

Princip tolerance:

Postemergentní „totální“ herbicid

glyfozát (N - fosfometyl glycin) inhibuje biosyntézu šikimátu a tím tvorbu aromatických aminokyselin.

Cílový enzym:

5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáza ... **EPSP**

Strategie tolerance:

- * výrazně zvýšená produkce vlastního EPSP
- * schopnost degradace glyfozátu
- * tvorba modifikovaného, glyfozát - necitlivého EPSP

„ **c je správně**“ ... mutantní EPSP geny bakteriálního původu exprimovány v HT plodinách

Herbicid -tolerantní plodiny

tolerance ke **GLUFOSINÁTU**
(fosfinotricinu)

Liberty -Link plodiny

Princip tolerance:

Postemergentní „totální“ herbicid

glufosinát ((4-/hydroxy -(metylfosfinoyl)-D,L-homoalanin))

komerční názvy

Liberty, Basta, Finale, Radicale ..

inhibuje glutaminsyntázu, která detoxifikuje amoniak za vzniku glutamátu. Důsledkem je hromadění amoniaku v pletivech rostliny, intoxikace, rozpad plastidů, blokáda fotosyntézy.

Strategie tolerance:

schopnost degradace glyfozátu - bakteriální geny pro

Phosphinotricin-*N*-acetyltransferázu ...**pat**,

resp. **bar** (Basta-resistant)

Herbicid -tolerantní plodiny

tolerance k **CHLORSULFURONU**

ALS plodiny

(Glean et al.)

Princip tolerance:

Širokospektrální herbicidy -
sulfunylovaná analoga močoviny, blokující činnost
acetolaktátsyntázy, vstupního enzymu metabolické
dráhy esenciálních rozvětvených kyselin valinu, leucinu
a izoleucinu.

ALS mají jen bakterie, houby a rostliny.
Chlorsulfuronové herbicidy jsou tedy pro živočichy
netoxické.

Strategie tolerance:

mutace genu pro ALS v místech vazby herbicidu
Lze je však získat i klasickou mutagenezí u dané
plodiny.

Využití ALS pro GMO tedy dosud minoritní.

ROUNDUP -Ready LIBERTY - Link plodiny a ty další ...

Paul Pechan
Gert E. de Vries

GENES *on the Menu*

Facts for
Knowledge-Based
Decisions



Springer

Table 2.2. Herbicide tolerances in GM crops

Active ingredient of herbicide	Transgenic plant
Chlorsulfuron	Sugar beet, sunflower
Isoxazole	Maize, oilseed rape, soybean
Oxynil	Cotton, oilseed rape
Sulfonylurea	Sugar beet
Sulfonamide	Oilseed rape

Table 2.1. Overview of herbicides in use

Herbicide families	Examples
Amino acid synthesis inhibitors	Roundup, Rodeo, Harmony Extra
Ammonia assimilation inhibitors	Basta, Liberty
Cell membrane disrupters	Gramoxon, Diquat, Cobra
Growth regulators	Banviel, 2,4-D, MCPA, Stinger
Inhibitors of plant pigment synthesis	Zorial, Balance, Callisto, Command
Lipid synthesis inhibitors	Assure II, Acclaim Extra, Fusillade
Photosynthesis inhibitors	Velpar, Basagran, Buctril, Aatrex
Seedling growth inhibitors	Treflan, Prowl, Sonalan, Barricade

REALITA

EVROPSKÉ SOUČASNOSTI

Návrh na úplný zákaz použití glyfosátu

důvody oficiální i skutečné ?

odklad na tři ??? léta

PLODINY

INSEKT RESISTENTNÍ

HERBIVOR x rostlina

ztráta biomasy, metabolitů, funkčních orgánů,
významné změny metabolismu



oslabení organismu a obrany vůči dalším patogenům
poranění - „vstupní brána infekce“
„aktivní vektory“ zejména viróz : mšice, hád'átka

Přirozená ochrana rostliny proti hmyzím herbivorům

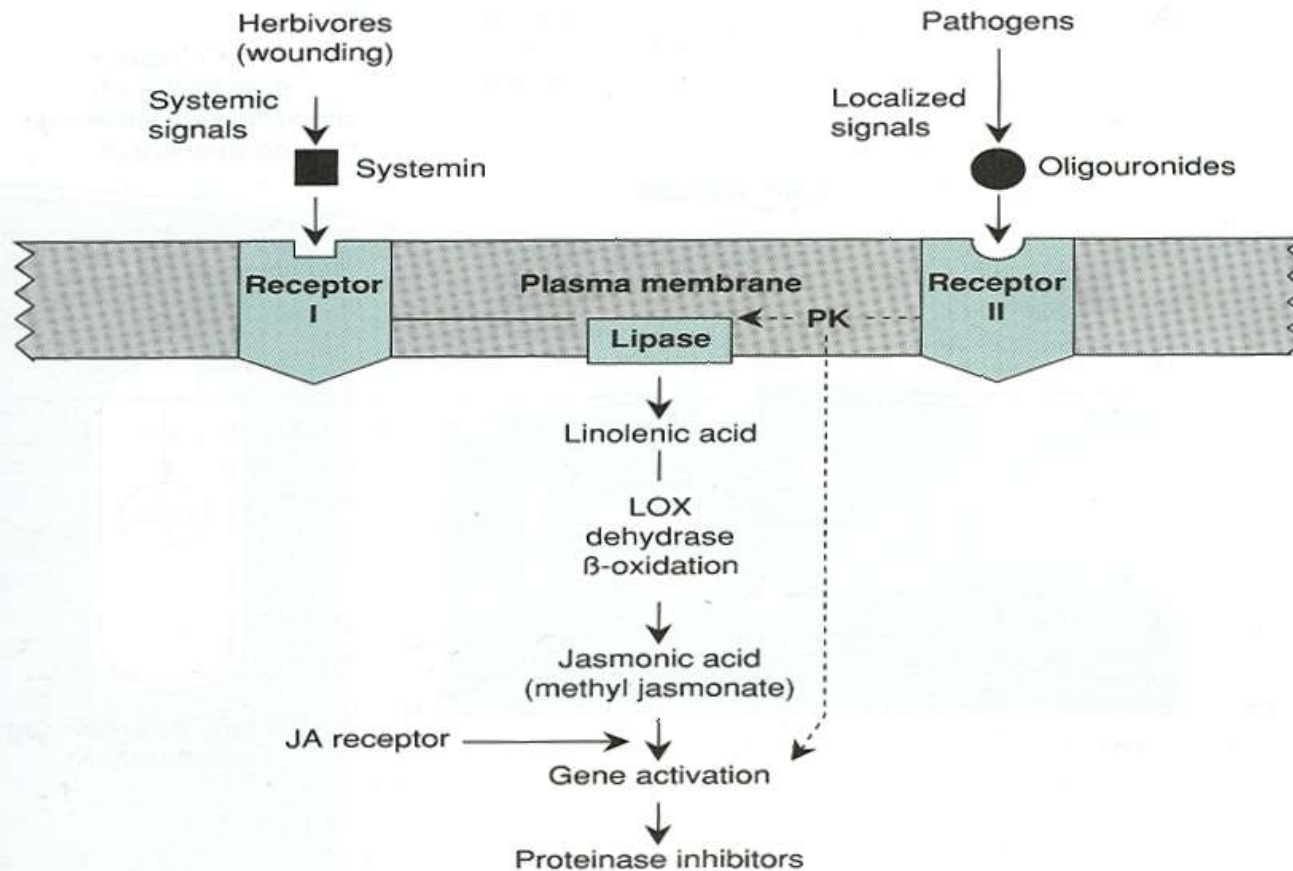
příklad brambor:

Glykoalkaloidy ... alfa chaconin + alfa solanin tvoří až 95% hlavně osvětlené části, hořká chuť, nevolnost až smrt

- * „fatal oral dose“ pro dospělého člověka 420 mg
- * povolený limit v konzumních hlízách 20mg/100 mg č.v.
- * „leptiny“ v listech *Solanum chacoense* ... acetylované, jen v listech

Žlázkaté trichomy ... proti drobnému hmyzu

INHIBITORY PROTEÁZ / PROTEINÁZ ?

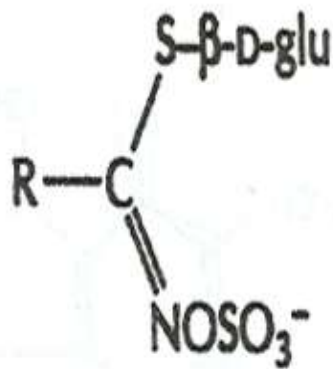


Model for the signaling pathway leading to the induction of proteinase inhibitor genes

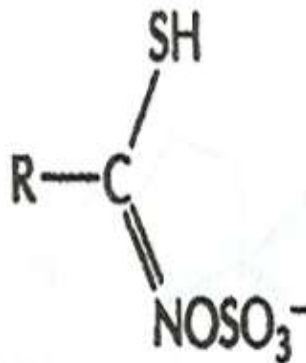
PK, protein kinase; LOX, lipoxygenase; JA, jasmonic acid. Redrawn with permission from Farmer and Ryan (1992).

GLUKOSINOLÁTY: jedy a odpuzovače

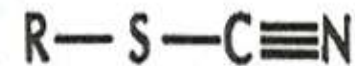
- * ochranné produkty rostlin
- * rostlinná „imunostimulancia“ pro člověka



glukosinolát



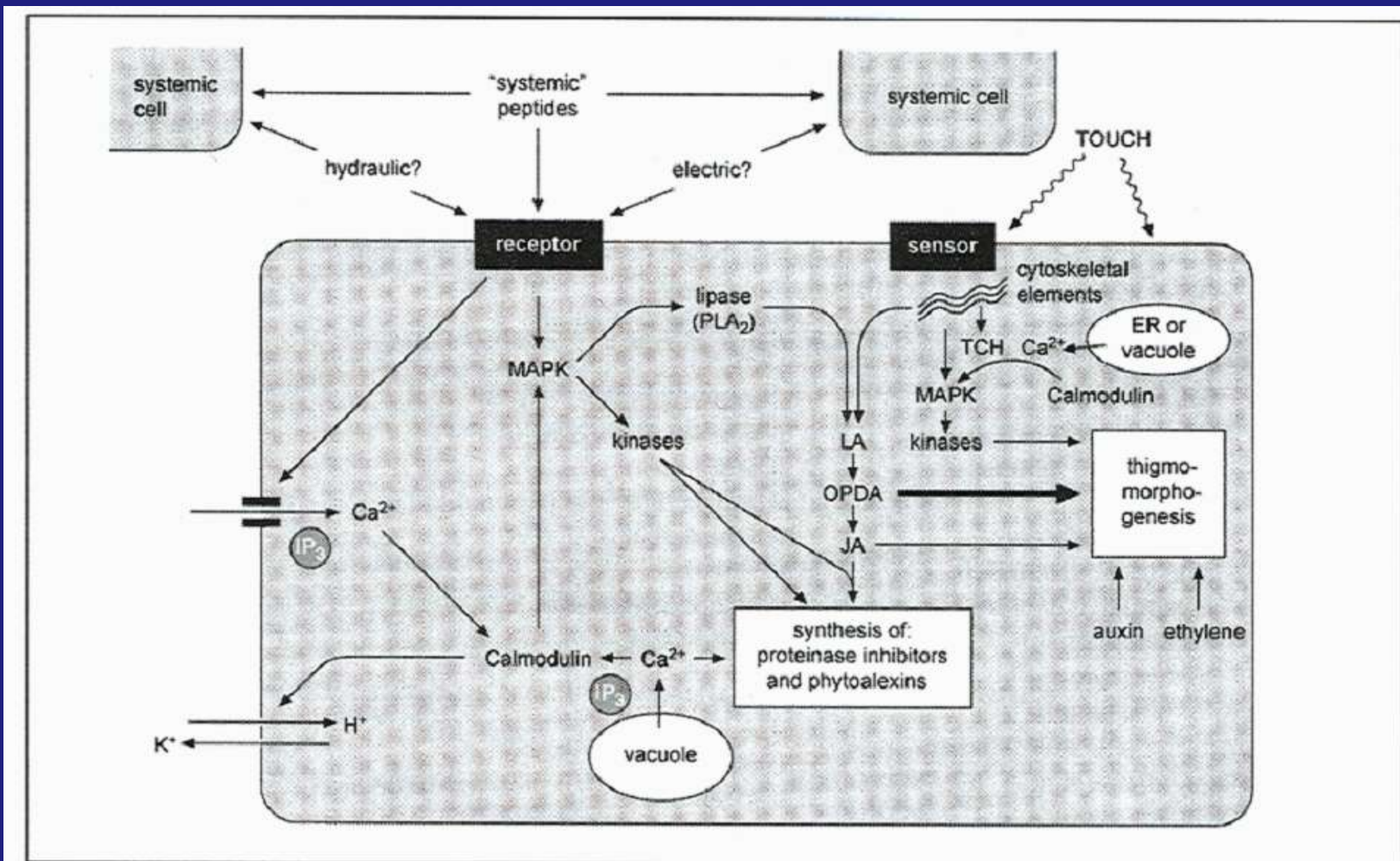
meziprodukt
uvolňující SO_4^{2-}



různé toxické látky
izothiokyanát, nitril, thiokyanát

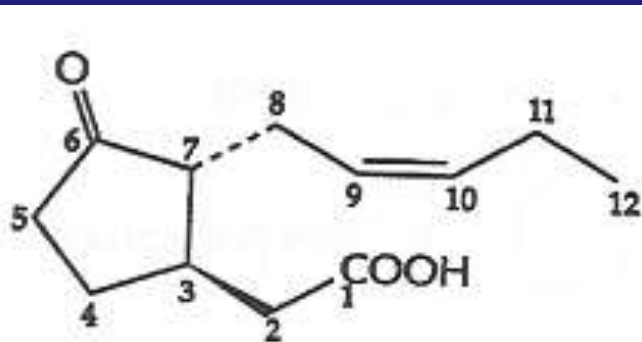
Glukosinoláty jsou glukosidy obsahující síru. Při poranění jsou hydrolyzovány na nestálé meziprodukty a dále se mění na látky uvolňující SO_4^{2-} a HCN.

Ochranná role proteinázových inhibitorů a fytoalexinů

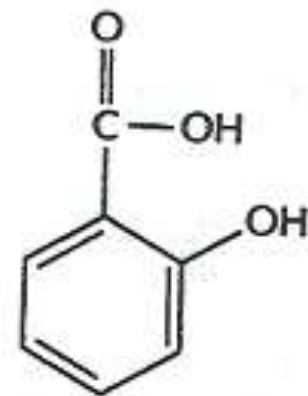


A synopsis of local and systemic reactions involved in wound and touch sensing of plant cells.

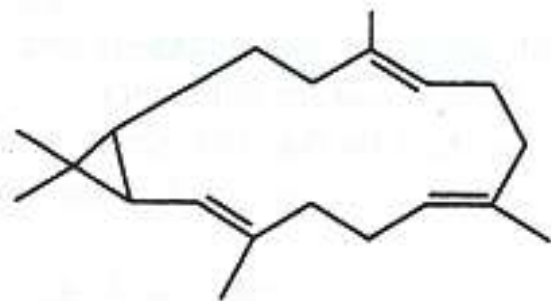
poznatky využitelné v přípravě transgenních **IR** plodin



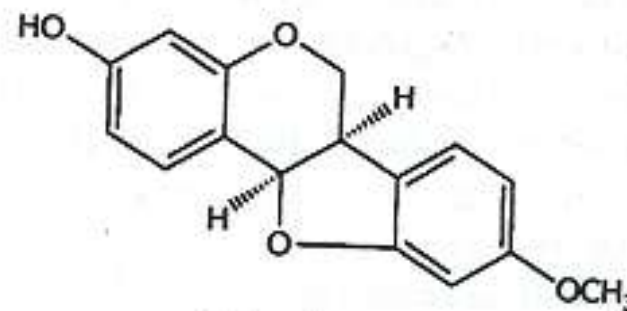
kyselina jasmonová



kyselina salicylová



kasben



medikarpin

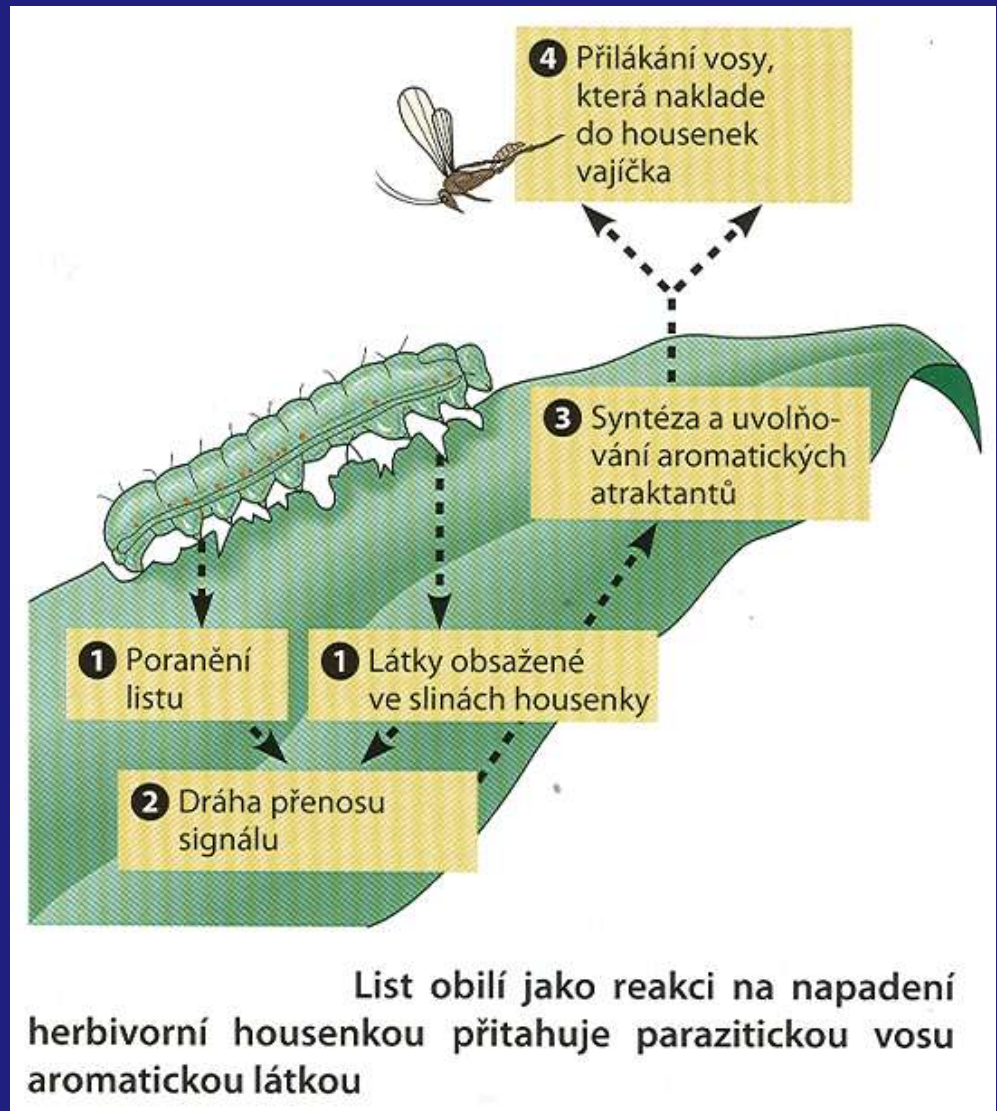
Fytoalexiny – kasben (diterpen; skočec – *Ricinus communis*) a medikarpin (izoflavonoid; vojtěška – *Medicago sativa*).

Sofistikovaná ochrana:

lákání parazitických predátorů

alternativy pro „biozemědělce“

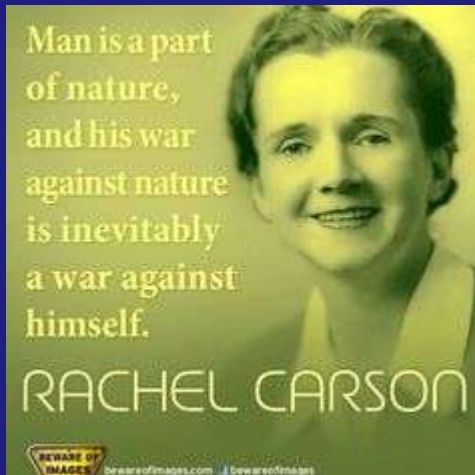
ale také jedna z GM strategií: falešné feromony viz T. Macek



Insekticidy „průmyslové“

40 – 50 léta ...masivní aplikace zejména **DDT**
prioritní nebyla a není ochrana rostlin, ale přímá
ochrana člověka - jemu DDT v insekt-účinných dávkách
neškodí

malaria, spavá nemoc ... problém trvá dodnes,
místně povolena interní aplikace, načerno externí



Zelený Mein Kampf 1962




Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin

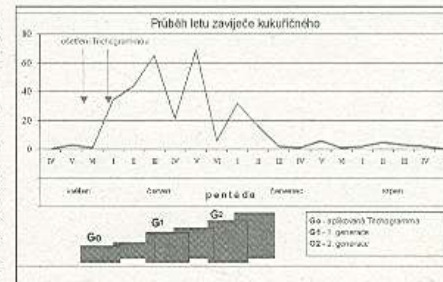


MŽP Praha 2003

BIO INSEKTICIDY



Applikace chalcidek rodu *Trichogramma* na kukuřici



Graf průběhu letu zavijče kukuřičného a termíny aplikace *Trichogrammy* (zdroj: Biocont)

Trichocap – *T. exantersceus*. Tricho – strip – *T. brassicae*.

Použití:

orná půda

- kukuřice (osivo, zrna, siláž, cukrová kukuřice) – zavijec kukuřičný, černopáská bavlníková,
- zeli, kvěťák a ostatní brukvovité,
- mára zelná (v ČR v ověřování),
- paprika – zavijec kukuřičný,
- černopáská bavlníková (v ČR v ověřování)
- rajčata – černopáská bavlníková (v ČR v ověřování).

skleníky – motýli (mára zelná a další druhy rodu *Mamestra* a *Lacanobia*), černopáská bavlníková, případně další druhy mūr (v ČR v ověřování).

sklady – zavijec, příp. další skupiny škodlivých motýlů (v ČR v ověřování).

Následující bioagens se používají především na zelenině a květinách, ve sklenících a v interiérech:

- ***Aphidius colemani*** – parazitoid mšice (mimo kyjatek),
- ***Aphidius ervi*** – parazitoid kyjatek (mšice),
- ***Aphidletes aphidimyza*** – predátor mšic preferující mšice v koloniích,
- ***Phytoseiulus persimilis*** – predátor svílušky chmelové,
- ***Encarsia formosa*** – parazitoid molic,
- ***Eretmocerus eremicus*** – parazitoid molic, používá se především proti molicí bavlníkové,
- ***Macrolophus caliginosus*** – predátor molic,
- ***Amisetus degenerans*** – predátor třásněnek,
- ***Amisetus carifonicus*** – predátor svílušek,
- ***Amblyseius cucumeris*** – predátor třásněnek,
- ***Leptomastix dactylopi*** – parazitoid pučlík,
- ***Hypoaspis aculeifer*** – predátor larev dvoukřídlých a třásněnek,
- ***Cryptolemus montrouzieri*** – predátor červců,
- ***Dacnusa sibirica*** – parazitoid larev vrtalek,
- ***Diglyphus isae*** – parazitoid larev vrtalek,
- ***Orius laevigatus*** – predátor širšího spektra hmyzu a roztočů,
- ***Hippodamia convergens*** – predátor mšic,
- ***Typhlodromus pyri*** – predátor fytosugních roztočů, především svílušek a háččivců.
Použití: ovocné sady a vinice. Druh dlouhodobě přežívá v ošetřených kulturách, takže obvykle stačí pouze jedna aplikace.
- ***Phasmarhabditis hermaphrodita*** (přípravek Nemaslug): Hlístice parazitující ve slímáčcích.
Aplikují se závlivkou na vlhký povrch půdy.



Parazitují v mnoha druzích slímáků.
Použití: zelenina na orné půdě, zahrady, skleníky a okrasné školky.

- ***Steinernema feltiae*** (Entonem): hlístice parazitující v larvách dvoukřídlého hmyzu. Aplikace závlivkou na vlhký povrch půdy.
Použití: žampionárny, množárny květin, byty a interiéry, produkce zahrádkářských substrátů.

- ***Heterorhabditis megidis*** (Larvanem): hlístice parazitující v larvách lalokonošů.
Použití: okrasné školky, okrasné zahrady (především rododendrony).

■ Mikrobiální biopreparáty

- ***Bacillus thuringiensis kurstaki*** (Biobit XL, Biobit WP): bakterie napadající housenky motýlů. Aplikuje se postřikem v době lhnutí housenek z vajíček.
Použití: orná půda – košťáloviny – bělásci, předivka polní – fenykl, kmín, kopr, mrkev, pastinák a petržel – makadlovka křmínová, obaleč polní – v zahraničí je povoleno i k ochraně kukuřice před zavijcem kukuřičným a černopáskou bavlníkovou.
skleníky – černopáská bavlníková a jiné druhy motýlů
ovocné sady – jablona – obaleč jablečný – všechny druhy ovocných dřevin – přástevníček americký, bekyně zlatohlavá, píďalka podzimní, bourovec prstěnicový a některé další druhy škodlivých motýlů
vinice – obaleč jednopásý a obaleč mramorovaný

Biologická ochrana rostlin ve sklenících



Trichogramma pinto



Trichogramma – kladení vajíček



Dravý roztoč
Typhlodromus pyri

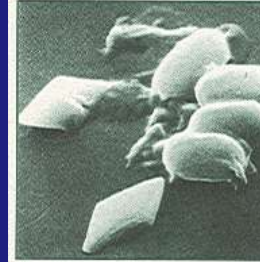


Hlístice r. *Steinernema*

Bioinsekticidy:

Biobit XL, Biobit WP Bt *kurstaki* ...motýli

Novodor Bt *tenebrionis*..mandelinky, květostas jabloňový



Bílkovinné krystalky produkované bakterií *Bacillus thuringiensis*

Problémem komerčních přípravků ochrany rostlin je fakt, že možnosti jejich praktického používání se mění podle toho, jestli v dané zemi jsou nebo nejsou registrovány. Příkladem je pro EZ velmi užitečný preparát Novodor, který v ČR ztratil registraci, ale v EU se běžně používá

- ***Bacillus thuringiensis tenebrionis*** (Novodor): bakterie napadající larvy brouků, například mandelinky bramborové, květostasu jabloňového, případně dalších brouků. V současnosti již v ČR vypršela platnost registrace, kterou bude však možné obnovit. V EU je přípravek Novodor v EZ hojně využíván zejména v ochraně proti mandelince bramborové a květostasu jabloňovému.

- ***Bacillus subtilis*** (Ibefungin): bakterie produkující enzymy, které mají baktericidní a fungicidní účinek.

Použití: vinice – plíseň šedá, máčení a postřik sazenic okrasných dřevin.

- ***Trichoderma harzianum*** (Supresivit): spóry hyperparazitické houby parazitující na myceliu patogenních hub.
Použití: inkrustace či moření osiva zeleniny a okrasných rostlin, zapracování do substrátů.

- ***Pythium oligandrum*** (Polyversum): oospory hyperparazitické houby parazitující na fytopatogenních houbách.
Použití: moření osiva okurek, závlivka okurek, moření osiva pšenice proti černání pat stébel.

9.3.2 Mechanické prostředky ochrany

Optické lapáky – žluté lepové desky proti mšicím a molicím ve sklenících, modré lepové desky proti třásněnkám, žluté sférické lapáky vrtule třešňové, bílé lepové desky proti pilatkám. Tyto lapáky mají jen omezenou účinnost a většinou se využívají spíše k monitoringu náletu daných škůdců.

Lepové pásy – proti píďalce podzimní na ovocných dřevinách.

Netkané textilie (sítě) proti hmyzu, např. proti pochmurnatce mrkvyové a dalším škůdcům zeleniny. Použití rovněž urychluje růst rostlin zvýšením teploty a vlhkosti. Více v kapitole 11 Zelinářství.

NESMÍ ti zapršet či příliš foukat
MUSÍŠ se trefit do správného vývojového stadia
škůdce

Jak zvýšit stabilitu/účinnost BT preparátu v ošetřené vegetaci ?

Vydrží v porostu jen několik dní, nutná častá opakování

- * bioenkapsulace
- * nesporující bakterie *Pseudomonas* + jejich následná chemická likvidace
- * hybridní mikroorganizmy- směs delta endotoxinů
- * produkce toxinů endofytními bakteriemi

* **TRANSGENOZE rostlin**

Mechanismus účinku:

účinným faktorem je DELTA endotoxin, dle své krystalické formy zván také CRY- protein

již v 50-tých letech známo až 170 Cry -proteinů, jen několik aplikačně zajímavých ... **PĚT „SEROVARs“**

Bt. var *kurstaki*, var *thuringiensis*, var *aizawai*Lepidoptera

Bt. var *israelensis*mosquitos, black flies... Diptera

Bt. var *tenebrionis*Coleoptera

dle Ferré et al. 2008

Specifita vazby různých Cry -proteinů a současně funkční zázemí vzniku Bt resistencí

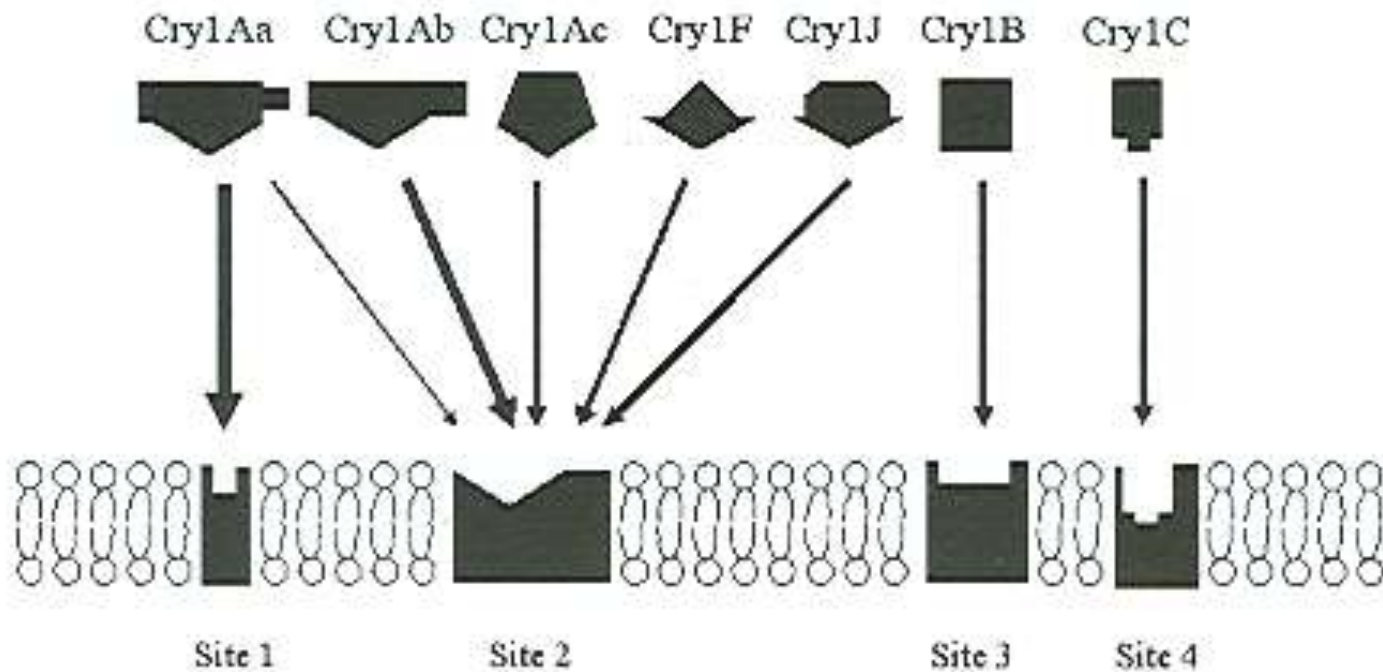


Fig. 3.1 Proposed model for the Cry protein binding sites in the midgut brush border membrane of the diamondback moth, *Plutella xylostella*

Flexibilita

v

typech Cry proteinů mechanismu vazby
dávce (dózi - délce) aplikace

proměnlivost cílových organizmů

mohou vést k proměnlivosti aktuální specifity
a míry insekticidního účinku

problém ztráty odolnosti vůči danému škůdci..
refugia, kombinace transgenů jako řešení

BT plodiny

odolné proti škodlivému hmyzu: larvám motýlů, brouků...

PRINCIP:

gen pro tvorbu delta-endotoxinu přenesen z *Bacillus thuringiensis* do rostliny. Ta sama tvoří tento „biopesticid“, postřiky nejsou nutné

Přísná specifita účinku, žádné negativní účinky na prostředí ani člověka

Historie BT insekticidů

1902 ... *Bacillus thuringiensis* zjištěn v Japonsku - vyvolává úhyn bource morušového. Ishiwata „sotto disease“

1911 ... izolován, definován z populace moučných červů v Duryňsku, prof. Berliner 1915

od 50-tých let ... znalost mechanismu působení :
delta-endotoxin (Cry), tvořící se ve sporách, destruuje střevní výstelku škůdce

od 1930 (SPOREIN, Francie).... preparáty používány jako biopesticidy, první masivní komerce (THURICID U.S.A)-1950

od 1983 první transgenní plodiny

1987... Bt tabák resistantní vůči motýlu *Manduca sexta*

1995 ...v USA uvolněny k volnému pěstování Bt kukuřice, bavlník, brambor

2007 ... ve 22 zemích světa na 42,1 mil. ha pěstovány Bt kukuřice a Bt bavlník

...takovej hezkej motýlek
a tak jej farmáři nemají rádi...

Ostrinia nubilalis



Bt-toxin neuškodí vyšším živočichům,
larvám brouků, včelám ani mouchám.
Je na něj ale citlivá larva tohoto
motýla – zavíječe kukuřičného
(*Ostrinia nubilalis*) Foto Karel Říha

Zavíječ kukuřičný
masivně v USA, Africe,
ale již i na českých lánech

- * primární snížení výnosu,
polomy stonku stěžují sklizeň
- * druhotná kontaminace zrna
i siláží houbovými chorobami

OBRANA:

(bio) pesticidy ? Vosičky?
GMO/ Bt -kukuřice ?

Ostrinia nubilalis (zavíječ kukuřičný)



Housenky se zažírají do rostlin, jejichž stonky se lámou. Krom těchto přímých škod zavlékají do rostlin patogeny, zejména houby produkující velmi škodlivé jedy, např. aflatoxiny.

Co škůdci přímo nesežerou,
to poničí a oslabí ...

odolnost rostlin k hmyzu
je i ochranou proti kontaminaci
potravin a krmiv **MYKOTOXINY**

Bt crops



Mycotoxins and food safety. Regular consumption of grains infected with mycotoxin-producing fungi can lead to chronic diseases. Corn grown in the Guatemalan highlands is harvested and graded as clean, spoiled, or rotten (right). Cornmeal for making tortillas consists of equal parts of each grade. Not surprisingly, this meal contains levels of mycotoxins (26 parts per million [ppm]) that are 100 times greater than cornmeal from corn grown in the United States (0.2 ppm). The toxicity problem is amplified by dosage. The average consumption of tortillas each day (14 to 16 ounces) is over 100 times greater than U.S. consumption (0.12 ounce). (Photographs courtesy of Ronald Riley, USDA Mycotoxins Laboratory.)

BT kukuřice v České republice

MZe ČR 2009

Nové verze 2012
viz přednáška Ing. STRATILOVÉ

Stav 2016
BT kukuřice z ČR
v podstatě zmizela

samožerné pěstování se nevyplatí



*Jaké byly výsledky vstupních čtyřletých testů vlivu BT-MONA na životní prostředí v Čechách ??

Přesvědčivě pozitivní, žádné snížení „ekodiverzity“ spíše naopak.

*Jaká je zdravotní kvalita a výnos v porovnání s kontrolami ??

Výrazně větší výnos, zanedbatelná hladina mykotoxinů

VÚRV Praha ... prof. Kocourek

EntÚ AVČR České Budějovice ... prof. Sehnal

* Recentní srovnatelné studie **BÁZLIVEC**



Hlavní hodnocené taxony:
čmeláky (úplně nahoře vlevo),
žlutáčkové (pod nimi), dravé
ploštice (nahore uprostřed),
čavouci (nahore vpravo),
čmeláčci (dole uprostřed) a
čtveřláci (dole vlevo).





GM plodiny k produkčnímu pěstování v EU/ČR

- pouze *Bt* kukuřice MON810 odolná proti zavíječi kukuřičnému
- v EU tento GMO povolen pro pěstování v roce **1998**
- v **ČR** *Bt* kukuřice pěstována od roku **2005**



FOTO: Josef Soukup, ČZU v Praze

Bt kukuřice pěstovaná v EU v letech 2007 – 2009

(hektary)		2009	2008	2007
celkem		91385	107720	111390
Španělsko 		76000	79270	75150
ČR 		6480	8380	5000
Rumunsko 		3200	7150	290
Portugalsko 		2930	4850	4260
Polsko (odhad) 		2000	3000	100
Slovensko 		775	1900	950
Francie 		0	0	23000
Německo 		0	3170	2640

Uvádění GMO do životního prostředí

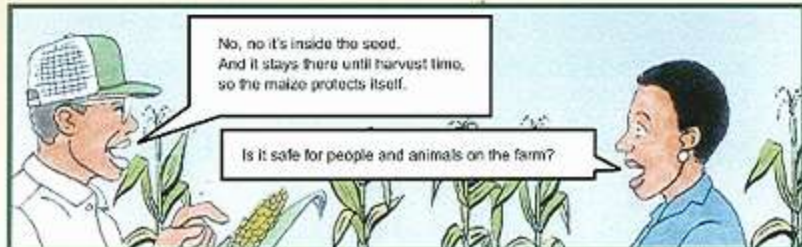
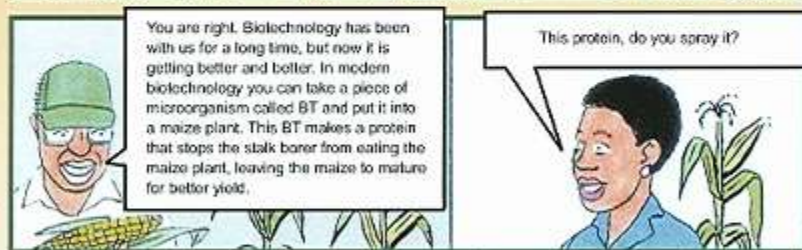
GM kukuřice

- **GA21** (tolerance ke glyfosátu)
- **NK603** (tolerance ke glyfosátu)
- **98140** (tolerance ke glyfosátu a sulfonylmočovinám)
- **MON810** (odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Lepidoptera*)
- **1507** (odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Lepidoptera*)
- **MON89034** (odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Lepidoptera*)
- **MIR162** (odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Lepidoptera* a využití manózy jako zdroje uhlíku)
- **MIR604** (odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Coleoptera* a využití manózy jako zdroje uhlíku)
- **59122** (tolerance ke glufosinátu amonnému a odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Lepidoptera*)
- **MON88017** (tolerance ke glyfosátu, odolnost vůči hmyzím škůdcům ř. *Coleoptera*)

FOTO: Martin Těhník, ČIŽP



Bt kukuřice je již také „africkou současností“



V USA rozsáhlé pěstování BT kukuřice již dvacet let

Před šesti lety publikováno dlouhodobé hodnocení
jeho
ekonomických i ekologických dopadů

HUTCHISON, W.D., BURKNESS, E.C., MITCHELL, P.D.,
MOON, R.D., LESLIE, T.W., FLEISCHER, S.J., ABRAHAMSON, M.,
HAMILTON, K.L., STEFFEY, K.L., GRAY, M.E., HELLMICH, R.L.,
KASTER, L.V., HUNT, T.E., WRIGHT, R.J., PECINOVSKY, K.,
RABAEY, T.L., FLOOD, B.R., RAUN, E.S.:

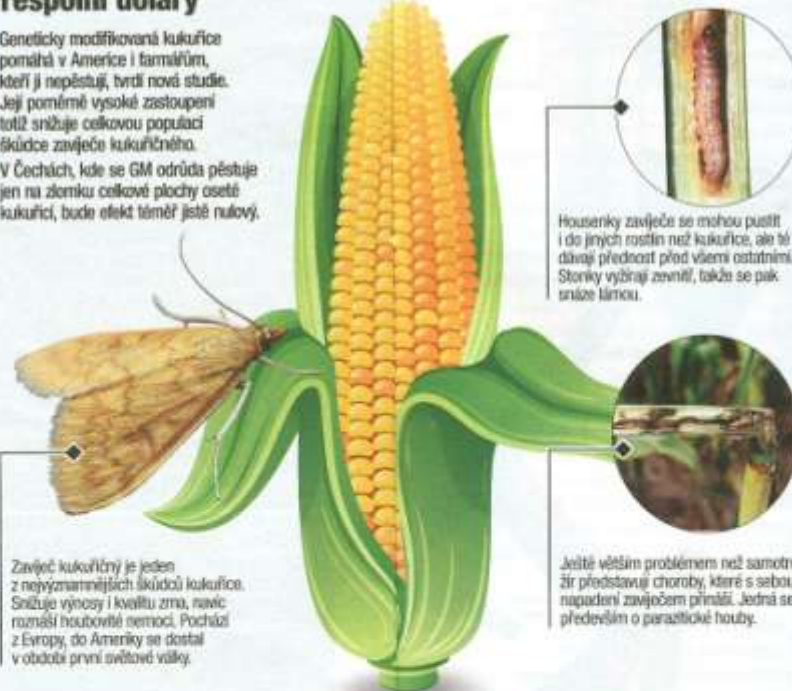
**Areawide suppression of European corn borer with
Bt maize reaps savings to non-Bt maize growers.**

Science 330: 222-225, 2010



Přespolní dolary

- » Geneticky modifikovaná kukuřice pomáhá v Americe i farmářům, kteří ji nepěstují, tvrdí nová studie. Její poměrně vysoké zastoupení totiž snižuje celkovou populaci škůdce zavíječe kukuřičného.
- » V Čechách, kde se GM odrůda pěstuje jen na zlomku celkové plochy osevě kukuřicí, bude efekt téměř jistě nulový.



Housenky zavíječe se mohou puslit i do jiných rostlin než kukuřice, ale té dávají přednost před všemi ostatními. Stonky vybírají zevnitř, takže se pak sráží lánkou.

Zavíječ kukuřičný je jeden z nevyznamennějších škůdců kukuřice. Snižuje výnosy i kvalitu zrna, navíc rozšiřuje houbové nemoci. Pochází z Evropy, do Ameriky se dostal v období první světové války.

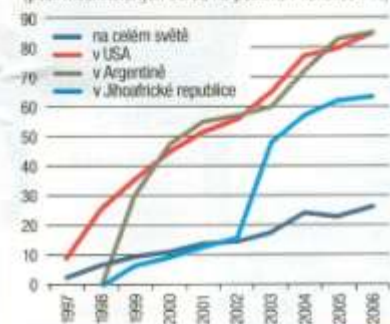
Ještě větším problémem než samotný žir představují choroby, které s sebou napadení zavíječem přináší. Jedná se především o parazitické houby.

Stav osevu kukuřičných polí v USA v roce 2006



GM kukuřice versus klasická

(podíl modifikovaných odrůd na pěstování kukuřice v %)



Zdroj: Science, GMAT Group

EKONOM

věda & technologie

ZEMĚDĚLSTVÍ

Modifikovaná výpomoc

Geneticky upravená kukuřice zvyšuje výnosy i na polích s klasickými odrůdami.

Za 14 let pěstování ušetřila BT technologie zhruba 6.9 miliard dolarů, zejména na postřicích a uspořené naftě.

V částce je zohledněn i vyšší náklad na GM osivo.

Zhruba 62 % této částky, tedy 4.3 miliardy dolarů, ušetřili pěstitelé běžných odrůd, včetně BIOFARMÁŘŮ

V pěti sledovaných státech se množství zavíječe snížilo o 27 až 73%.

Dodržení strategie refugií (non-GM ploch) zabránilo evoluci BT-odolných populací zavíječe

Bt zeleniny

zejména **indické** výzkumné projekty
i praxe

Romeis et al. 2008

9.3.3 *Bt Brassica Vegetables, a Model System*

CryI *Bt* genes have been introduced into several *Brassica* species, conferring resistance to *P. xylostella* and other Lepidoptera (Earle et al., 2004; Paul et al., 2005). Early work in a collaborative program (Earle and Shelton at Cornell University) on



Fig. 9.2 Cauliflower in India devastated by the Diamondback moth, *Plutella xylostella*, despite nearly 50 sprays of insecticides (Photo courtesy of Nunhems India, Inc.)

Již nejen výzkum
mamutích firem typu MONSANTO, PIONEER
ale také **menší účelové korporace:**

Good Example For

1. Collaboration ->



2. Sustainable Integrated Solution

CIMBAA

Slide 2

Bayer CropScience

klíčové řešení pro budoucnost ???

Indický „diamantový mol“ nebo český bělásek ??

The Issue



The Culprit



Slide 3



The Challenge - Diamondback Moth

- * škůdce „diamantová můra“ je odolná k většině pesticidů, zoufalí farmáři se ilegálně vracejí k DDT
- * náklady na postřik 168 mil US \$ ročně, představují 38% celkových
- * stříkat nutno jednou týdně, celkem 13x
- * celkem 6000 tun ročně insekticidu

KVĚTÁK i ZELÍ v Indii
klíčová součást stravy, zejména pro vegetariány



Bt zelenina: bez postřiků, housenek i mykotoxinů ...

Field Trials India 2006

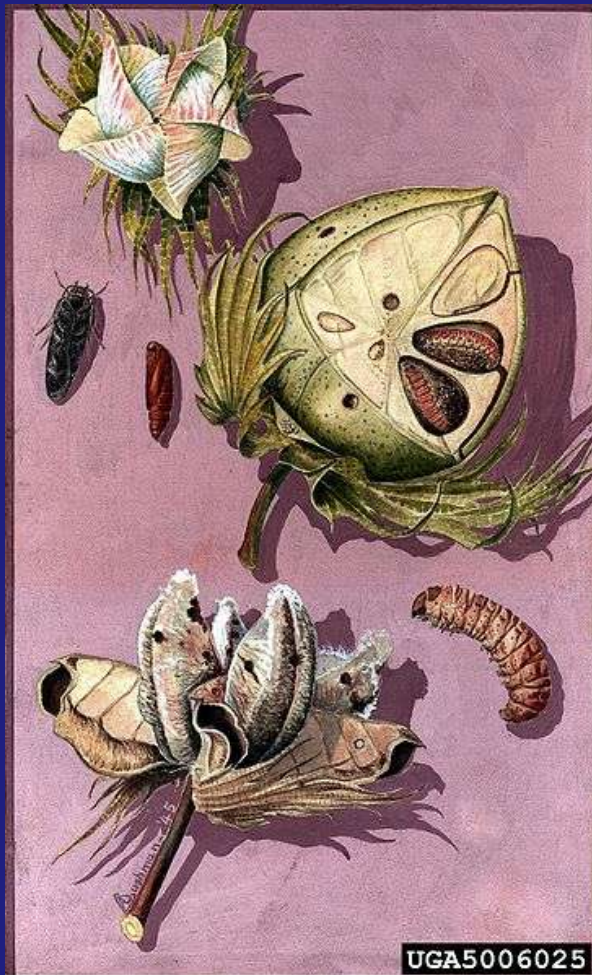
Kontrolní
rostliny

Bt rostliny



BT bavlník

Indie od 2002,
dnes 8,3 mil. ha, 83% celku



Pectinophora gossypiella pink bollworm



Možnosti vzniku „Bt resistencí“ a strategie refugií

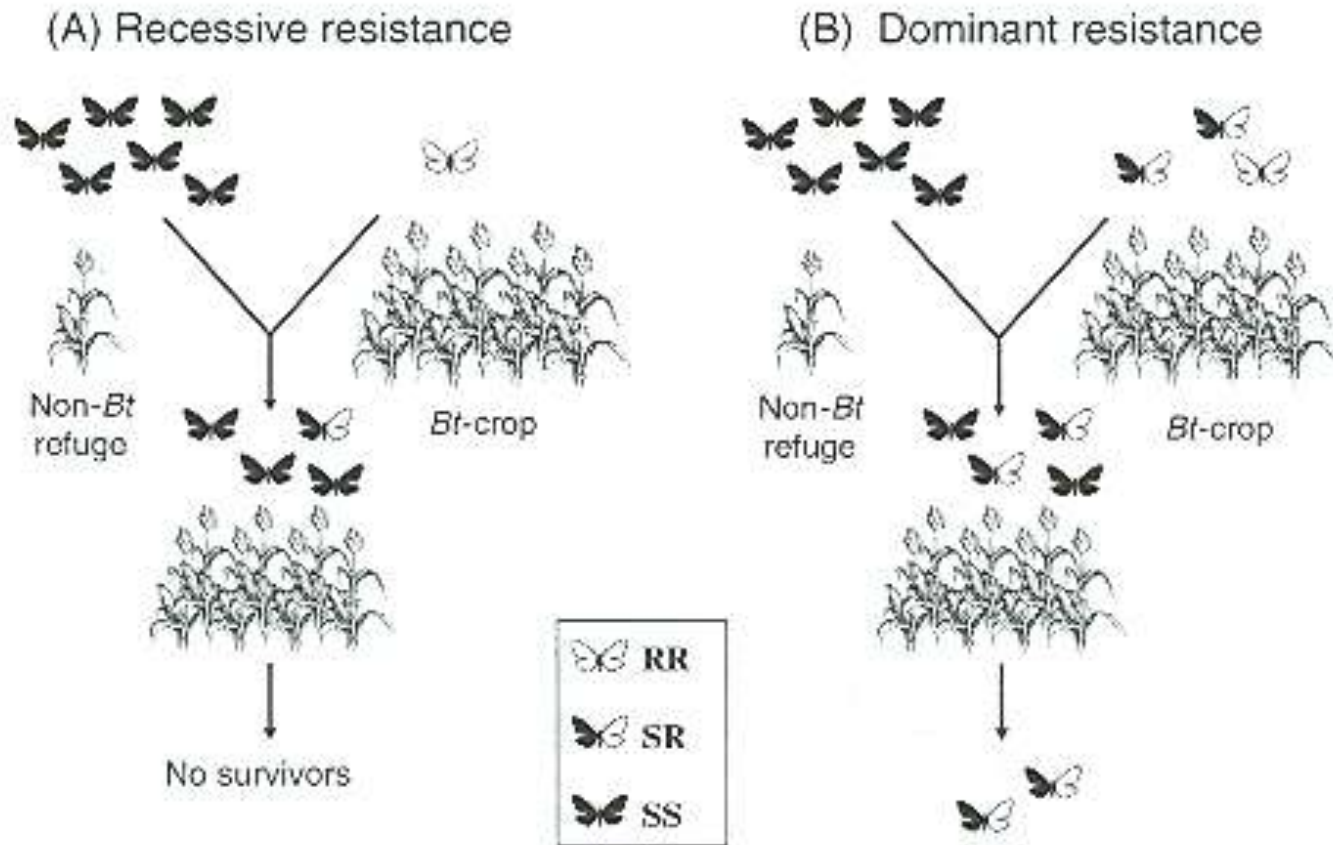


Fig. 3.2 Schematic representation of the high dose/refuge strategy under two assumptions: resistance being recessive (A) or dominant (B). Butterflies represent adult survivors of different genotypes: RR, homozygous resistant; RS, heterozygous; SS, homozygous susceptible

Refugia dostatečně nefungují ?

přirozená selekce BT resistantních populací **pink bollworms** na indické BT bavlně (první BTr generace, jen single BT protein novější Bolgard II hybrids produkuje dva různé. Pro 2011 budou zřejmě pěstovány na 90% plochy státu Gujarat)

NEW DELHI—Monsanto has revealed that a common insect pest has developed resistance to its flagship genetically modified (GM) product in India. The agricultural biotechnology leader says it “detected unusual survival” of pink bollworms that fed on cotton containing the *Cry1Ac* gene from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt), which codes for a protein that’s toxic to many insect pests. In a statement to *Science*, Monsanto claims that the finding from western India “is the first case of field-relevant resistance to *Cry1Ac* products, anywhere in the world.”

Science 327, March 2010

INDIA

Hardy Cotton-Munching Pests Are Latest Blow to GM Crops

NEW DELHI—Monsanto has revealed that a common insect pest has developed resistance to its flagship genetically modified (GM) product in India. The agricultural biotechnology leader says it “detected unusual survival” of pink bollworms that fed on cotton containing the *Cry1Ac* gene from the bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt), which codes for a protein that’s toxic to many insect pests. In a statement to *Science*, Monsanto claims that the finding from western India “is the first case of field-relevant resistance to *Cry1Ac* products, anywhere in the world.”

The announcement hands GM critics a new cudgel. It “certainly results in the anti-GM lobby having extra ammunition,” says Fred Gould, an entomologist at North Carolina State University in Raleigh. “This should be an eye opener,” says Pushpa M. Bhangava, former director of the Centre for Cellular and Molecular Biology in Hyderabad and an archopponent of GM crops who helped dissuade the Indian government to prohibit commercial planting of GM eggplant (*Science*, 12 February, p. 767). “India should immediately put a 10-year moratorium on the use and cultivation of GM organisms.”

In a 5 March statement, Monsanto said that during field monitoring of the 2009 cotton crop in Gujarat state, its scientists collected “large numbers” of pink bollworms from Bollgard cotton, a first-generation GM hybrid expressing a single Bt protein. (Newer Bollgard II hybrids produce two Bt proteins.) Back in the lab, the insects were fed Bt toxins at normally lethal concentrations—and survived. The problem appears to be isolated, but Monsanto says it reported its findings “to key stakeholders so appropriate decisions can be made.” Some say the company aims to shift customers to the pricier Bollgard II.

India is the second-largest cotton producer after China. Farmers first sowed GM cotton in India in 2002, and by last year they were cultivating it on 8.3 million hectares, or 83% of the country’s total cotton crop, estimates the Central Institute for Cotton Research (CICR) in Nagpur. Even before the resistance revelation, Indian farmers were adopting Bollgard II cotton. According to Monsanto, more than 65% of

cotton farmers in Gujarat state chose Bollgard II in 2009, and bookings indicate that more than 90% are expected to plant it this year.

Experts agree with Monsanto’s statement that “resistance is natural and expected.” But some dispute Monsanto’s claim that this is the first report of *Cry1Ac* resistance. Bruce Tabashnik, an entomologist at the University of Arizona in Tucson, says that nonindustry scientists had earlier reported resistance to Bt crops in South Africa and the United States.

One prominent researcher questions whether the Gujarat bollworms truly are resistant. Monsanto’s conclusions and methodology are “flawed,” charges CICR Director Keshav Raj Kranthi, an entomologist. In 8 years of monitoring Bt cotton, he says, CICR has “not



Bitter harvest. Monsanto claims that in Gujarat, large numbers of pink bollworms sipped on Bt cotton—and survived.

found any resistance.” Kranthi argues that Monsanto “should have analyzed tens of thousands of specimens before making this claim. ... It’s a mystery why Monsanto is trying to kill its own technology.” Monsanto disputes that charge; it says its resistance tests were “standard practice” but declined to elaborate on its methodology.

Assuming the phenomenon is real, it’s a wonder it took so long for substantial Bt resistance to evolve, some scientists say. “I hope that this episode will cut down on the belief ... that Bt has some magical immunity to resistance,” says Gould. If as a result regulatory agencies promote better rules for managing resistance for a range of pests and crops, he says, Monsanto’s findings “could be a blessing in disguise.”

—PALLAVA BAGLA

BT brambor

mandelinka bramborová, mšice,
ale také zavíječ kukuřičný



Fig. 7.2 Colorado potato beetle choice field study. Defoliation of susceptible potato clones (left) compared to natural (leptine glycoalkaloids, center) and engineered (*Bt cry3A* in combination with glandular trichomes, right) host plant resistance clones developed by Michigan State University (Photo by Joseph Coombs, Michigan State University Potato Breeding and Genetics)

TABASHNIK, B. E., BRÉVAULT, T., CARRIERE, Y:

Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres.

Nature Biotechnology 31 : 510-521, 2013



souhrn poznatků ze **77 originálních studií**

analýza evoluce resistance
u **13 druhů hmyzích škůdců**

genetika (více alternativních BT genů) x
pěstební strategie spoluurčují úspěch

ALTERNATIVY pro BT - strategie přenosy genů kodujících tvorbu:

- * inhibitorů hmyzích trávicích enzymů - zejména amyláz
- * rostlinných lektinových genů
- * „vegetative insecticidal proteins“ (VIPs) z *Bacillus thuringiensis* nebo *Bacillus cereus*

feromonové strategie ?

odpuzovací strategie ?

ALTERNATIVY pro BT - strategie

* přenosy genů kodujících tvorbu inhibitorů hmyzích trávicích enzymů

PROTEÁZ

inhibitory serinových proteáz - zejména trypsinu a chymotrypsinu

inhibitory cysteinových proteáz

inhibitory metaloproteáz

inhibitory aspartylproteáz

AMYLÁZ

některé inhibitory mají též lektinovou strukturu a funkci

* přenosy genů kodujících tvorbu lektinů

* přenosy genů kodujících tvorbu chitináz

* jiné...

Tato proteinová strategie není bez rizik – nutnost kontrol

**IMUNOGENICITY
ALERGENICITY**

**Současnost:
ještě na úrovni vstupních laboratorních testů**



seeds of doubt

Story Andrew Perrin

It took 15 years and \$2 million for a gifted Australian scientist to produce the perfect pea – a plant with the potential to make money and save the world. But then it all went wrong, raising more questions about the safety of GM science.

ON THE COURIER-MAIL

29-30. 4. 2006



Leguminosy ASIE, AFRIKY, AUSTRALIE



A... peanut *Arachis*, B... common bean *Phaseolus*, C... chickpea *Cicer*
D... cowpea *Vigna*, E... pigeon pea *Cajanus*, F... lentil *Lens*

Příčina je známa -

alfa-amylase 1 inhibitor gene

from phaseolus is in transgenic pea
„unproperly“ glycosylated,
final protein induces imunological problems in
rats ...

viz blíže přednáška o molekulárním farmářství
Doc. Honys

Transgenic Expression of Bean α -Amylase Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity

Vanessa E. Prescott,[†] Peter M. Campbell,[§] Andrew Moore,^{||} Joerg Mattes,[†] Marc E. Rothenberg,[‡] Paul S. Foster,[†] T. J. V. Higgins,^{||} and Simon P. Hogan^{*†}

Division of Molecular Bioscience, The John Curtin School of Medical Research, Australian National University, Canberra, ACT, Australia, Division of Allergy and Immunology, Department of Pediatrics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, Ohio 45229, and Divisions of Entomology and Plant Industry, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Canberra, ACT, Australia

Received for review March 16, 2005. Revised manuscript received August 26, 2005. Accepted September 6, 2005. This work was supported in part by National Health Medical Research Council (Australia) Program Grant 224207.

Abstract:

The development of modern gene technologies allows for the expression of recombinant proteins in non-native hosts. Diversity in translational and post-translational modification pathways between species could potentially lead to discrete changes in the molecular architecture of the expressed protein and subsequent cellular function and antigenicity. Here, we show that transgenic expression of a plant protein (α -amylase inhibitor-1 from the common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Tendergreen)) in a non-native host (transgenic pea (*Pisum sativum* L.)) led to the synthesis of a structurally modified form of this inhibitor. Employing models of inflammation, we demonstrated in mice that consumption of the modified α AI and not the native form predisposed to antigen-specific CD4⁺ Th₂-type inflammation. Furthermore, consumption of the modified α AI concurrently with other heterogeneous proteins promoted immunological cross priming, which then elicited specific immunoreactivity of these proteins. Thus, transgenic expression of non-native proteins in plants may lead to the synthesis of structural variants possessing altered immunogenicity.

Keywords: α -Amylase inhibitor; transgenic plant; animal model; Th₂ inflammation; mass spectrophotometry

Patogenní

MIKROORGANISMY

Virová onemocnění rostlin

- * vysoce kalamitní - šíření bodavě savým hmyzem, křísy, háďátky, roztoči, ale i parazitickými houbami
- * obtížně léčitelná
- * karantenní (S-viry brambor, šarka švestky)
- * snadno přenosná u vegetativně množených plodin (brambor, chmel, banány, cukrová třtina a p.)
- * vzácné genové zdroje resistance
- * značný přínos biotechnologických metod ozdravování - eradikace
- * GMO techniky - obalové proteiny

Viz blíže katedrový seminář 27.XI.

Strategie přípravy „VIRUS -RESISTANT plants“

- * infekce „mírným“ virem může vyvolat systémovou obrannou odpověď rostliny ... „**cross protection**“
- * tuto schopnost má i přenos části genové výbavy viru -zejména genu pro „obalový protein (1980)
- * alternativy: přenos různých satelitních genů, genů pro replikázy a p.
- * obava z **risik**: heteroenkapsidace, rekombinace infekčního viru x transgenu, synergické účinky ?

Epidemické virózy rostlin:

- * „swollen shoot“ kakaovníku - prvně v Ghaně 1930, přenos „mealy bug“, eradikace pokácením 160 mil. stromů v roce 1977
- * virus šarky švestky, prvně 1915 Bulharsko, nyní celá Evropa- švestky, meruňky, broskve
- * virus cukrovky „beet necrotic vein virus“
- * citrus tristeza virus - šíří mšice - úhyn 16 mil. stromů Brazílie, 10 mil. Argentina, 3 mil. Kalifornie, 4 mil. Španělsko
- * virózy bramboru

Záchrana Havajských papájí

Dennis Gonsalves, Cornell University

1978 epidemie ringspot viru

1991 první (coat) protein GM rostliny

1992 polní testy, resistance funguje

nyní 80% ploch Havaje je GM papaja *



Survivors. Engineered papaya trees withstand virus while surrounding trees succumb.

GM Papaya Takes on Ringspot Virus and Wins

This GM fruit has a long track record and potential for developing countries, yet it is still running into acceptance problems

Science320, duben 08

GM virusresistentní papaja

modelový příklad pro diskusi o přínosech a rizicích GM plodin

* evidentní záchrana lokální produkce - na non-GM plantážích oblasti Puna za 6 let klesl výnos na polovinu - o 11.8mil.kg

* **nepotvrzeny obavy** z alergenní reakce na obalové proteiny, vyšší citlivost GM odrůd (původní se již nakřížuje do dalších non-GM) k jiným patogenům - fytoftora

* **potvrzeny obavy** ze „spontánní genetické kontaminace“ non-GM odrůd prostřednictvím GM pylu
riziko pro „organické farmáře“, limit vývozu

Za daných legislativních podmínek ideální využití pro „ostrovní produkci“ (Taiwan, Filipiny, Malajsie) a vlastní konzumaci (Thajsko, Vietnam)

Alternativy ke „coat-protein“ technikám:

- * přenos mutantních genů kodujících virové **MP** (**movement proteiny**), resp. transgenů pro peptidy fungující jako jejich „negativní inhibitory“
- * přenos genů pro transkripty inhibující funkci **virové replikázy**
- * přenos **lektinových** genů (antimšice)
- * nejrůznější **antisense techniky**

TRANSGENY pro resistenci k VIROIDUM

BAKTERIÁLNÍ onemocnění rostlin

až 250 druhů, často v mnoha rasách různé virulence

- * *Agrobacterium tumefaciens* ... "crown gall" ...vinná réva aj.
- * *Erwinia amylovora*spála růžokvětých...jabloně, hrušky
- * *Erwinia carotovora* hniloba zelenin
- * *Erwinia tracheiphila*hniloba okurek
- * *Pseudomonas syringae* ... rakovina peckovin
- * *Xanthomonas phaseoli*hniloba luštěnin

Mechanismus působení:

GM strategie ???

toxiny

ucpávání vodivých pletiv, průduchů,

macerace pletiv a buněčných stěn ... pektinázy, celulózy

- * plané druhy - genové zdroje resistance

HOUBOVÁ **nemocnění** rostlin

bud' primární

nebo sekundární patogeneze

- * po poranění herbivory
- * po oslabení ochranných mechanismů rostliny
jinými stresory

Zdravotní ohrožení

KONTAMINOVANÝMI biokrmivy i biopotraviny

- * aflatoxinové „biosiláže“ pro stájové „biochovy“
- * fumonisinové popkorny, celozrnné pohankové biopotraviny
- * houbou kontaminované povrchy obilí

(co neodhalí oko, to najde plynová chromatografie)

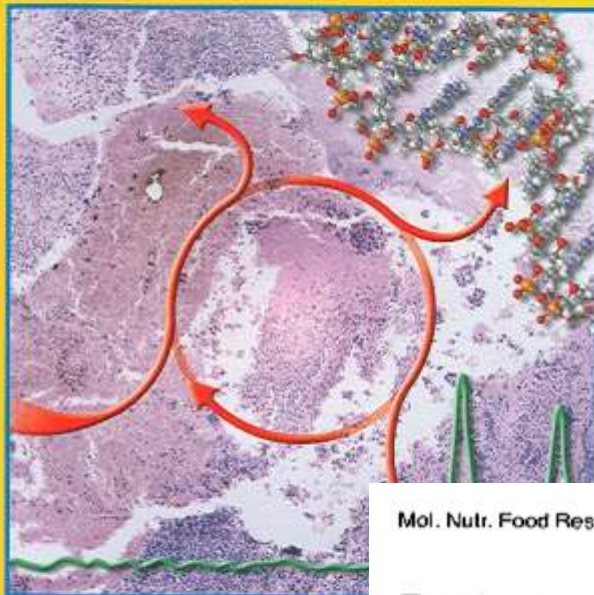
Molecular Nutrition & Food Research

www.mnf-journal.com

1'07



Reviews



ISSN 1613-4125 • MNFRCV 51 (1) 1-156 (2007) • Vol. 51 • No. 1 • January 2007

Ing. Nedělník, ředitel
Výzkumného ústavu pícninářského
Troubsko u Brna
k problematice biosiláží:

„Mykotoxiny putují potravním
řetězcem:

v porovnání s nimi případná
residua moderních pesticidů
působí málem jako vitaminy ...“

Mol. Nutr. Food Res. 2007, 51, 61–99

DOI 10.1002/mnfr.200600137

Review

Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans

Annie Pfohl-Leszkowicz¹ and Richard A. Manderville^{2*}

¹ Laboratoire de Génie Chimique, UMR CNRS/INPT/UPS 5503, INP/ENSA Toulouse, Auzeville-Tolosane, France

² Department of Chemistry, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada

Houbová onemocnění rostlin

rzi, sněti, padlí, plísně, hniloby

- * *Puccinia graminis tritici* ... rez pšeničná
- * *Puccinia striiformis/graminis* ... rez travní
- * *Ustilago maydis* ... sněť kukuřičná
- * *Erysiphe graminis, polygoni, cicoracearum* ... padlí
- * *Fuzarium oxysporum, solani, nivale* ... fuzarium, plíseň sněžná
- * *Phytophthora infestans* ... plíseň bramborová
- * *Ceratocystis ulmi* ... grafióza jilmů

- * pleitrofní účinky: toxiny i enzymy, mechanické bloky transportu, parazitismus až saprofytismus, mono-či polygenně kódované rezistence

- * Transgenóze, hybridizace zygotická i somatická, mutageneze ?

Také

resistenční šlechtění **bramboru**

se v budoucnu
bez **TRANSGENOSE**
zřejmě neobejde.

Přečtení genomu plísně bramborové
Mezinárodní tým genetiků přečetl kompletní dědičnou informaci plísně bramborové, která před sto šedesáti lety kompletně zničila úrodu brambor v Irsku. Hladem tehdy zemřel milion lidí. V současnosti napáchá plíseň bramborová každoročně na polích škody za bezmála sedm miliard dolarů.



Chad Nusbaum: „Tři čtvrtiny DNA plísně bramborové tvoří tzv. skákající geny – transposony.“ *Nature 2009*

i- RNA jako hlavní efektor



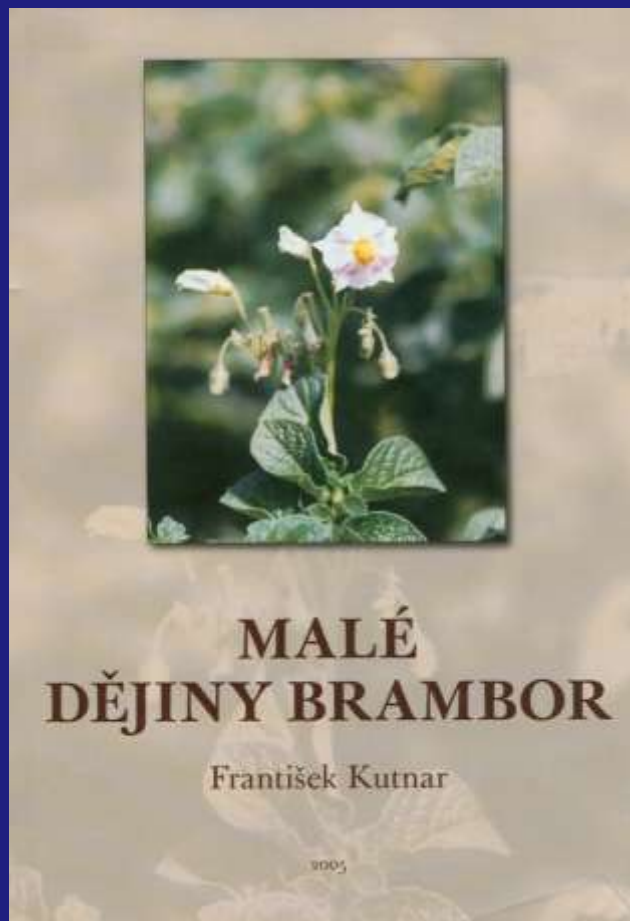
S dvěma *blb* y proti Bruselu

geny resistance *Blb 1 Blb 2*

Solanum bulbocastanum

GM brambor firmy BASF - nepovolen

Plíseň bramborová
Phytophthora infestans



Teze periodické zprávy o postupu projektu
za rok 2012

Číslo projektu:
QJ1210305

Název rojektu:
**Integrovaná ochrana proti plísni bramboru v nových
agroenvironmentálních podmínkách s využitím prognózy výskytu
choroby a na základě nových poznatků o změnách v populacích
patogena a procesech rozkladu hlíz**

Řešitelská pracoviště:
Výzkumný ústav bramborařský Havlíčkův Brod, s.r.o.
Česká zemědělská univerzita v Praze
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
AMET Tomáš Litschmann
Poradenský svaz Bramborařský kroužek

Řešitelé:
Ing. Ervín Hausvater, CSc.
Prof. Ing. Pavel Rysánek, CSc.
Ing. Václav Krejzar, Ph.D.
RNDr. Tomáš Litschmann Ph.D.
Ing. Bohumil Vokál, CSc.

Ing. Petr Doležal, Ph.D., Prof. Ing. Václav Kúdela, DrSc., Ing. Jana Mazáková, Ph.D.,
Ing. Iveta Pánková, Ph.D., Ing. Petr Seiflák, Ph.D., Doc. Dr. Ing. Pavel Vejl, Ph.D.,
Ing. Miloslav Zouhar Ph.D.

Plánovaná doba řešení: 1.4.2012 - 31.12.2016

Cíl řešení:
Vytvořit a uplatnit efektivní integrovanou ochranu proti plísni bramboru se sníženými
vstupy chemických látek vyhovující místním podmínkám, přizpůsobenou sortimentu
pěstovaných odrůd a požadavkům zpracovatelů a spotřebitelů na vysokou kvalitu
produktu.

20 variant pesticidů jako alternativa
Havlíčkův Brod, leden 2013

Nejen irské ale celoevropské bramborové hladomory 19. století

GM, včely, společnost Heinricha Bolla a evropští/rakouští Zelení

Eurovolby 2014



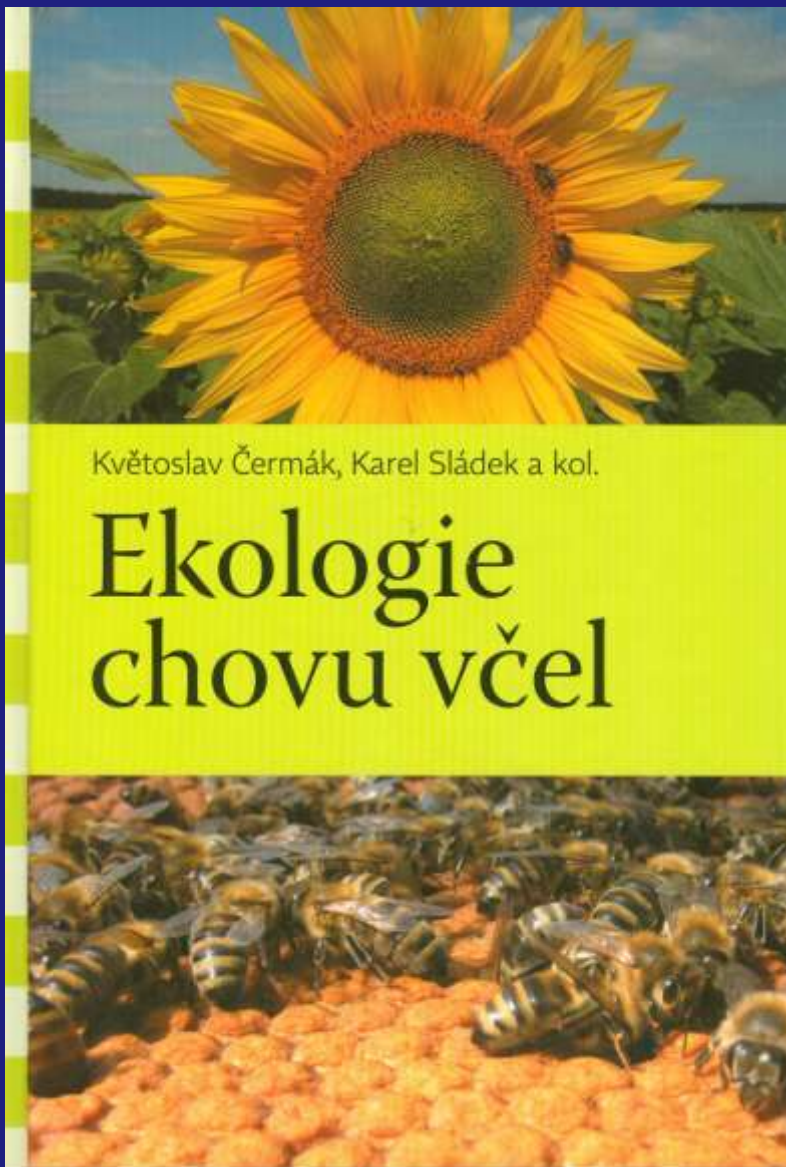
Eva Lichtenberg
i ÚSVIT

sugerování souvislostí
s neonicotinoidy



<http://opatrny.bigblogger.lidovky.cz/c/405759/Alzheimer-vcely-a-GM-plodiny.html>

DĚKUJI ZA POZORNOST



Květoslav Čermák, Karel Sládek a kol.

Ekologie chovu včel

4.4.1 Včely a geneticky modifikované plodiny

(Zdeněk Opatrný)

Klasika šlechtění rostlin

Počátky euroasijského pěstování kulturních plodin jsou většinou kladeny do úrodného trojúhelníku Mezopotámie v raném neolitu, tedy cca před 10–11 tisíci lety (Murphy, 2007). Lze předpokládat, že obdobně byly i v dalších raných lidských civilizacích, s využitím místních genových zdrojů, stabilizovány soubory nejrůznějších plodin s výhodnými kvantitativními či kvalitativními znaky. Mechanismy jejich domestikace byly obdobné. Základem byl intuitivní či empirický výběr vhodných potomstev jedinců vzniklých buď spontánní přírodní mutagenézí nebo obdobně nahodilých, možno říci až unikátních kříženců.

Je až úsměvné, jak dlouho lidstvu trvalo pochopit a „morálně připustit“ existenci pohlavního rozmnožování rostlin. Doklad o dávné snaze empiricky ovlivnit tvorbu plodů a možná se pokusit i o cílené křížení palmy datlové nám přitom dávají již staroasyrské kamenné reliéfy ze sbírek Louvru.

Vědecký základ cíleného křížení tak poskytla až zásadní práce J. G. Mendela (1866), „znovuobjevená“ počátkem dvacátého století.

<http://pavelmervart.cz/kniha/ekologie-chovu-vcel-475>

