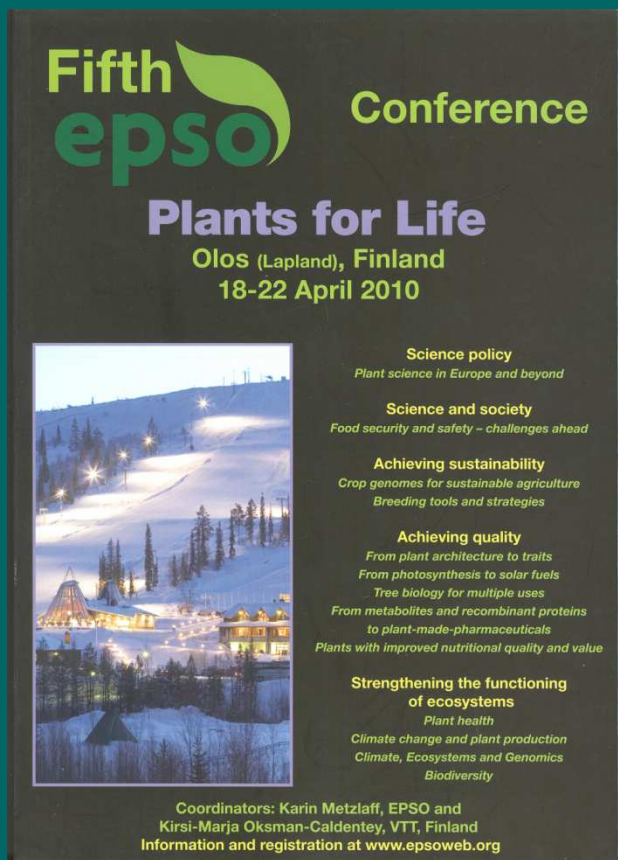


ROSTLINY pro ŽIVOT



5th EPSO Conference, Plants for Life
29 August – 2 September 2010
Olos, Finland

Zdeněk Opatrný
Participant
Czech Republic



Zdeněk OPATRŇÝ

Katedra experimentální biologie rostlin
Přírodovědecká fakulta UK Praha

U3V2013/14

Zvládne se ľudstvo uživiť NEJEN na počátku nového milénia ?



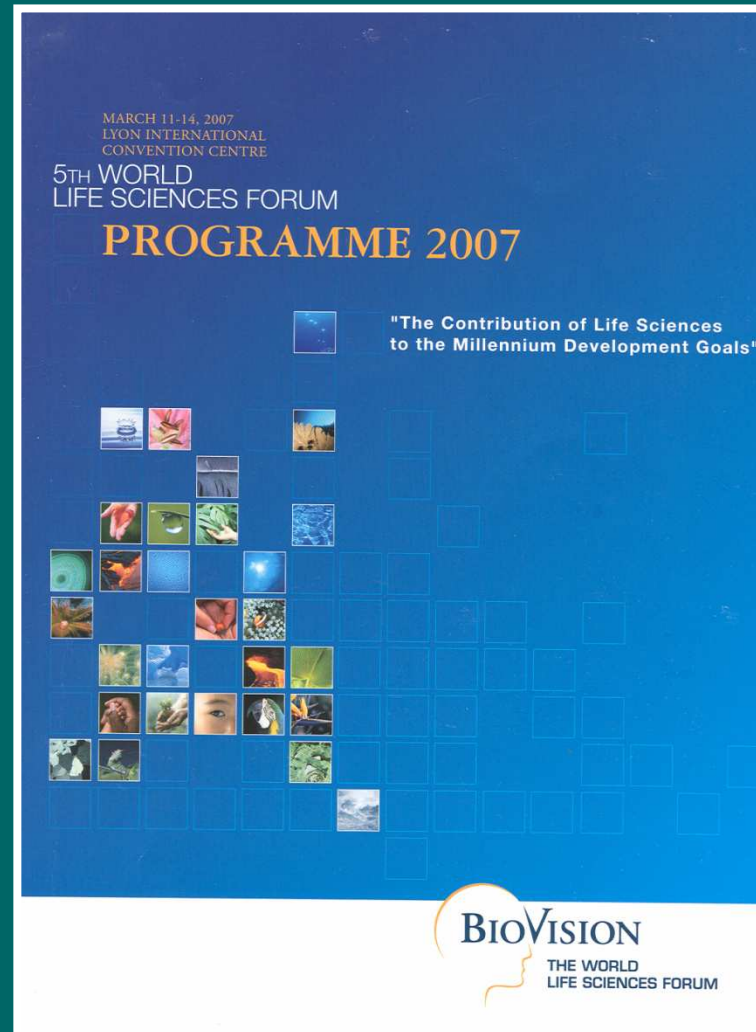
Konvenční zemědělství lidstvo neuživí a vůbec už ne „eko-zemědělství“

počet lidí na světě
se blíží 7 mld

20308.2 mld
20509.6 mld ?

50 milionů hladoví
850 milionů podvýživa

„mal-nutrition“
téměř větší problém
než sám hlad



Odkud se vzaly „kulturní“ rostliny ?

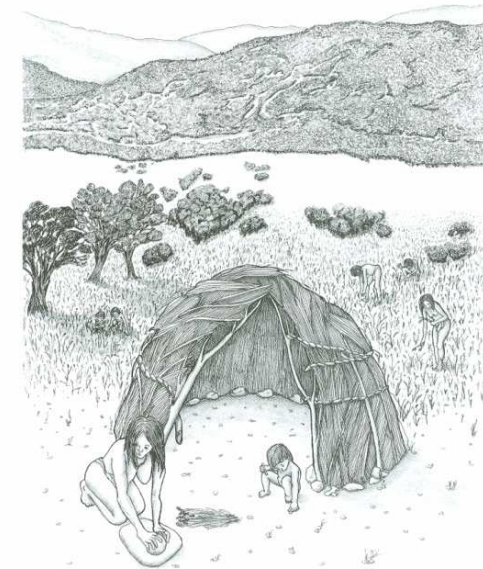
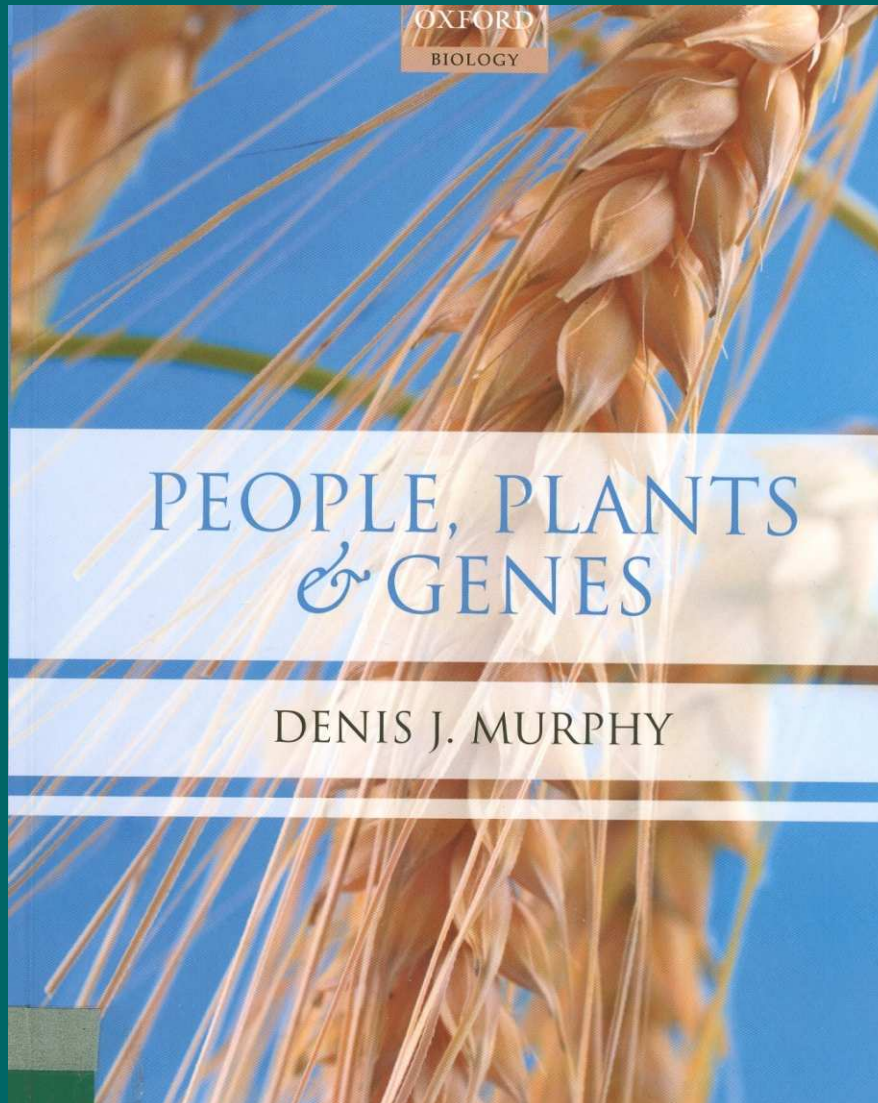
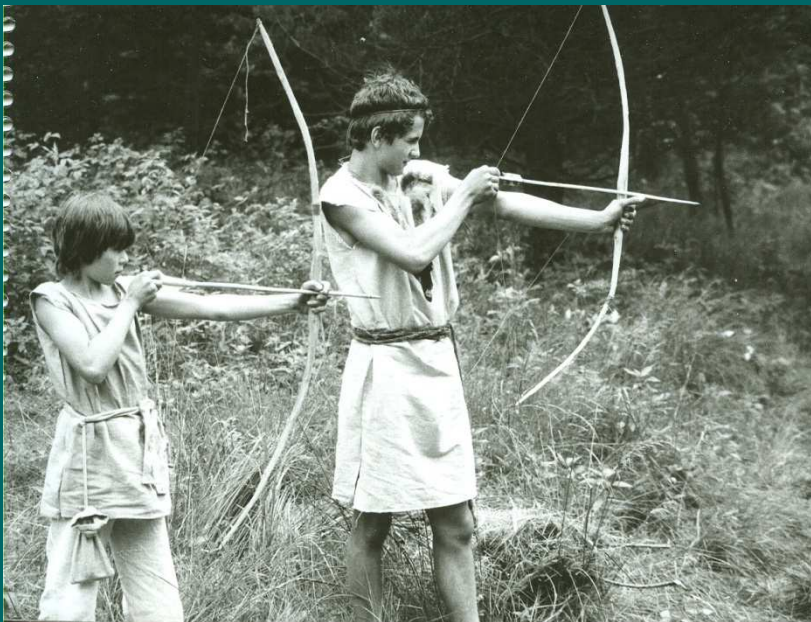


Figure 2.1 Beginnings of semisedentism and cereal harvesting in the late Palaeolithic Levant, c. 23,000 BP. During some of the warmer interludes of the late Palaeolithic, much of the Levant was populated by a biologically rich mixture of woodland and grassland. This ecosystem supported semisedentary communities of human hunter-gatherers subsisting on wild plants (including cereals), fish, and small game. As they settled in an area to exploit its seasonal resources, such people constructed temporary shelters in the form of simple huts of branches and reeds, as shown in this example from 23,000 BP, based on excavations at Ohalo near the Sea of Galilee (e.g. see Nadel et al., 2004).

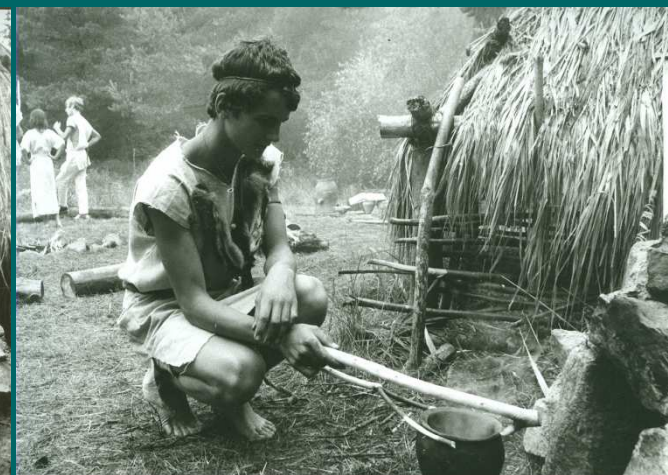
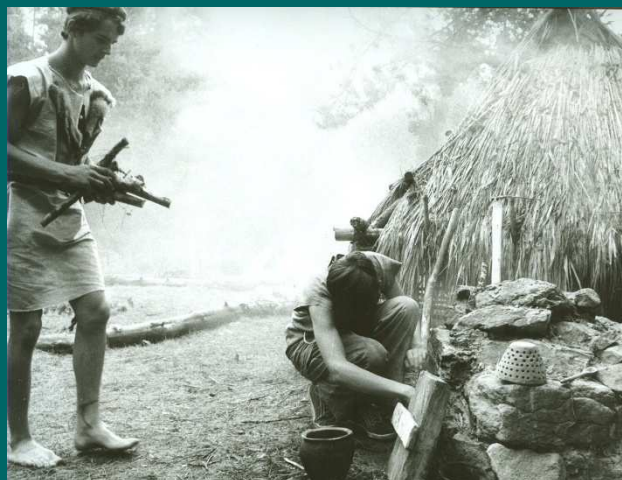
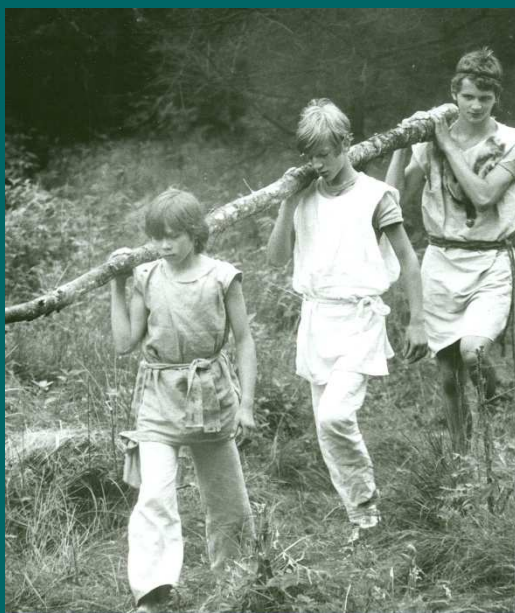
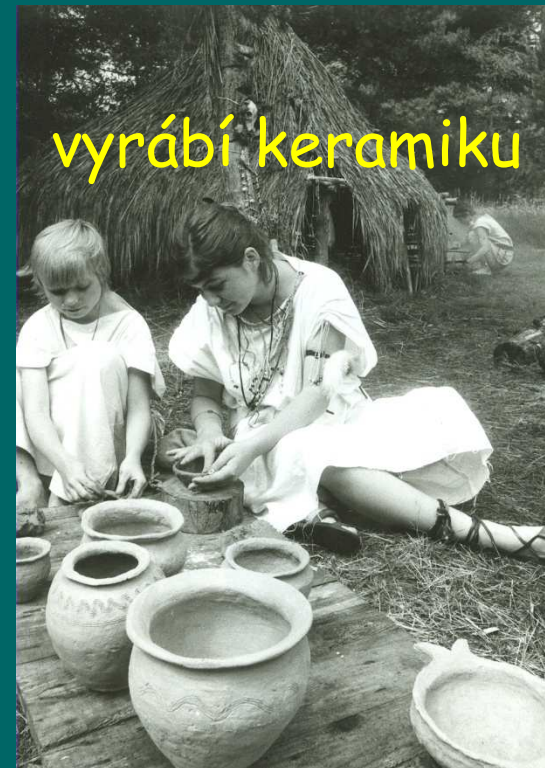


Figure 2.3 Semisedentary Natufian foragers collecting wild cereals. The Natufian culture of the Levant spanned the Palaeolithic/Neolithic transition from about 15,000 to 11,000 BP, during which the first crops were domesticated in the region. The Natufians were semisedentary hunter-gatherers who built some of the first true villages. In this artist's representation, a mixed band of Natufian foragers is collecting wild cereals with flint-bladed sickles and carrying the grain to the nearby village where it was processed into flour using stone pestles and mortars. These tools and the practice of sedentary village life, which are normally associated with farming communities, were invented by hunter-gatherers such as the Natufians many millennia before the beginnings of agriculture.

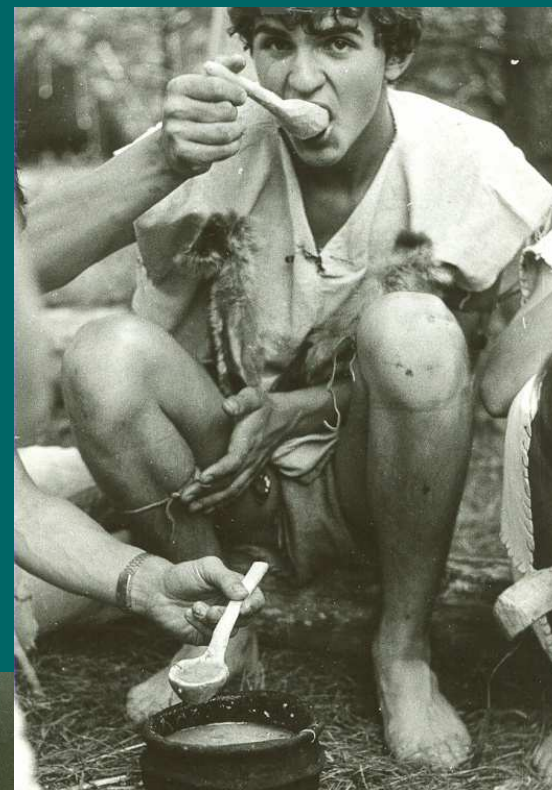
člověk lovec se postupně usazuje



vyrábí keramiku



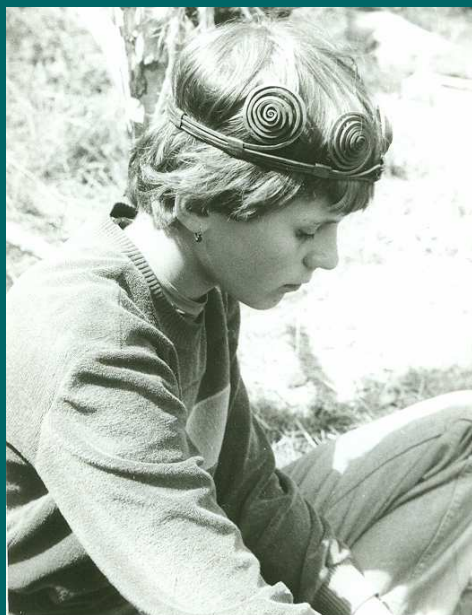
buduje si obydlí



Je-li dost jídla
ROD vzkvétá.....



Rozvíjí
další
technologie
pro užitek
i
pro parádu



Oddíl experimentální archeologie MAMUTI Praha

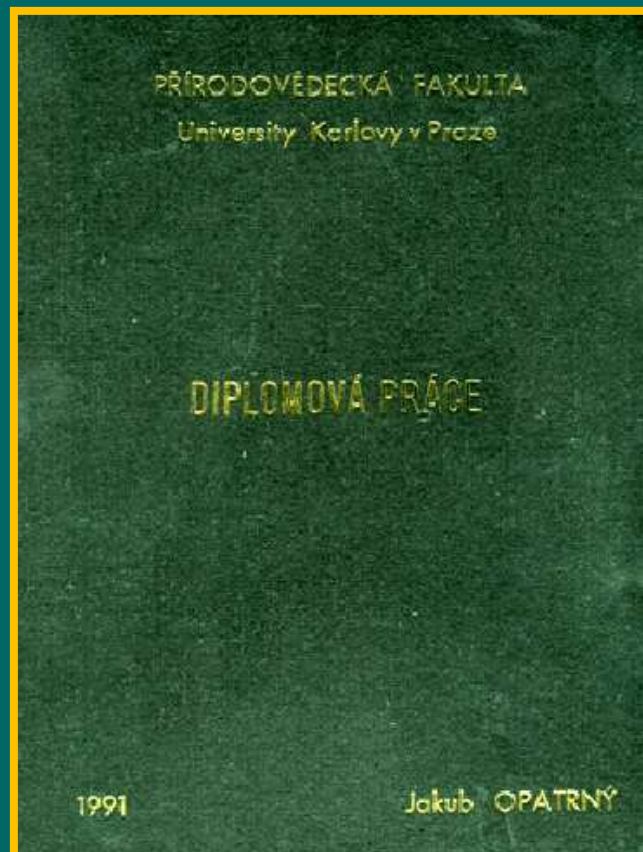
od 80 -tých let dvacátého století
dosud



OPATRŇY Jakub:

Interakce plodiny a plevelová složky : studie vlivu žděření a kultivace

DIPLOMOV  PRÁCE ,
katedra geobotaniky UKP F PRAHA 1991



OBSAH	Str.
1 �vod	1
2 �d�ření, kultivace, osevy, p�dn� rozbor	4
Dokumentace	16
3 Experiment �hor /1989 + 1990/	24
3.1 První sezona po �d�ření /1989/	24
3.1.1 Stav plochy před zásahem, jaro	24
3.1.2 Růst plodiny a plevelů, jaro - léto	24
3.1.3 Sklizeň plodiny a plevelů, l�to	32
3.2 Druh� sezona po �d�ření /1990/	39
3.2.1 Stav plochy před zásahem, jaro	39
3.2.2 Sklizeň plodiny a plevelů, l�to	40
Dokumentace	46
4 Experiment paseka /1990/	72
4.1 Stav plochy před zásahem, jaro	72
4.2 Růst plodiny a plevelů, jaro- léto	72
4.3 Sklizeň plodiny a plevelů, l�to	78
Dokumentace	83
5 Simulace neolitick� sklizn�	85
5.1 Charakteristika experimentu	85
5.2 Výsledek interakce plodina x plevelová složka	85
Dokumentace	87
6 Souhrnn� diskuse	88
7 Závěr	94
Literatura	96
P�f�lchy	99

 vod

Uplatn n  experimentu je stále aktuálnější ve všech společenských vědách. Sv  m sto si našel v posledních létech i v archeologii /MALINA 1980/. Uspo r d n m r zn  složitých experimentů lze simulovat pravd podobn  situace d vn  lidsk  hospod r sk  činnosti a výsledky použít k podpoře či zam tnut  hypotéz zkouman  problematiky.

MALINA, J. (1980): Metody experimentu v archeologii.- Stud. Archeol.  st. ČSAV Brno, Praha, 8/1: 1-175.

Žďáření na poli,



③ ÚHOR 1989 - ŽDĚŘENÍ

- 1 Uložení teplotních sond
- 2 Počátek žďáření, bariéra k ochraně okolního porostu
- 3 + 4 Posunování hořícího valu
- 5 Vypálená plocha pokrytá popelem
- 6 Konečná fáze žďáření

1	2
3	4
5	6

žďáření v lese



⑨ PASEKA 1990 - ŽDĚŘENÍ

- 1,2 Hromada kletu na kratší straně vytyčené plochy, její zapálení.

- 3, 4, 5 Posun hořícího valu

- 6 Plocha po vyžďáření

1	2
3	4
5	6

Pšenice dvouzrnka (*Triticum dicoccum*)

setba a sklizeň



1	3
2	4
	5
	6

4 ÚHOR 1989 - KULTIVACE, OSEV

- 1 Kopání vyžďářené plochy
- 2 Hodnocení kultivace půdy
- 3 Osev
- 4,5 Zahrabání dvouzrn do půdy
- 6 Pokrytí zaseté plochy větvemi, ochrana proti ptactvu



7 ÚHOR 1989 - SKLIZEŇ

- 1, 2, 3 Porost zralého obilí
- 4 Variabilita velikosti klasů
- 5 Sklizeň listů pšenice
- 6 Sklizeň plevelů

1	2
4	3
5	6

Úroda pšenice nic moc, zato plevely a plevely...



1	2
3	4
5	

8 ÚHOR 1990

- 1 Pšenice ve fázi sloupkování /15.6./
- 2 Celkový pohled na plochu před sklizní, nízký světlý porost pšenice
- 3, 4 Slabé rostliny pšenice s malými, chudými klasy v silně zaplevelené ploše
- 5 Situace po sklizni pšenice; dominující velké šťovíky / políčko č.8/.



11 PASEKA 1990 - RŮST PŠENICE

- 1,2 Pšenice ve fázi sloupkování /11.6./
- 3 Řídký porost pšenice na kypřené ploše; osika
- 4 Okousaná stébla na kopané ploše
- 5 Celkový pohled na plochu před sklizní

1	2
3	4
5	

a srnčí -nebo jeleni?



vypůjčeno od doc.Ing. Petra Smýkala UP Olomouc

Šlechtění – umění a věda



křížení



Genetická variabilita



Nová odrůda



výběr

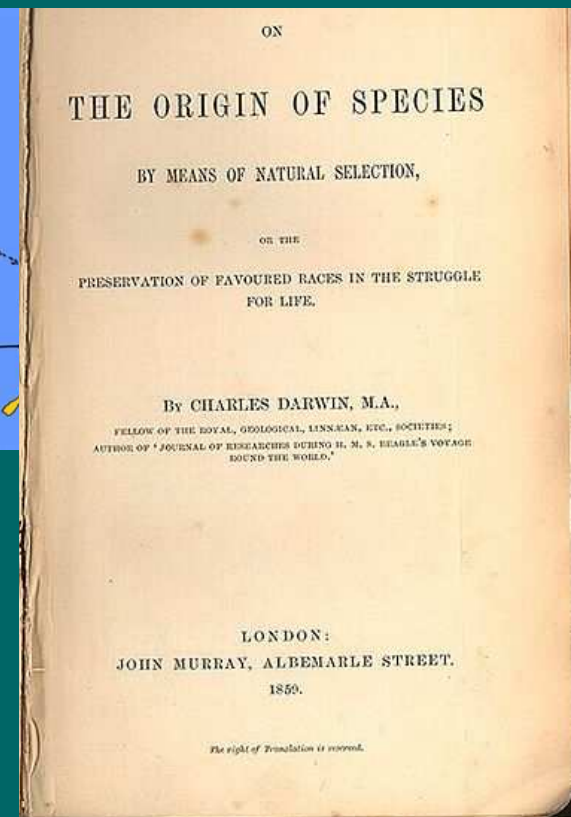
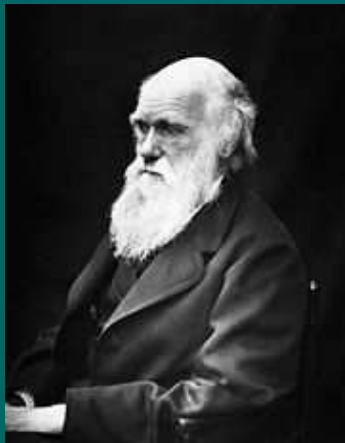


Přírodní výběr versus změny vlivem působení člověka

Charles Darwin (1809–1882)

Variation of Animals and Plants under Domestication (1868)

On the Origin of Species (1859)



Alfonse De Candolle (1806 – 1893)

Géographie Botanique Raisonnée (1855)

L'Origine des Plantes Cultivées (1883)



Rudolf J. Cammerer (1665-1721)

Über das Geschlecht der Pflanzen (1694) – objev pohlaví rostlin, vznik hybridů



Carolus Linnaeus (1707-1778)

Nejdříve koncept neměnného počtu (stvořených) druhů

Později pozorování hybridů – „ je nepochybné že nové druhy mohou vznikat křížením “ (1759)



Joseph Koelreuter (1733-1806)

Pozorování hybridů tabáků, hvozdíku, divizny (1760) – sterilita, vznikají tedy velmi zřídka a jen díky umělému zásahu.



Thomas Andrew Knight (1759-1838) 1799 publikuje popis hybridů hrachu, včetně dominance, neodvozuje jen zákonitosti a poměry



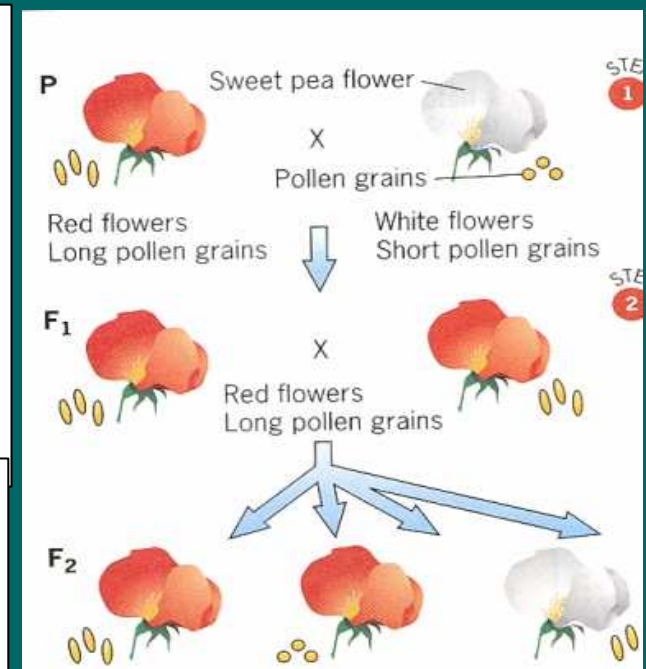
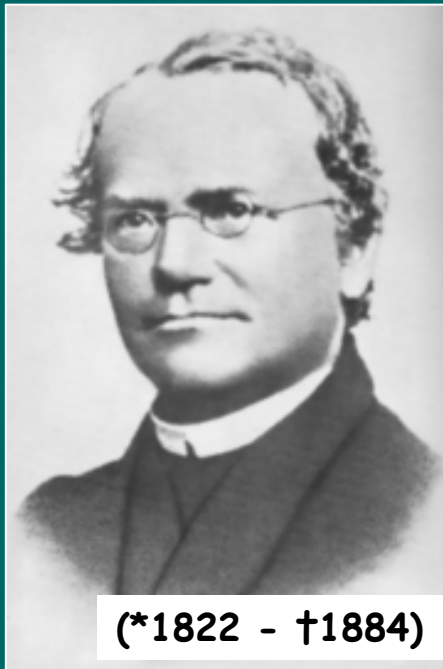
Carl F. Gaertner (1172-1850)

1827, popis F2 hybridů kukuřice i se štěpícím potomstvem (3,18 žlutých : 1 barevné semeno)

Johann Gregor Mendel (1822 - 1884)

1865 Versuche über das Pflanzen Hybriden

J.G. Mendel a hrách aneb kde v roce 1865 začala genetika



Seed		Flower	Pod		Stem	
Form	Cotyledons	Color	Form	Color	Place	Size
Grey & Round	Yellow	White	Full	Yellow	Axial pods, Flowers along	Long (6-7ft)
White & Wrinkled	Green	Violet	Constricted	Green	Terminal pods, Flowers top	Short 1/2 - 1ft)
1	2	3	4	5	6	7

Nikolaj Ivanovič Vavilov (1887-1943)

Centers of Origin of Cultivated Plants (1926)

The Phytogeographical Basis for Plant Breeding (1935)



Domestikace v čase a prostoru

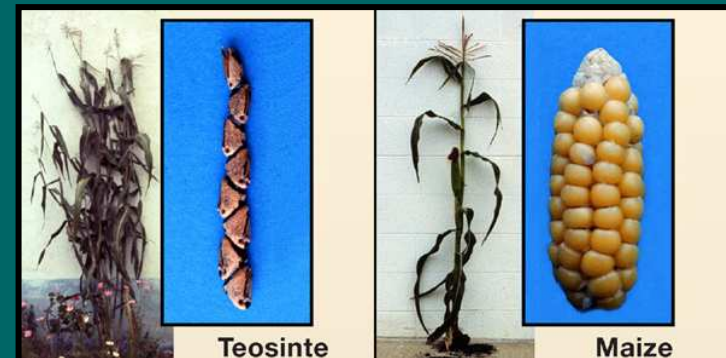
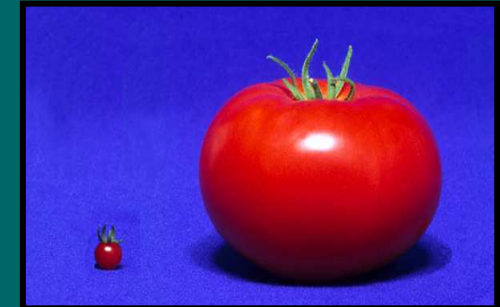


8000 7000 6000 5000 4000 3000 2000 0 1000 2000

Domestikace rostlin

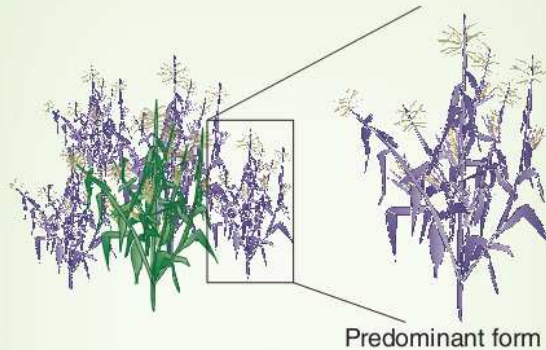
- selekce vhodných genotypů

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



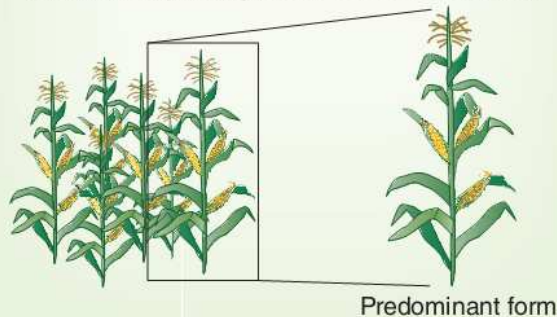
První zemědělci vybírali již vhodný fenotyp

Ancestral teosinte populations were highly branched and contained a low frequency *tb1* variant with a *Hopscotch* insertion.

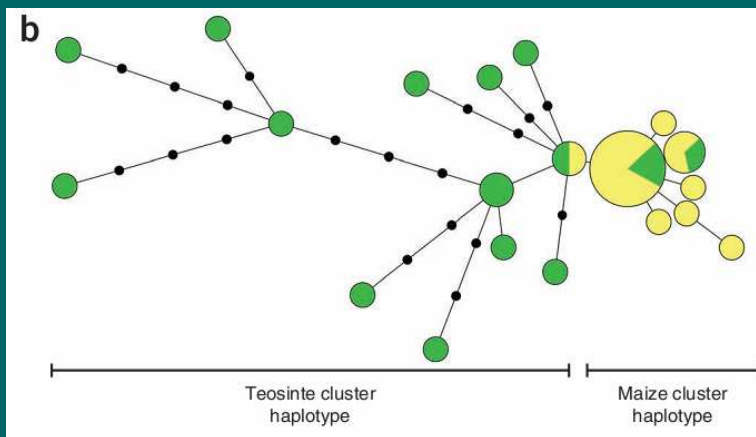


Domestication

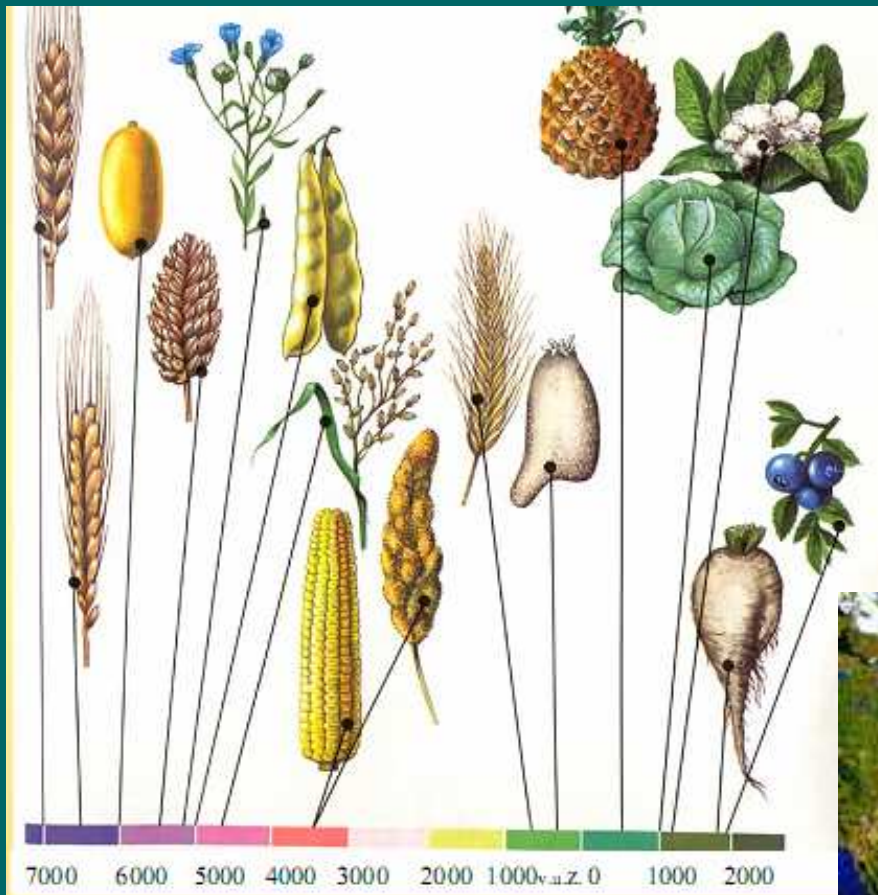
The *tb1* variant with a *Hopscotch* insertion swept to high frequency in modern maize populations, yielding plants with few branches.



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.



Domestikace probíhala
postupně a na více
místech světa



Příběh pšenice:

Triticum monococcum diploidní JEDNOZRNKA
Triticum dicoccum tetraploidní DVOUZRNKA
Triticum aestivum hexaploidní PŠENICE SETÁ

mutagenese a selekce,
 křížení,
 polyploidizace

kde nestačí „příroda“, pomůže člověk

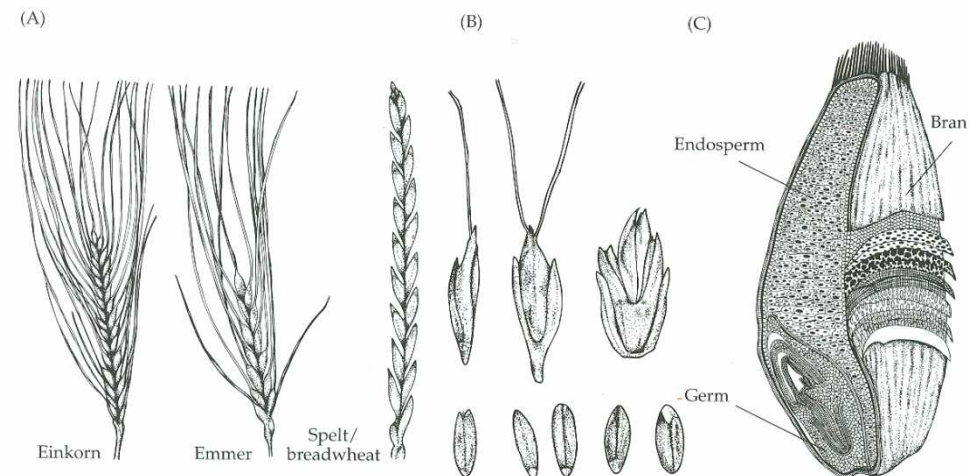
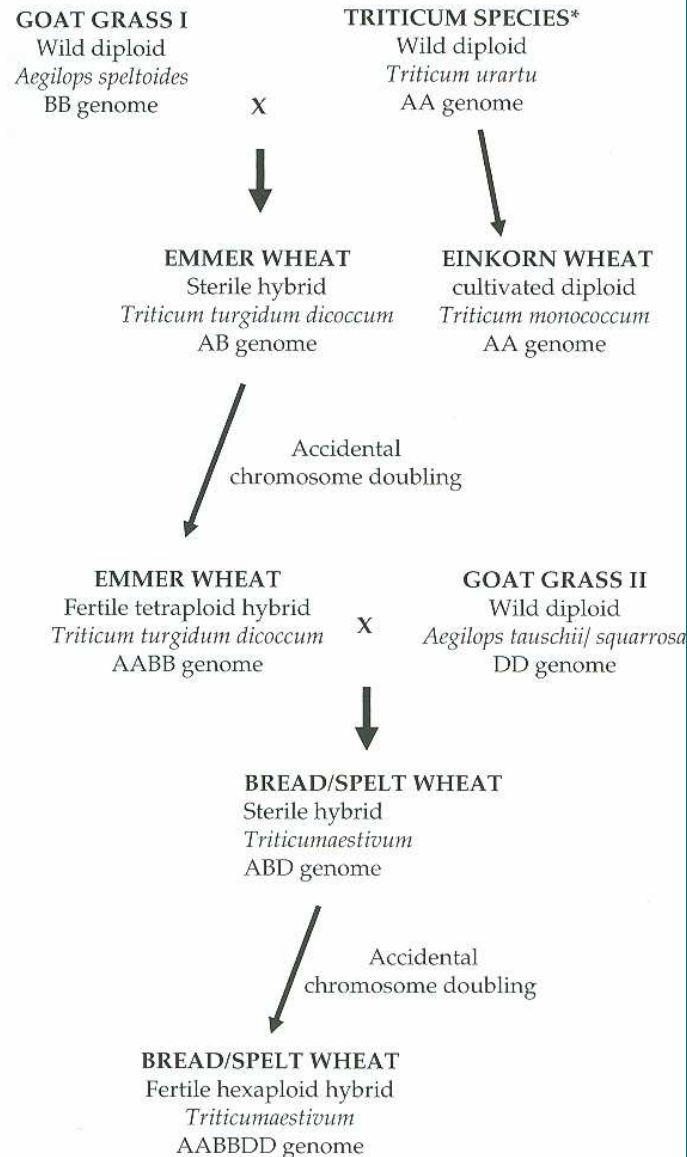


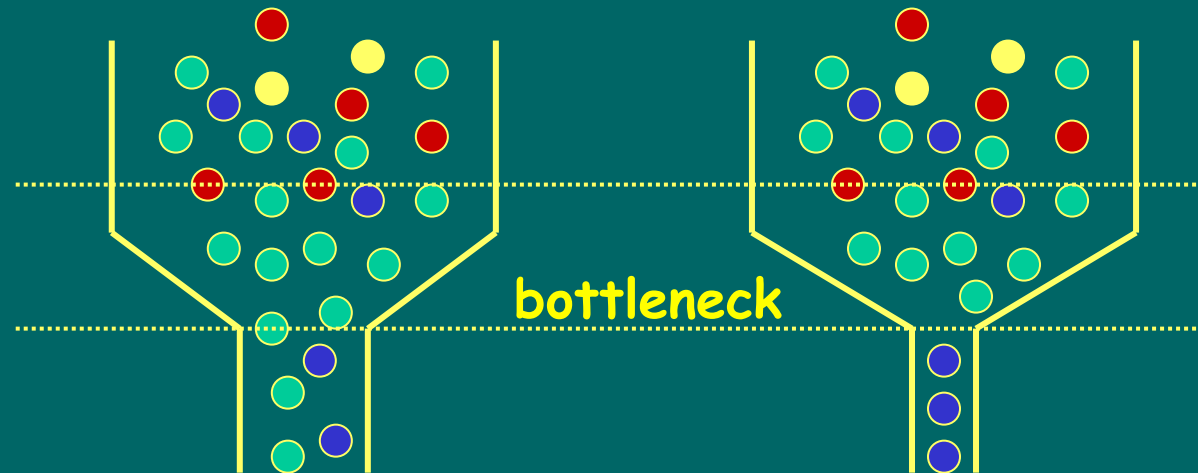
Figure 6.3 Structures of the major domesticated wheats. The structure of ears (A) and grains (B) of the three major historic cultivated wheats; from left to right in each case are einkorn, emmer, and spelt/bread wheats. (C) Section through a grain of breadwheat, showing the large starchy endosperm and the germ (kernel), which contains proteins and oils that are important for breadmaking quality.

Domestikace a výběr

Planý druh

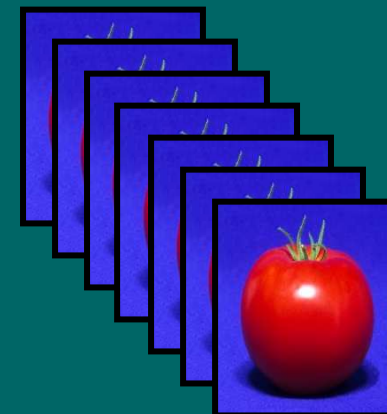
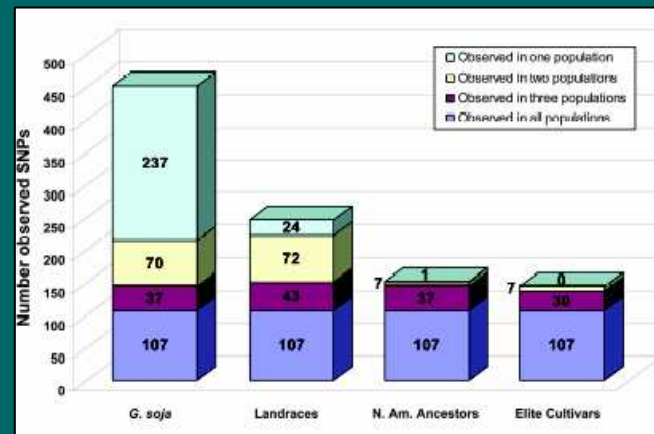
Domestikace

Kulturní druh



Neutrální gen

Selektovaný gen



MUTAGENEZE

- kosmické záření
- radioaktivita půdy/vody
- civilizační faktory: nitrososloučeniny,
emise těžkých kovů,
Černobyl

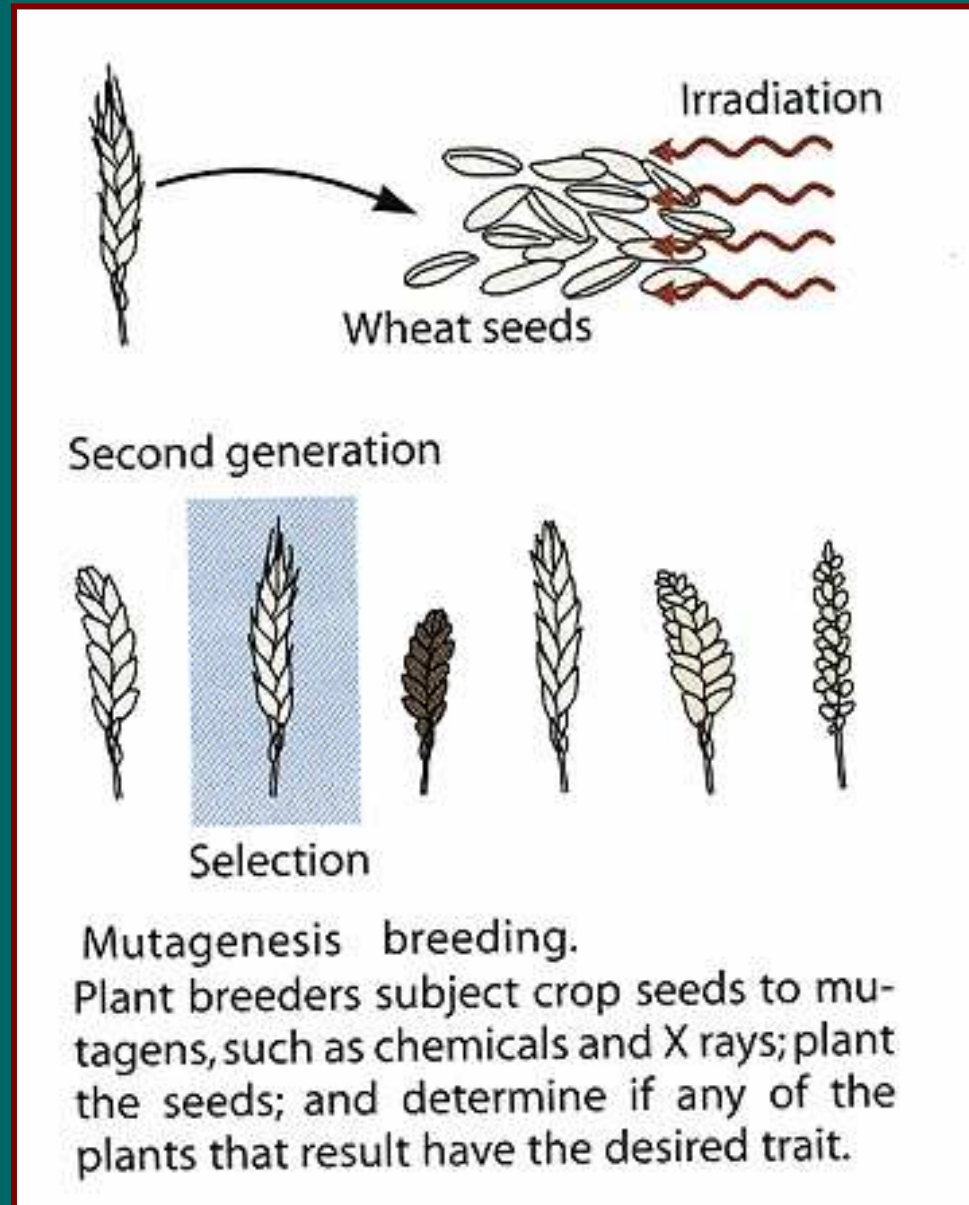
MUTAGENESE

+ selekce

bud' „spontánní“
nebo „indukovaná“

zubařský rentgen
v Hrubčicích
a sladové ječmeny řady
Diamant od Ing. Boumy..

výsledek NAHODILÝ !!!



Černobyl čtyři roky poté 1986 -1990



НПО "ПРИПЯТЬ" МИНИСТЕРСТВА АТОМНОЙ ЭНЕРГЕТИКИ И ПРОМЫШЛЕННОСТИ
RIA "PRIPYAT" OF THE NUCLEAR POWER AND PRODUCTION MINISTRY

ГОСТЕВАЯ КАРТОЧКА
VISITOR'S CARD

СТРАНА
COUNTRY..... DR. Z. OPATNY
ГОРОД
CITY..... PRAGUE
ИМЯ
NAME..... CZECHOSLOVAKIA
МЕСТО РАБОТЫ
ORGANIZATION..... RES. INST. CROP PRODUCTION
АДРЕС ОРГАНИЗАЦИИ, ТЕЛЕФОН
ADDRESS OF ORGANIZATION, PHON..... DRNOVSKA 107
ДОЛЖНОСТЬ
OCCUPATION..... DEPT. DIRECTOR BIOTECHNOL. CENTER
ДАТА ПОСЕЩЕНИЯ
DATE OF VISIT..... 12.X. 90

Mutace
rostlin, ryb,
radioaktivní soboli..

MUTAGENEZE A CÍLENÉ KŘÍŽENÍ

hlavní pilíře

KONVENČNÍHO ŠLECHTĚNÍ

Norman Borlaug (1914 - 2009)

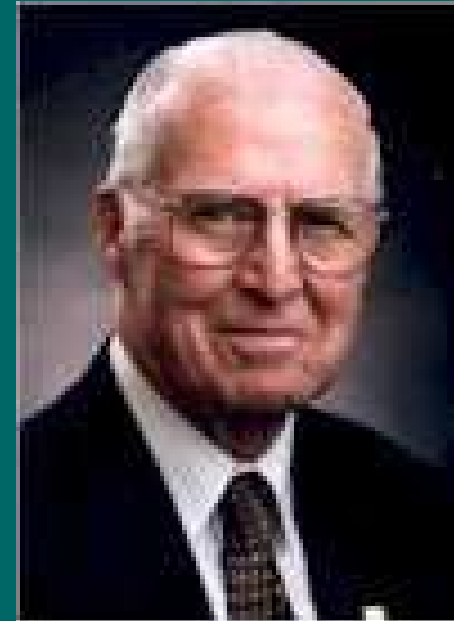
ZELENÁ REVOLUCE



pšenice Norin 10

Mutant v genu pro kratší internodia
reduced height(rht)

homolog
gibberellin insensitive (gai1)
Arabidopsis
slender rice (slr1)



Rýže IR8 (Miracle Rice)

Nobelova cena 1970

positiva (produkce, potravinová soběstačnost-Indie,
high-yielding cv.)

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

Zelená revoluce a geny zakrslosti



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

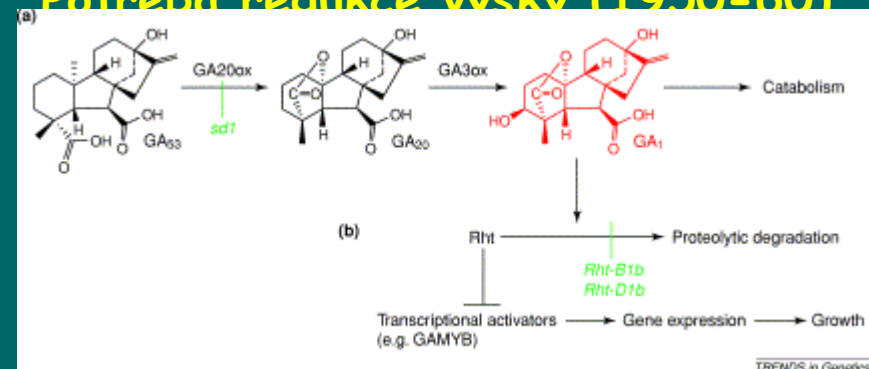
Původně rostliny musely soutěžit s plevely

Většinou neoptimální výživa (N, P)

Robustní, vysoké

Používání umělých hnojiv a pesticidů

Potřeba redukce výšky (1950–60)



Méně slámy - více zrna

ZELENÁ REVOLUCE

Norman Borlaug (1914 - 2009)



pšenice Norin 10

Mutant v genu pro délku internodia
reduced height(rht)

homolog
gibberellin insensitive (gai1)
Arabidopsis
slender rice (slr1)



Čánka žně, Krejzlovi, kolem roku 1915

Rýže IR8 (Miracle Rice)

Norman Borlaug - Nobelova cena 1970



za inovace v oblasti pěstování nových vůči
nemocím rezistentních a vysoce výnosných
odrůd plodin, zejména pšenice
Indie, Pákistán - **export místo hladomorů**

Negativa:

snížení diversity, zvýšené užití pesticidů,
zvýšené zavlažování, mechanizace, proměna
venkova ve prospěch velkovýroby

výzkum resistance ke rzi travní ...U99

objevena v Ugandě, pšenice nemá vlastní geny resistance
masivní šíření v Africe i v Asii



Borlaug Global Rust Initiative ...BGRI

transgenní přenos genu resistance kupř. z rýže

MESOPOTAMIE

před 10 000 lety

Asyrské božstvo
přenáší pyl z váčku
na samičí květenství
datlové palmy

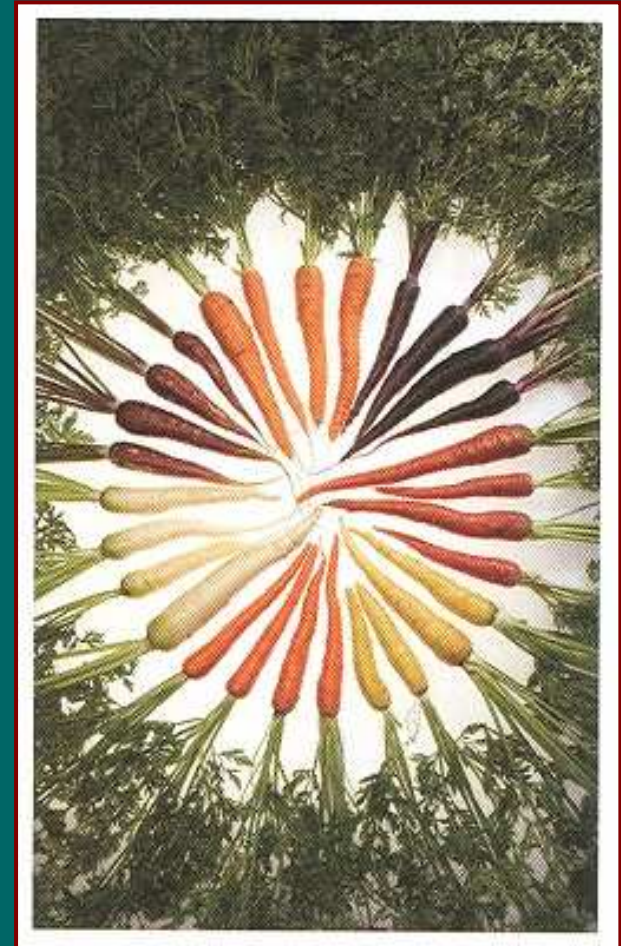
Symbolika plodnosti
ALE i zřejmě první
cílené křížení
kulturních rostlin

standardní
hybridizační
techniky
již **NESTAČÍ**



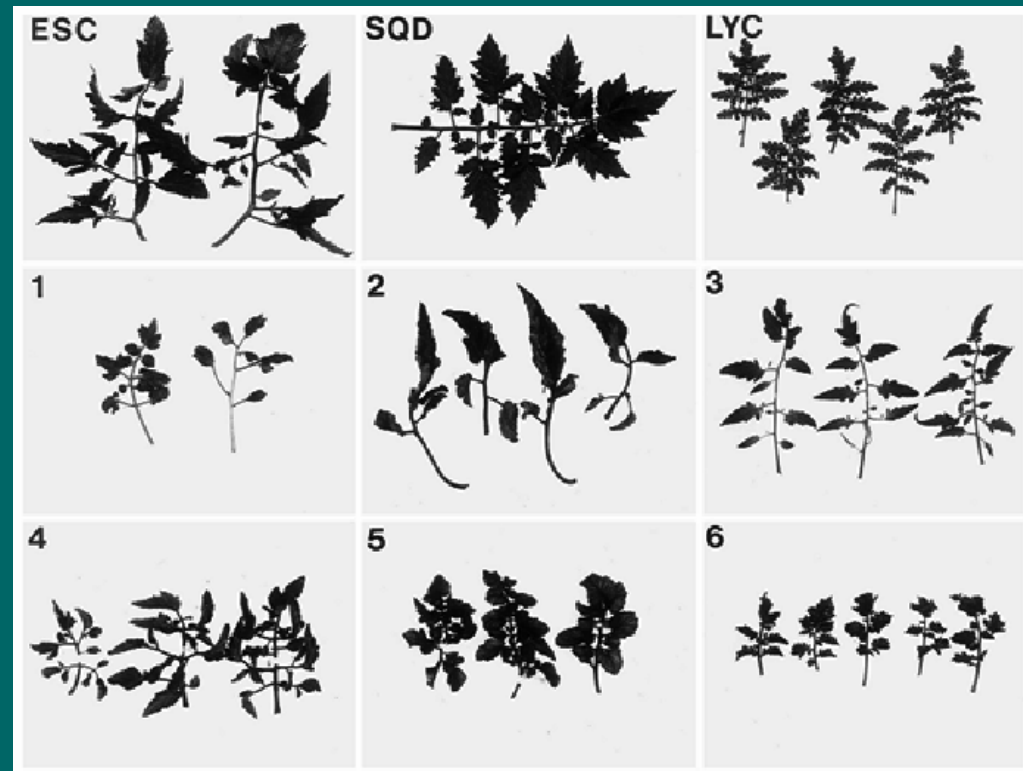
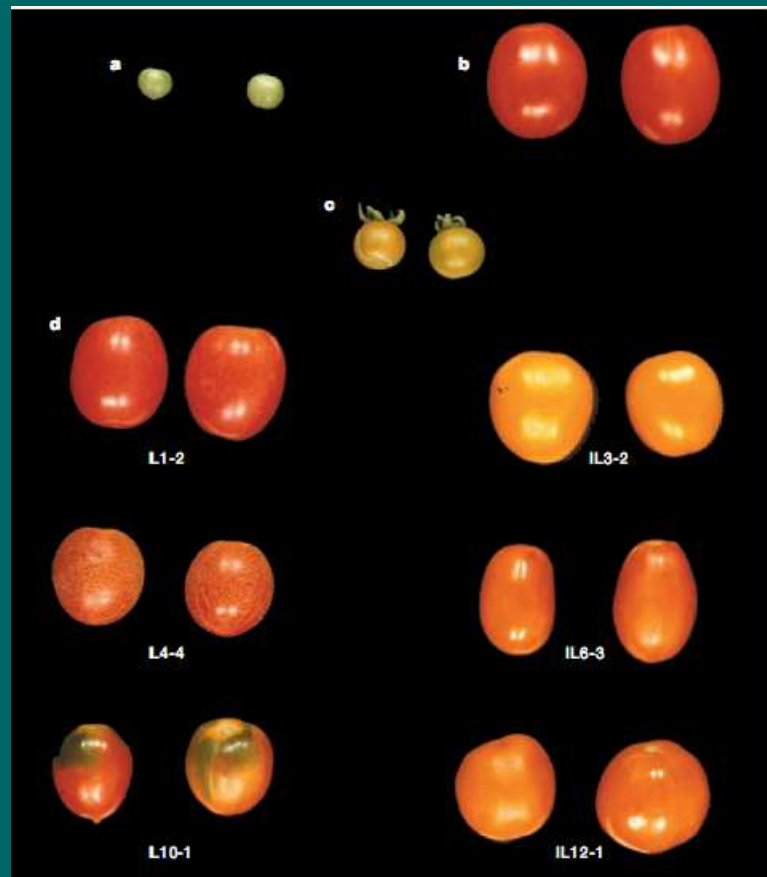
Konvenční křížení + genové mapování :
syntéza karotenoidů u mrkve je
kódována až 20 různými geny -
„rainbow of colors”

Genetic modification through breeding. Using modern plant-breeding techniques, USDA scientists have produced carrot varieties in a range of colors, reflecting varying amounts of the different carotenoid pigments. The National Plant Genome Initiative has helped the breeders determine that 20 different genes are responsible for the rainbow of colors. However, they have not identified the genes or the proteins encoded by the genes. (Photograph by Stephen Ausmus, courtesy of the Agricultural Research Service, USDA.)



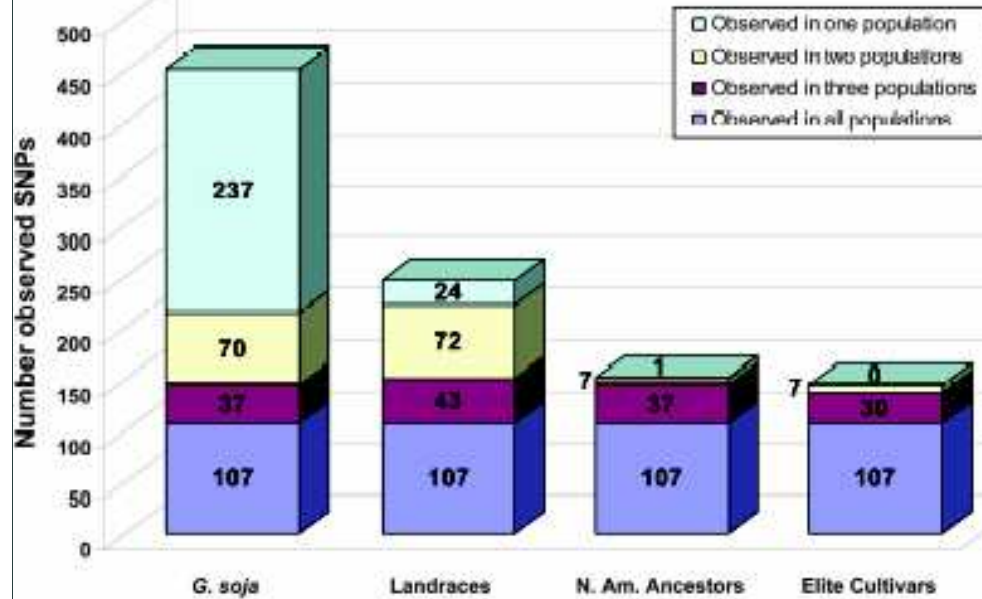
To se to kříží u mrkve
- ale co např. kulturní, sladký, velkoplodý **banán**
s genovými zdroji několika klonů !!

Solanum lycopersicoides x kulturní rajče

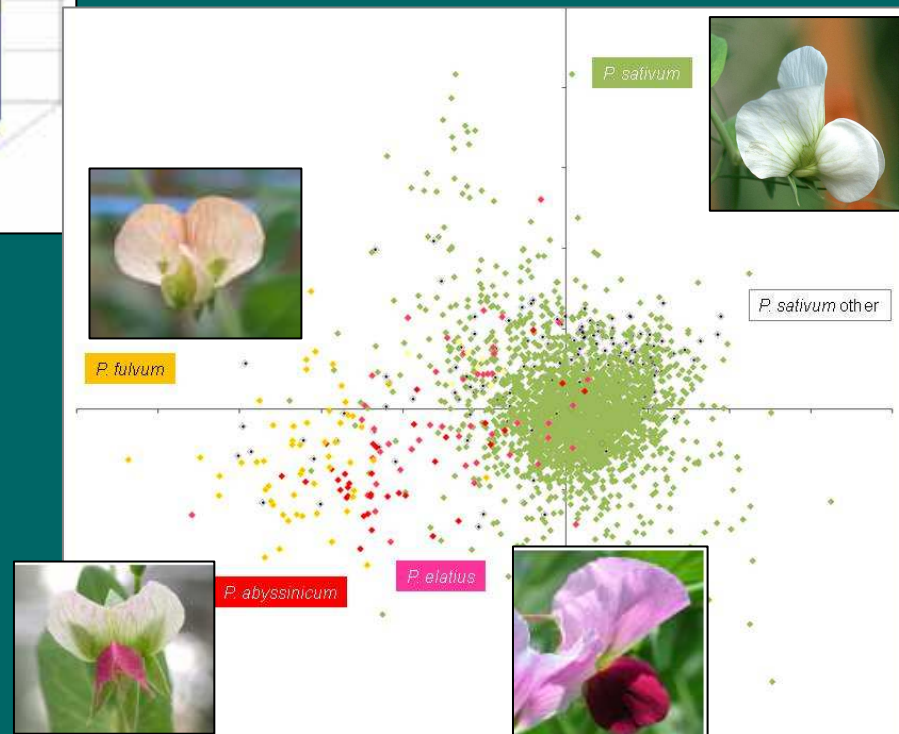
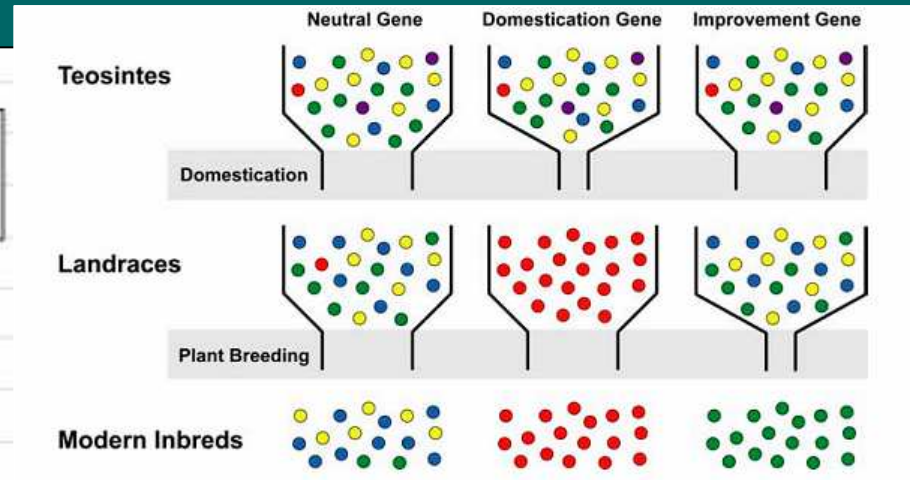


Canady et al. 2005, Genome

Výběr a snížení diversity

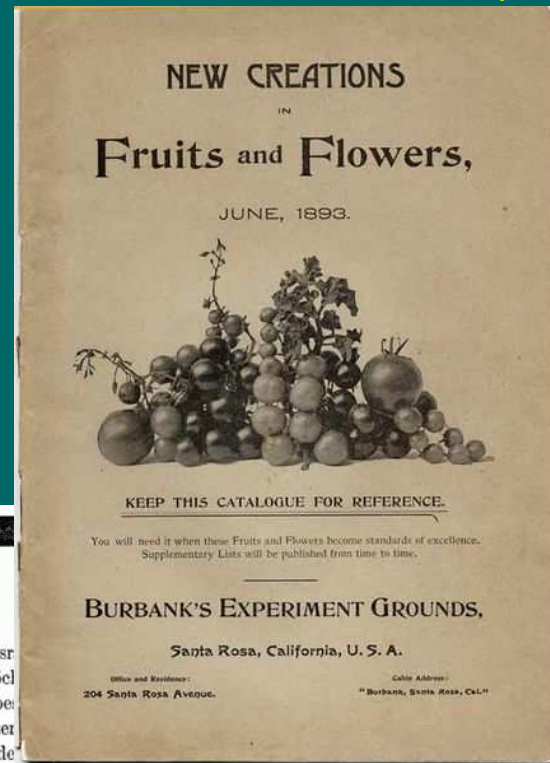


Pěstované formy/druhy
70% diverzity planých druhů



Šlechtitelé praktici

Luther Burbank
(1849 – 1926)



Emanuel Proskowetz
(1849–1944)

Emanuel Ritter v. Proskowetz, Reichsr.
im eigenen und im Namen seiner Söhne, Töchter
und Enkel in namenlosem Schmerz statt bei
Ableben seines, durch alle Vorzüge des Herzens
beziehentlich Bruders, Schwagers und Onkels, de

Max Ritter v. Proskowetz,

Doctors der Rechte, k. u. k. Consuls und Gerenten des k. u. k. General-Consulats Chicago, Ritters des
k. u. k. Franz-Josephs-Ordens, k. u. k. Truchsesses etc. etc.,

welcher am 17. September l. J. in Fort Wayne auf dem Heimwege auf schreckliche
Weise durch ein Eisenbahnunglück im 47. Lebensjahre ums Leben kam.

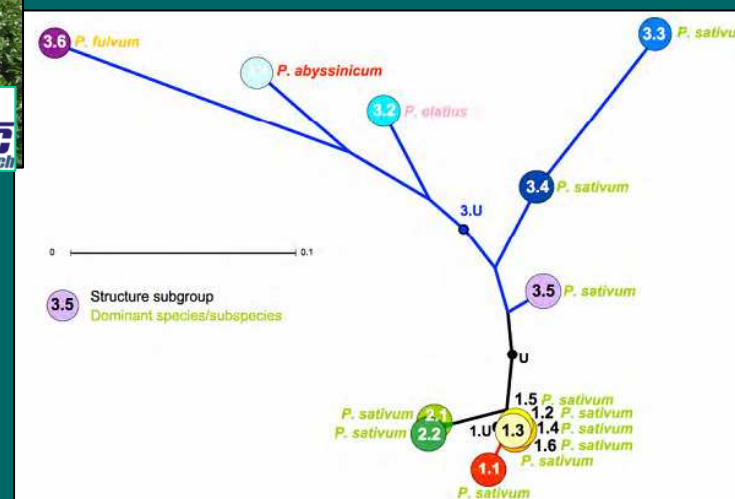
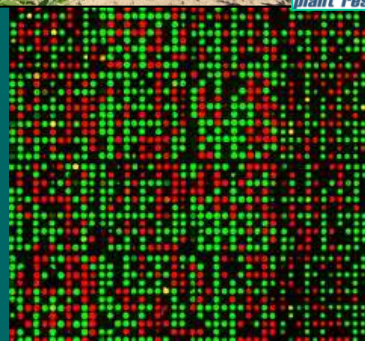
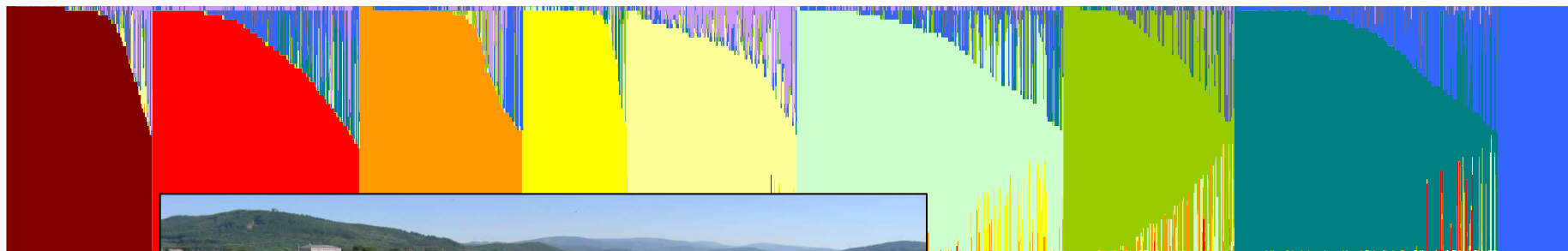
Die Beisetzung findet in Chicago, dem Orte seiner aufopferungsvollen Thätigkeit,
auf dem katholischen Friedhofe statt.

KWASSITZ, Mähren, den 20. September 1898.

Odrůda ječmene Hanácký Pedigree
Handbuch der Pflanzenzüchtung, 1910

1912 založil Gesellschaft für
Pflanzenzüchtung

Genofondové kolekce genetická diverzita pro budoucí pokolení



Odrůda - kultivar - varieta

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

- DISTINCTNESS
 - UNIFORMITY
 - STABILITY
- } **DUS**
kritérium

Odrůdy:

- klony (vegetativně množené druhy)
- linie (samosprašné druhy)
- hybridní (F1)
- populace (cizosprašné druhy, krajové odrůdy, syntetické)

"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."

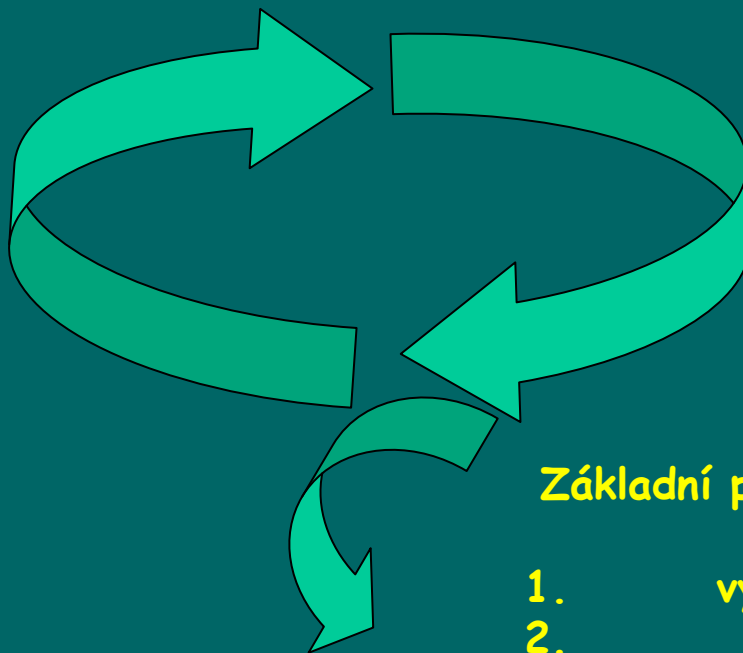
Šlechtění - umění a věda



křížení



Genetická variabilita



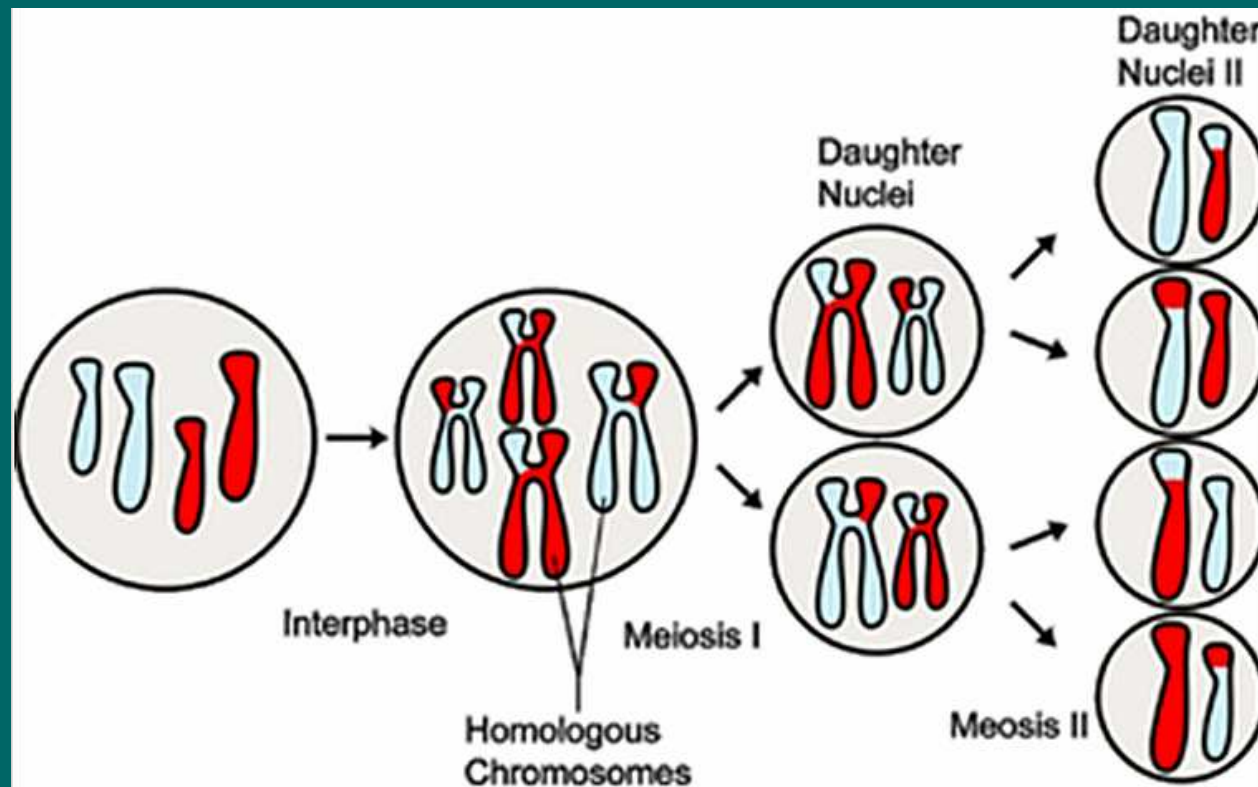
výběr

Nová odrůda

Základní postup ve šlechtění rostlin

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

Meióza - rekombinace a nezávislá segregace hlavní zdroje variability (plus mutace)



Základní šlechtitelský postup

odlišný jde-li o samosprašnou nebo cizosprašnou rostlinu
jedno nebo dvoudomou rostlinu

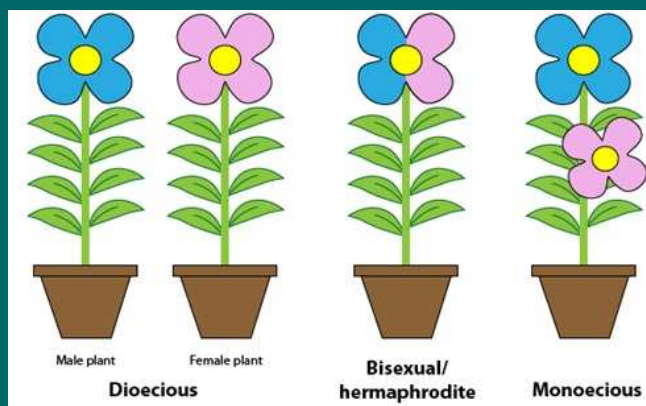
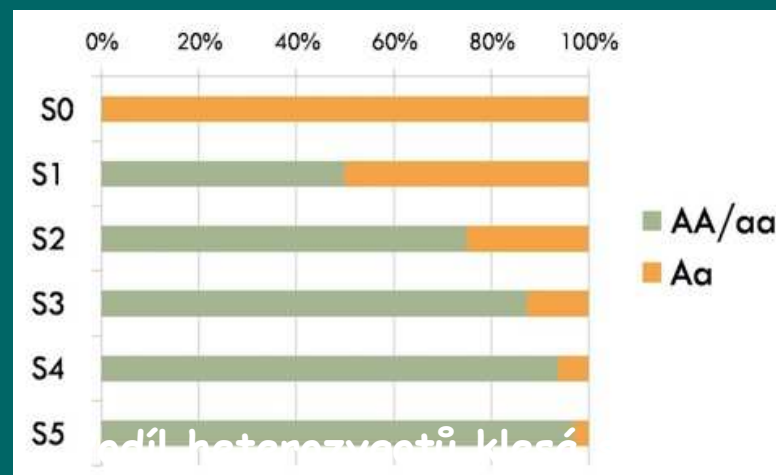
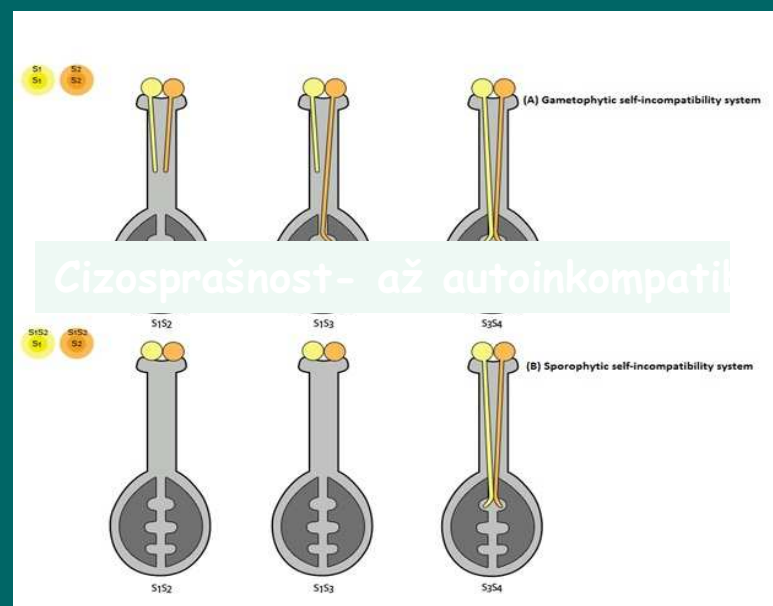
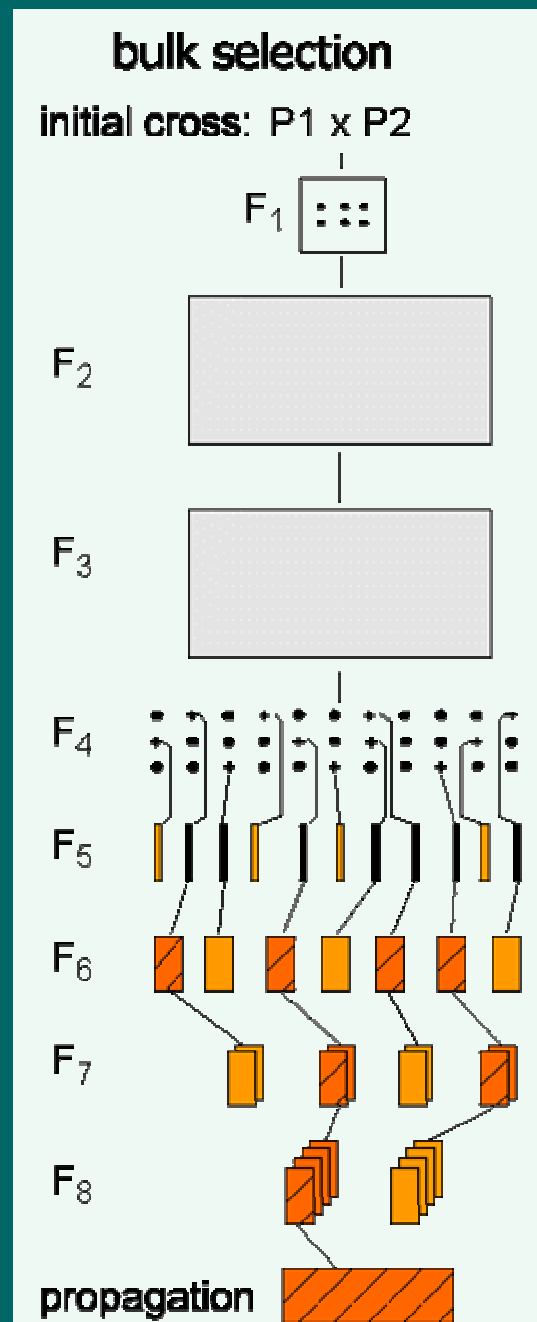


Table 1. List of common self-pollinating and cross pollinating crops

Self-pollinating	Cross-pollinating
Barley	Alfalfa
Common bean	Banana
Cotton	Carrot
Eggplant	Cassava
Lettuce	Cucumber
Oat	Maize
Pea	Onion
Peach	Potato
Peanut	Rye
Pepper	Sugar beet
Rice	Sunflower
Soybean	Sweetpotato
Tomato	Watermelon
Wheat	



Hromadný výběr versus pedigree



Generation	Number	Description
F2	IR2061	806 plants selected
F3	IR2061-214	3 plants selected- progeny rows
F4	IR2061-214-3	10 plants selected - progeny rows
F5	IR2061-214-3-8	3 plants selected – progeny rows
F6	IR2061-214-3-8-2	Bulk harvested-Yield trial

Hybridní (F1) odrůdy - heterózní efekt

G.Schull - 1909



Hybridní kukuřice - zisk 15 - 30% výnosu
Slunečnice - zisk až 50% výnosu

Důležité pro ekonomiku tvorby hybridního osiva

Cytoplasmatická samčí sterilita a hybridní odrůdy

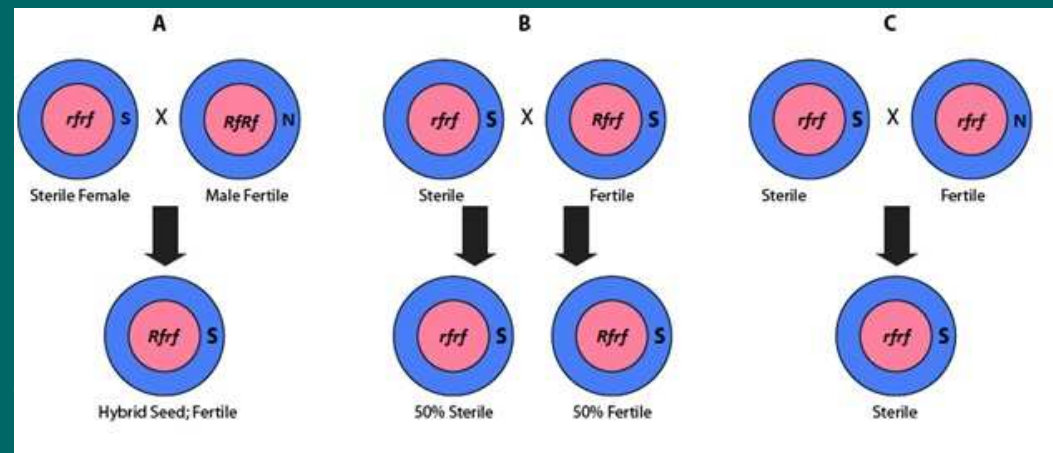
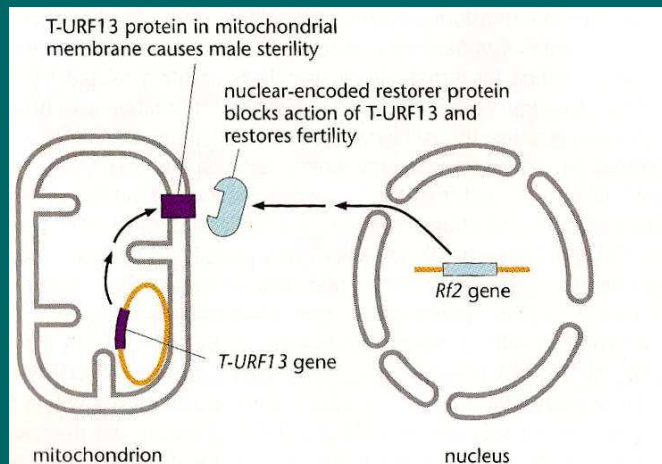
- neschopnost produkce funkčního pylu
- samčí sterility je agronomicky výhodná pro produkci hybridních semen



fertilní květ



sterilní



reorganizace mtDNA

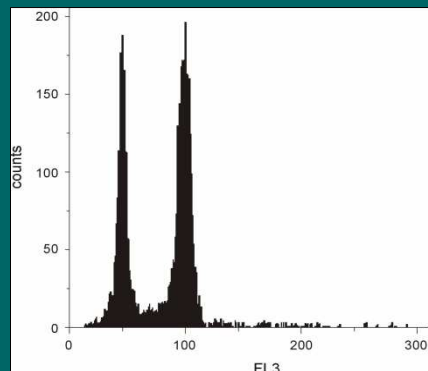
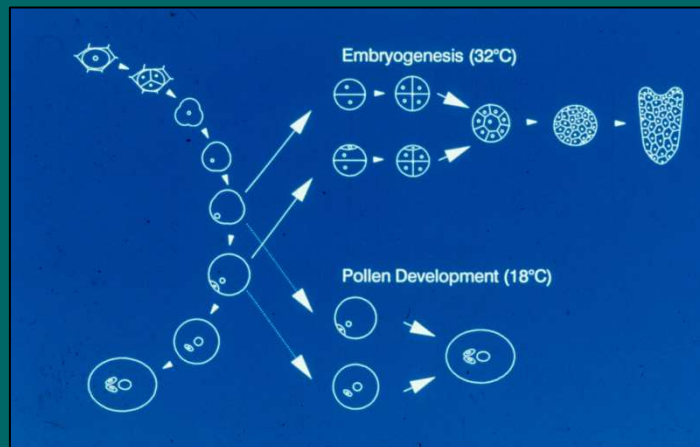
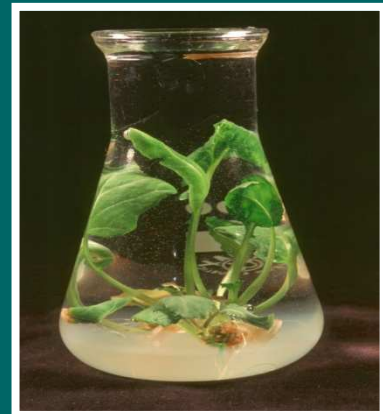
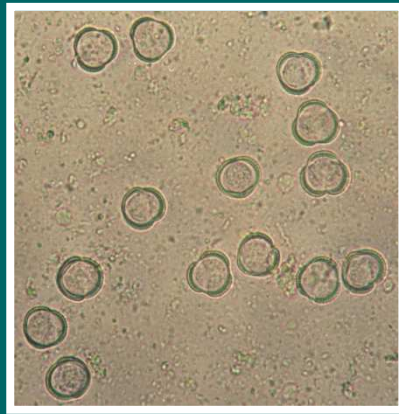
CMS Texas (T) cytoplasma kukuřice

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

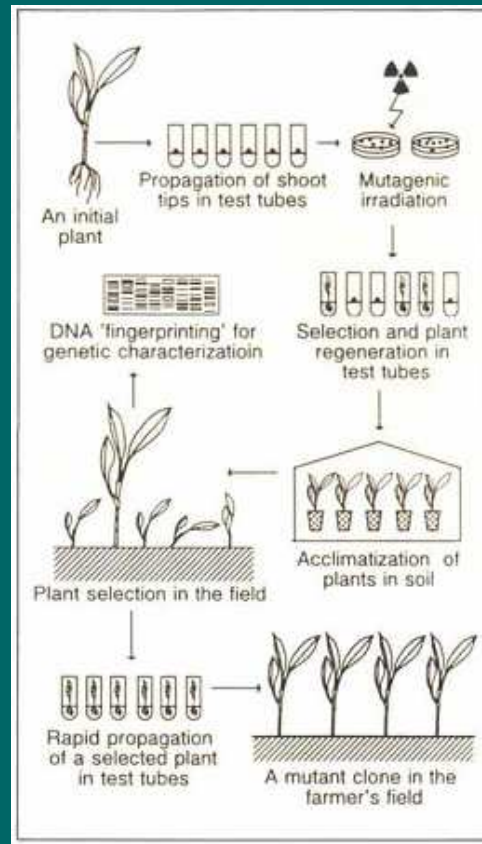
Dihaploidie rychlá cesta získání homozygotních linií

$$2n = Aa$$

$$n = A / a$$



Mutagenese - cesta ke zvýšení variability

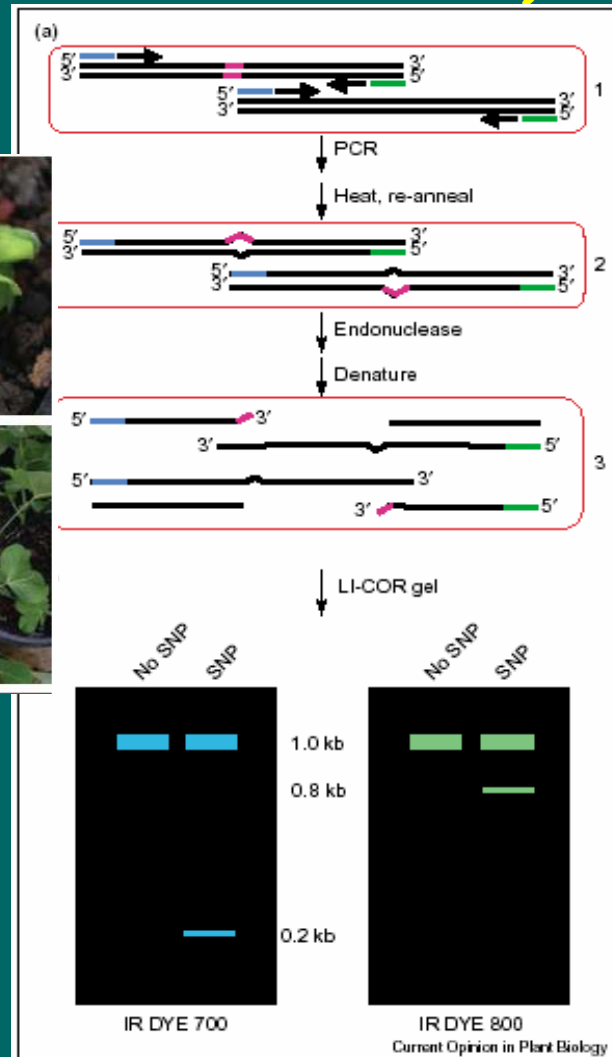
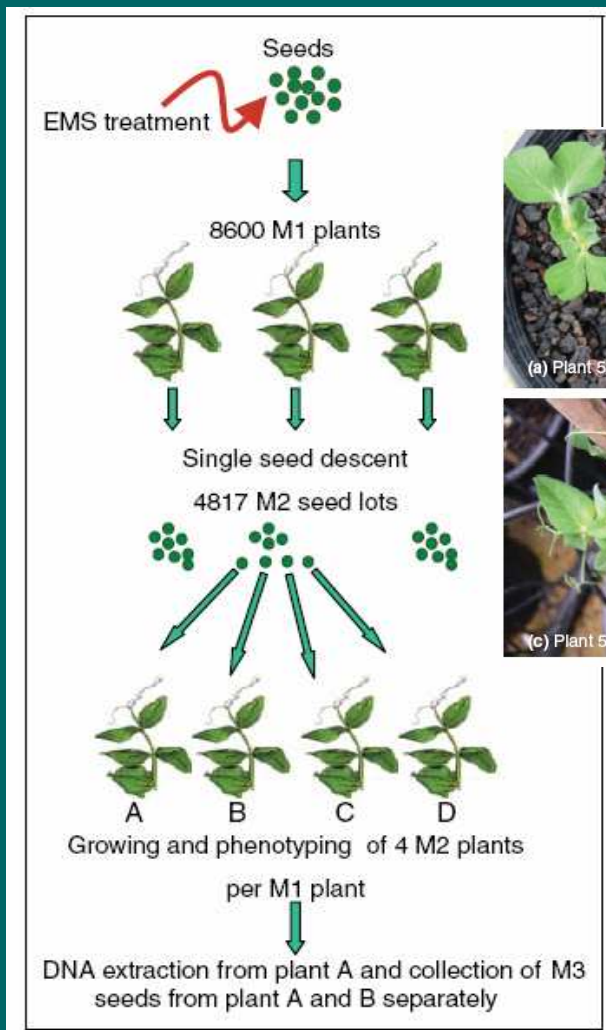


- fyzikální
- chemická
- transposony
- T-DNA inserce



U nás např. Diamantová řada ječmene jarního (sladařského)

TILLING aneb mutageneze v novém (Targeting Induced Local Lesions In Genomes)



Polyploidie

častý stav genomu kulturních rostlin

3n: banán, jablko, zázvor, řepa

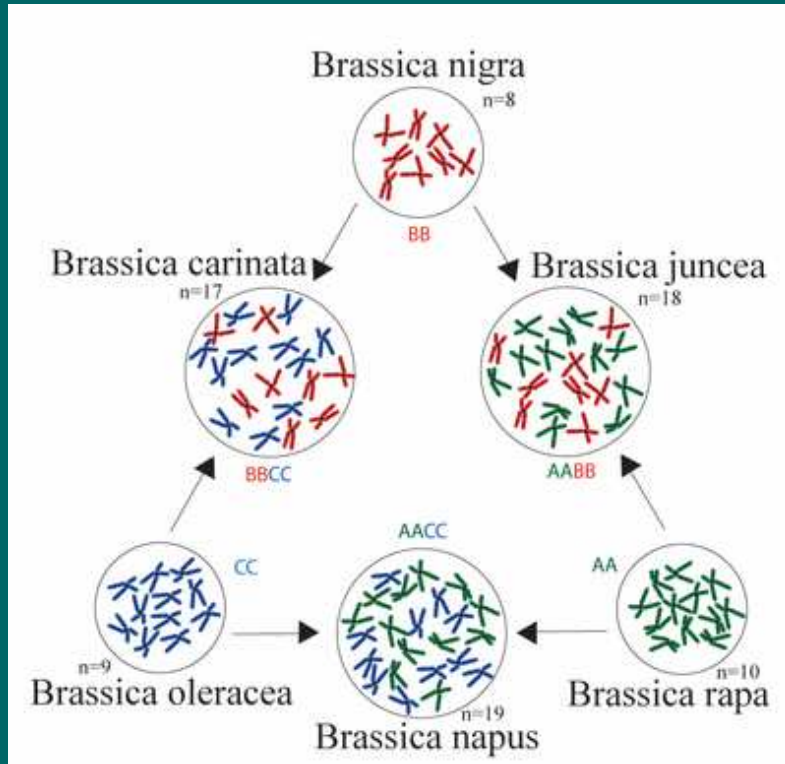
4n: durum pšenice, kukuřice, bavlník, brambor, zelí, tabák, podzemnice

6n: chrysantéma, pšenice, oves

8n: jahodník, jiřiny, cukr. třtina



Hybridizace a vznik druhu



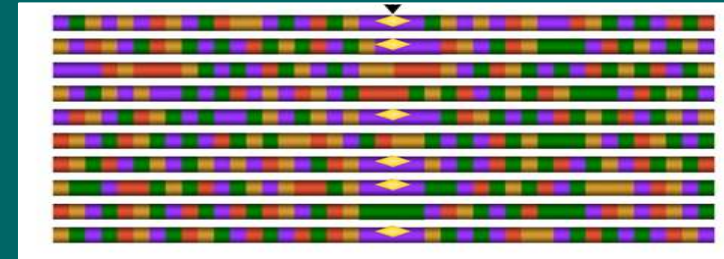
XXI. století

věk genomiky

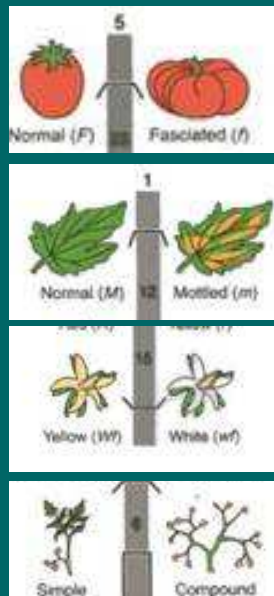
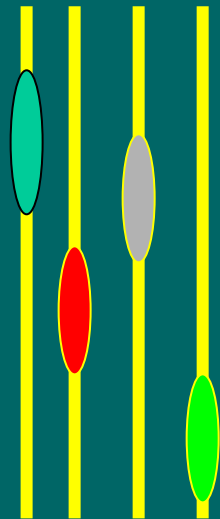
Fenotyp versus genotyp



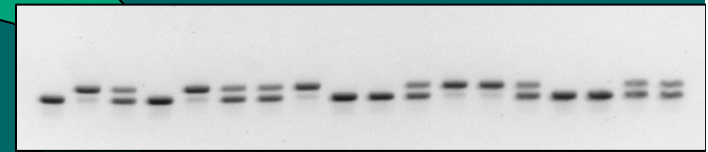
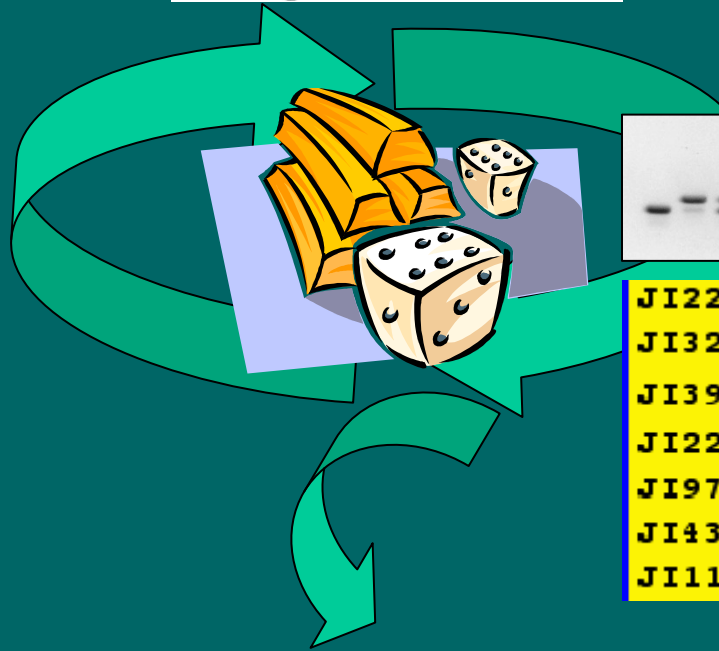
Rezistentní Náchylná



křížení



Výběr
analýza DNA



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



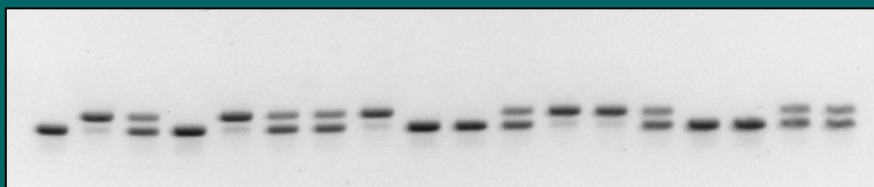
Odběr materiálu

Isolace DNA

Analýza DNA



Výsledek - interpretace



Rezistentní

Náchylná

Rezistentní

Rezistentní

Rezistentní

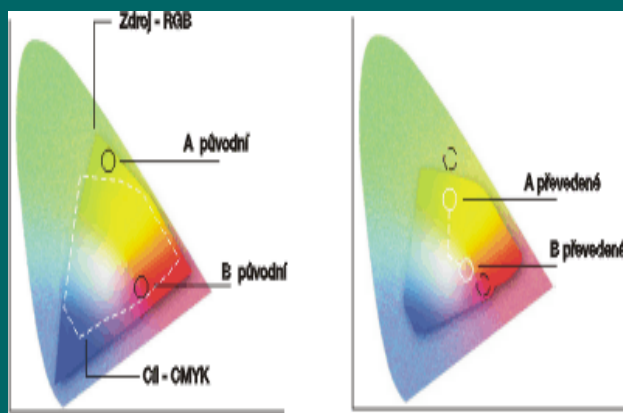
Rezistentní

Popis fenotypového projevu



Semeno-barva v plné zralosti

1. světležlutá
2. žltorůžová
3. vosková/dvoubarevná
4. žlutozelená
5. šedozelená
6. tmavozelená
7. světlehnědá
8. hnědá
9. černá



Číselné zhodnocení
průměrných pozic souřadnic
L, a, b v CIE-LAB barevném
prostoru (3D)

Colour deviation:

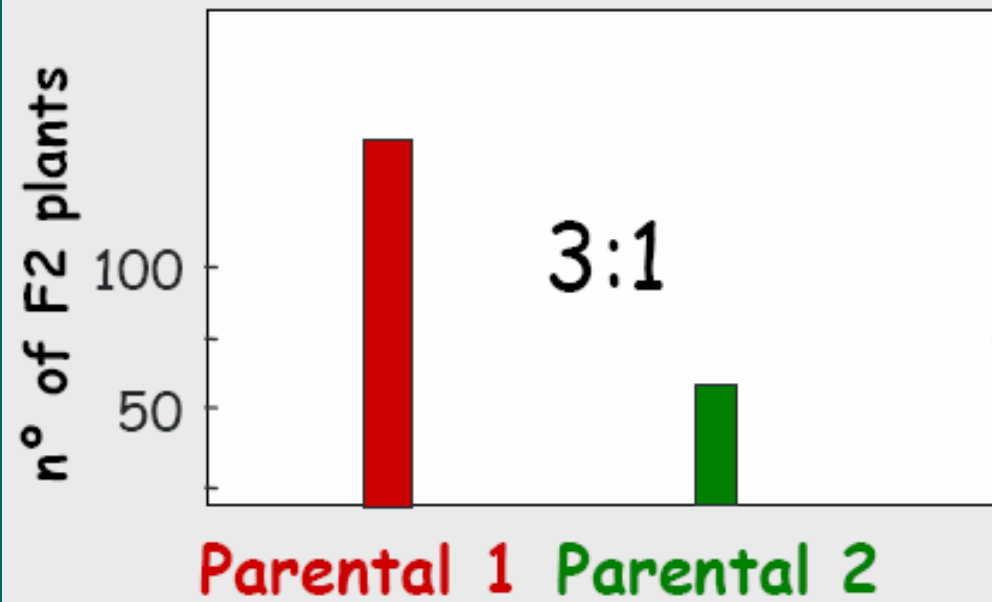
$\Delta E_{a,b}$

$$\Delta E_{a,b} = \frac{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}}$$

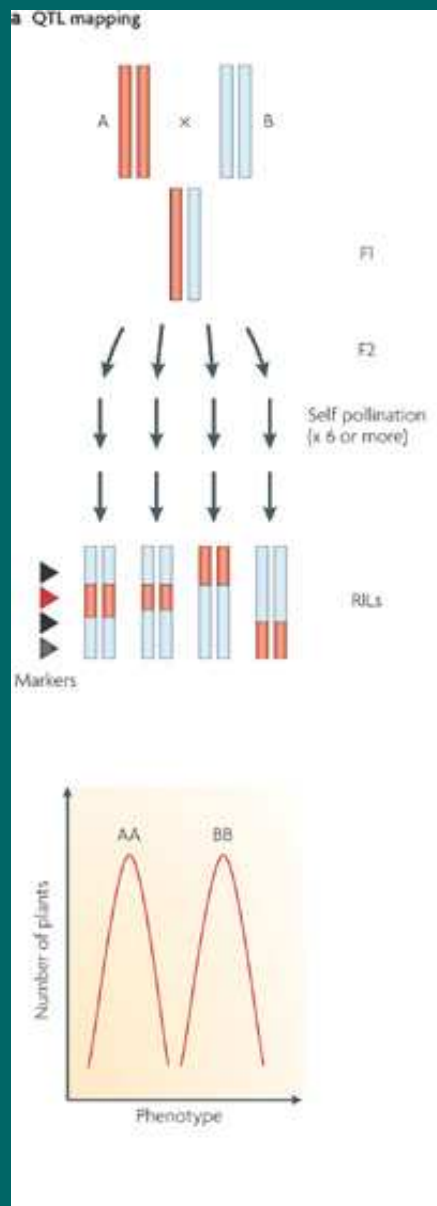
Kvalitativní znaky



QUALITATIVE VARIATION

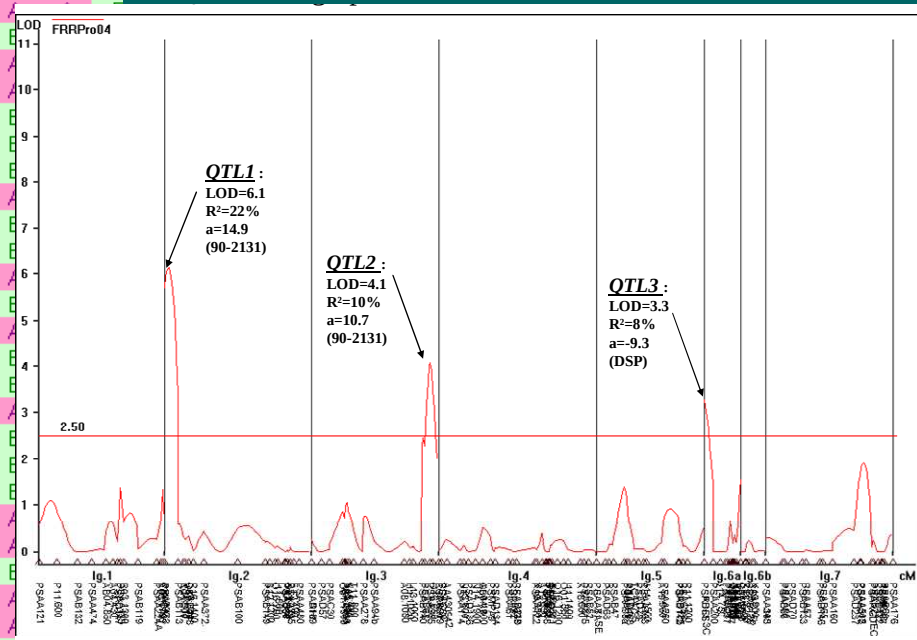


Kvantitativní znaky (QTLs)



2		Fwr1	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C	ACA: C
3		Fwr1	280	210	195	180	150	140	125
4	Marker	Fw	A1	A2	A3	A4	A5	A6	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	B	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	B	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	B	B	B	B	B	B
22	PRIL7-16	A	A	A	A	A	A	A	A
23	PRIL7-17	A	A	B	B	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
33	PRIL7-27	B	B	A	A	A	A	A	A

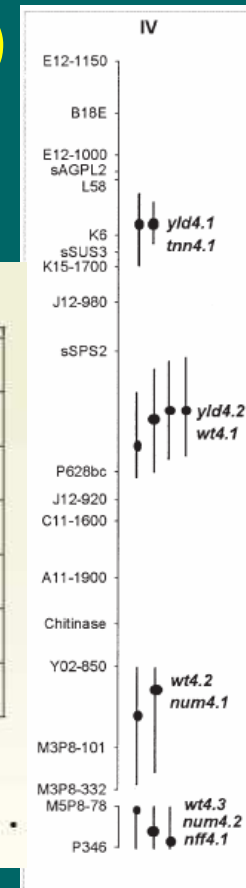
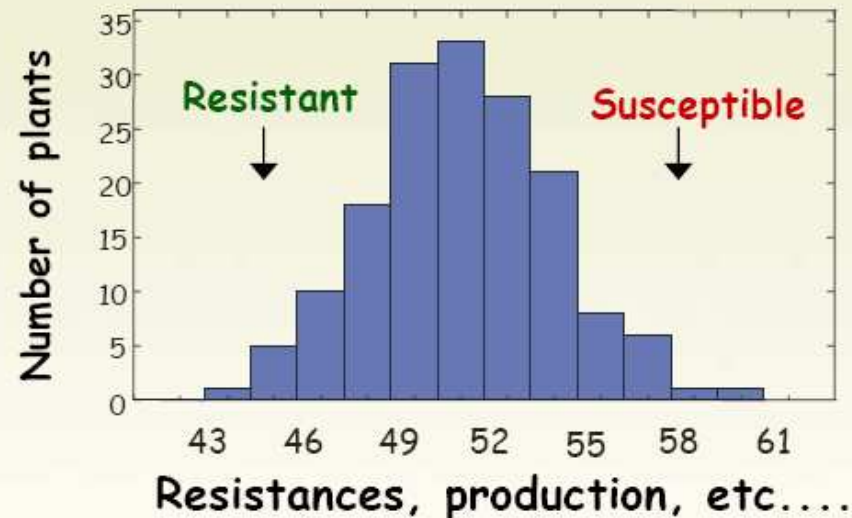
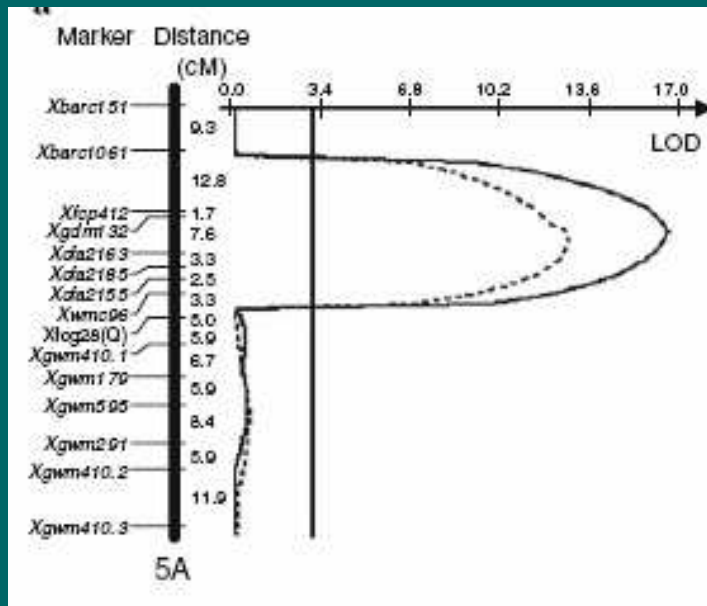
Spočívá ve
analýze
statistické
závislosti mezi
kvantitativními
znaky a



QTLs- interakce genotypu a prostředí

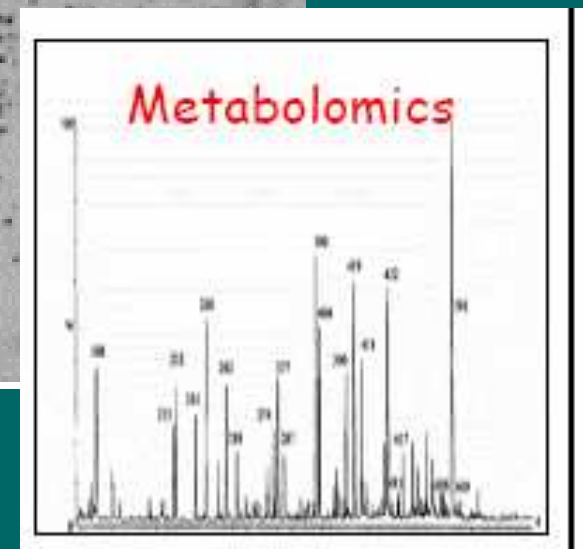
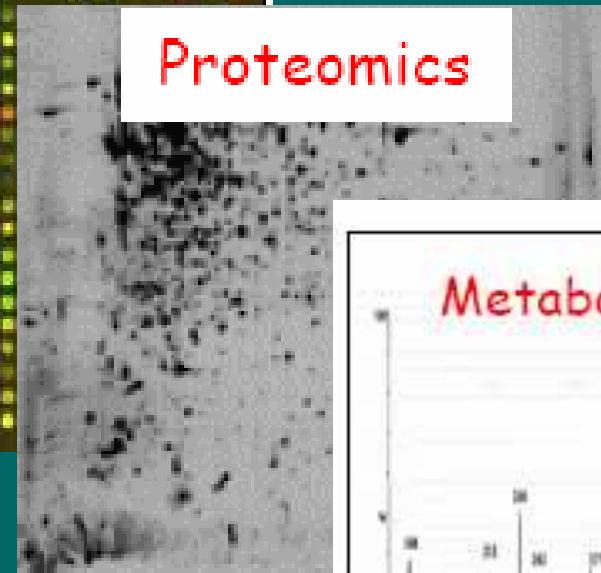
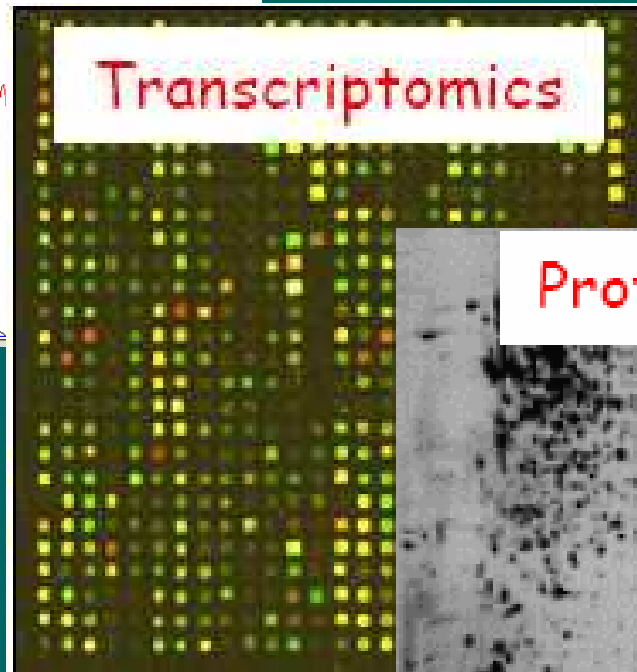
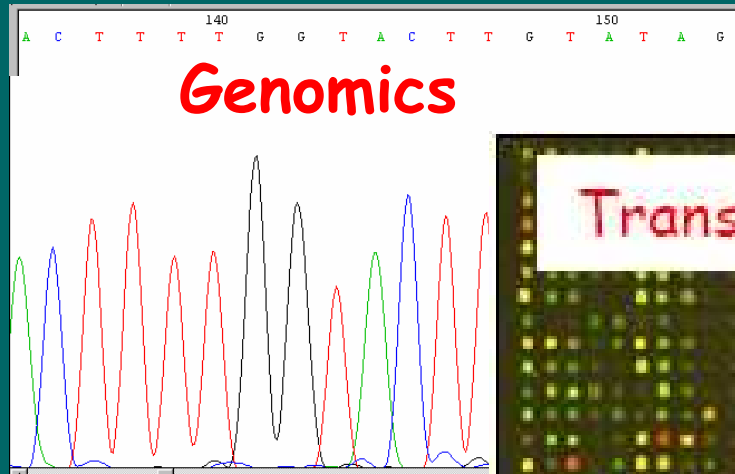
Potřeby:

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



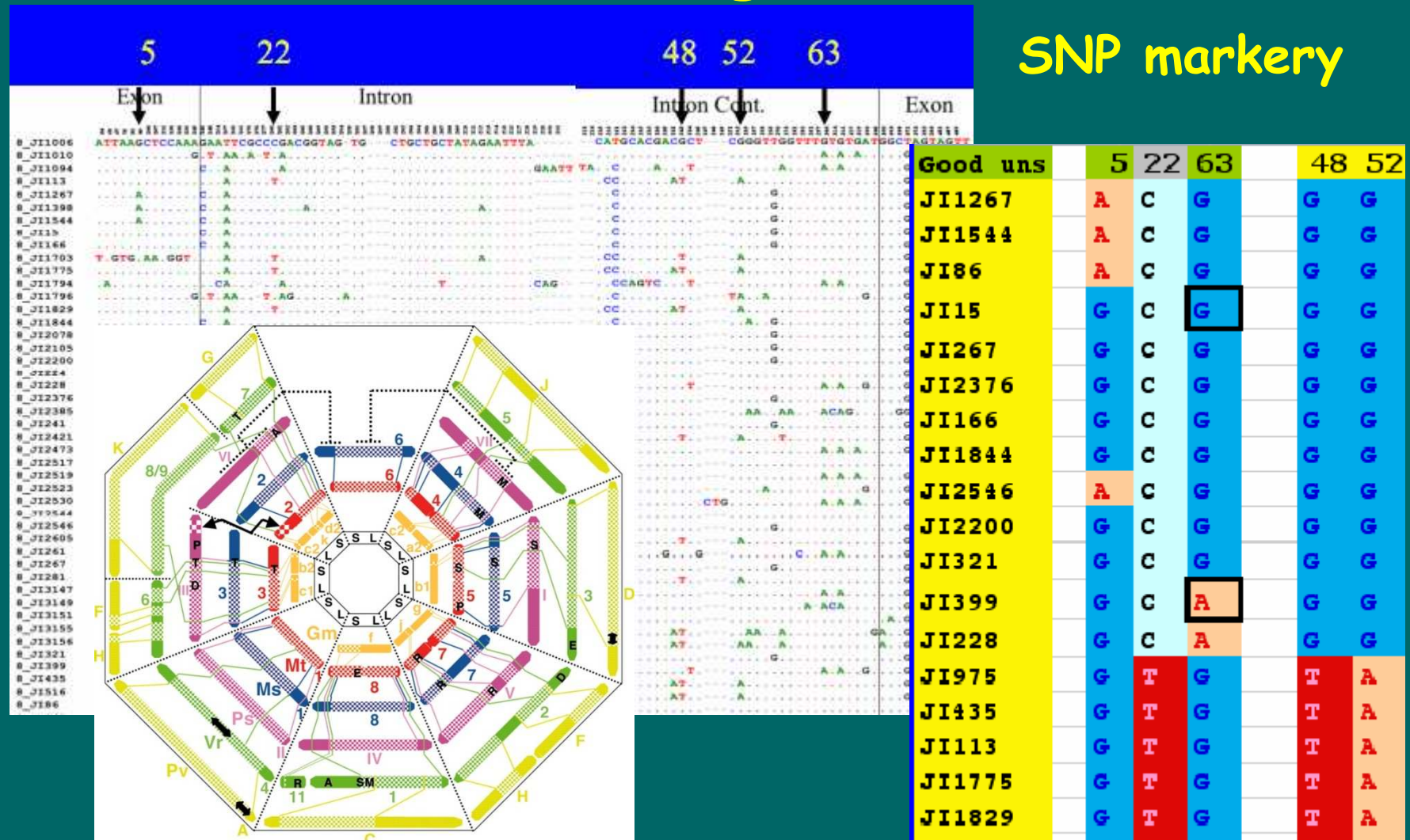
Hrách: zmapovány komponenty výnosu (HTS, hmotnost, počet květních nodů, zásobní proteiny, rezistence etc.)

„-omics“ postupy

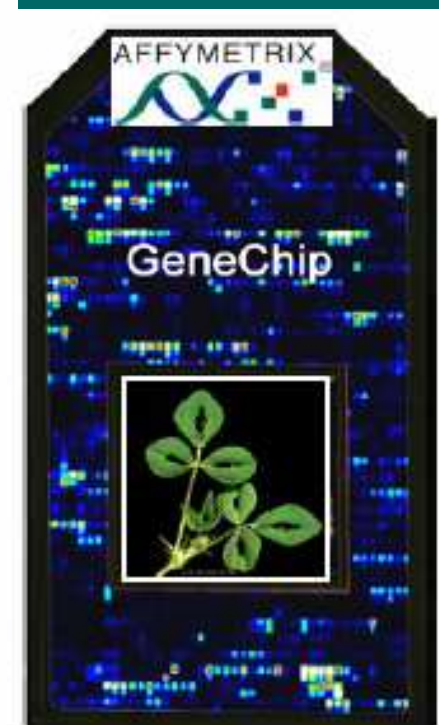
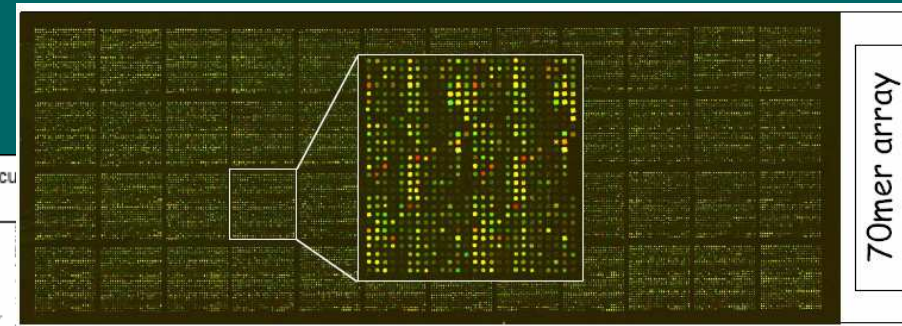
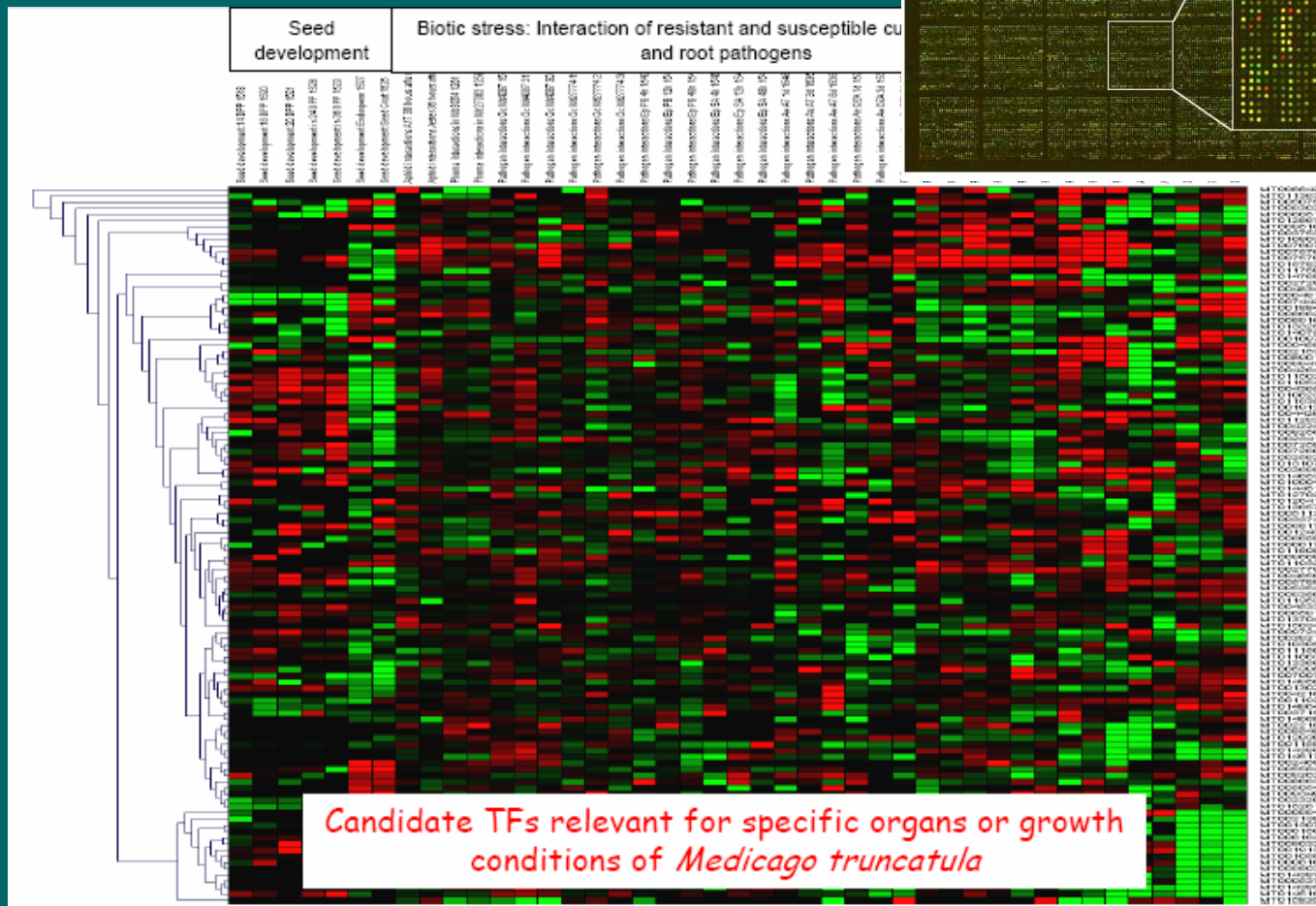


Genotypizace aneb výběr vhodných alel

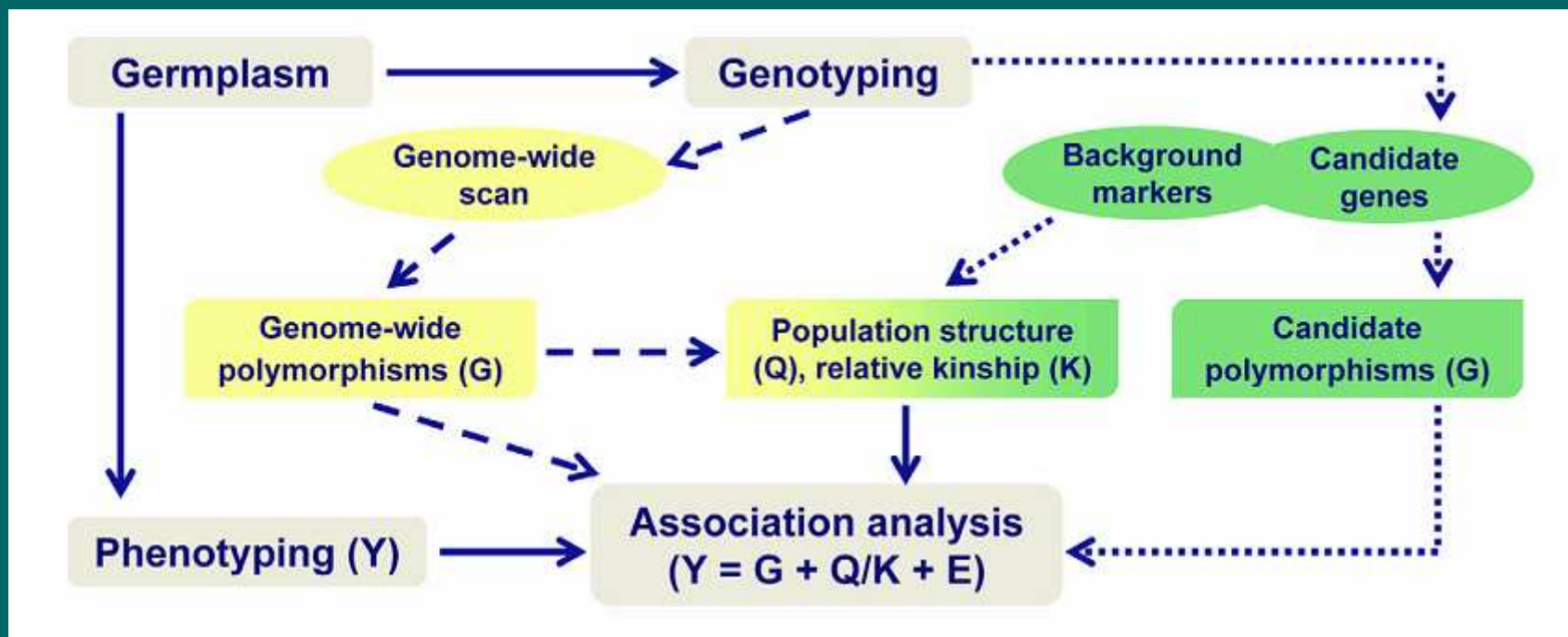
Translační genomika



Kandidátní geny - transkriptomika



Asociační mapování



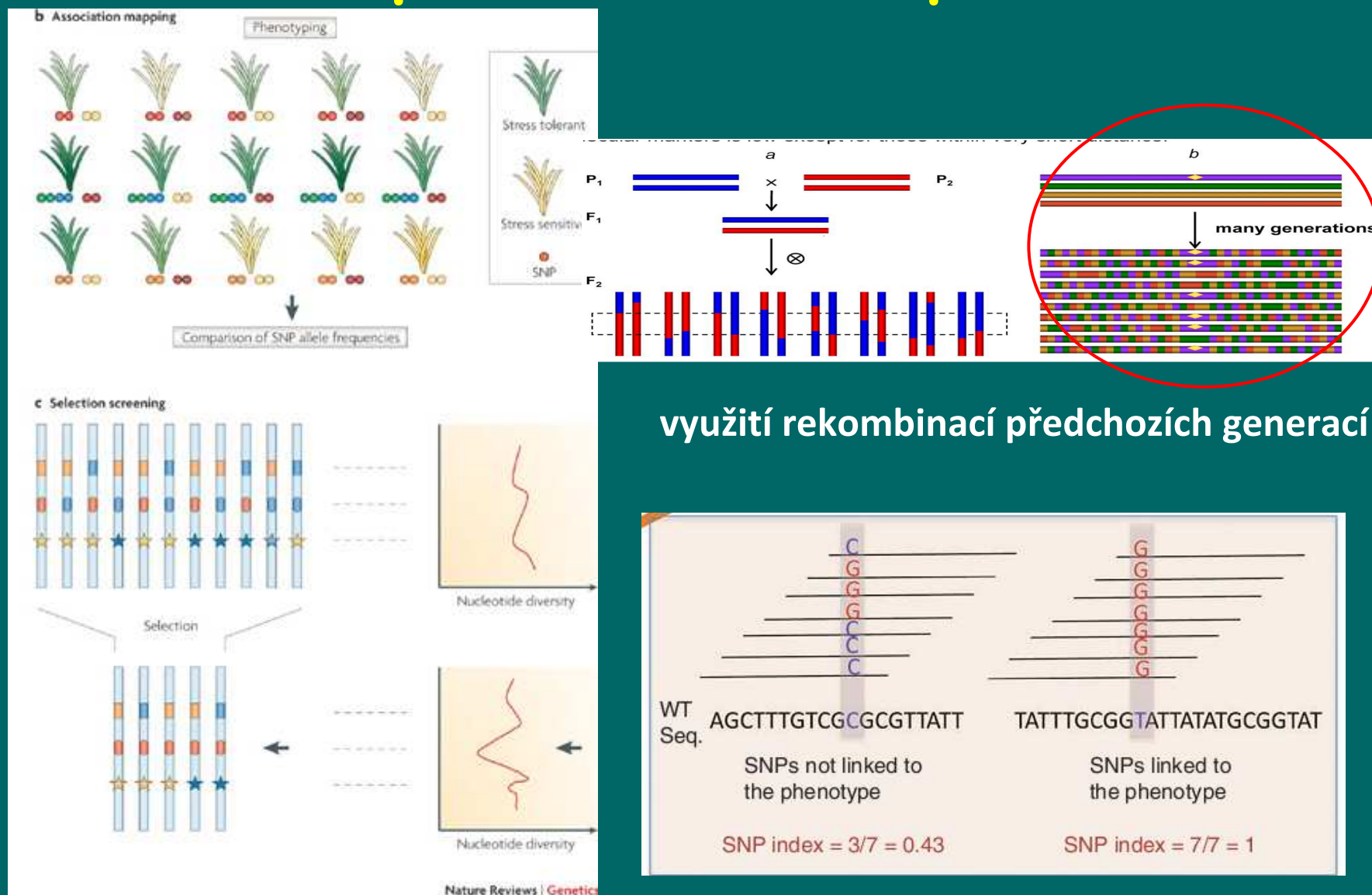
Genome-wide association mapping

It is a comprehensive approach to systematically search the genome for causal genetic variation. A large number of markers are tested for association with various complex traits, and prior information regarding candidate genes is not required. It works best for a research consortium with complementary expertise and adequate funding.

Candidate-gene association mapping

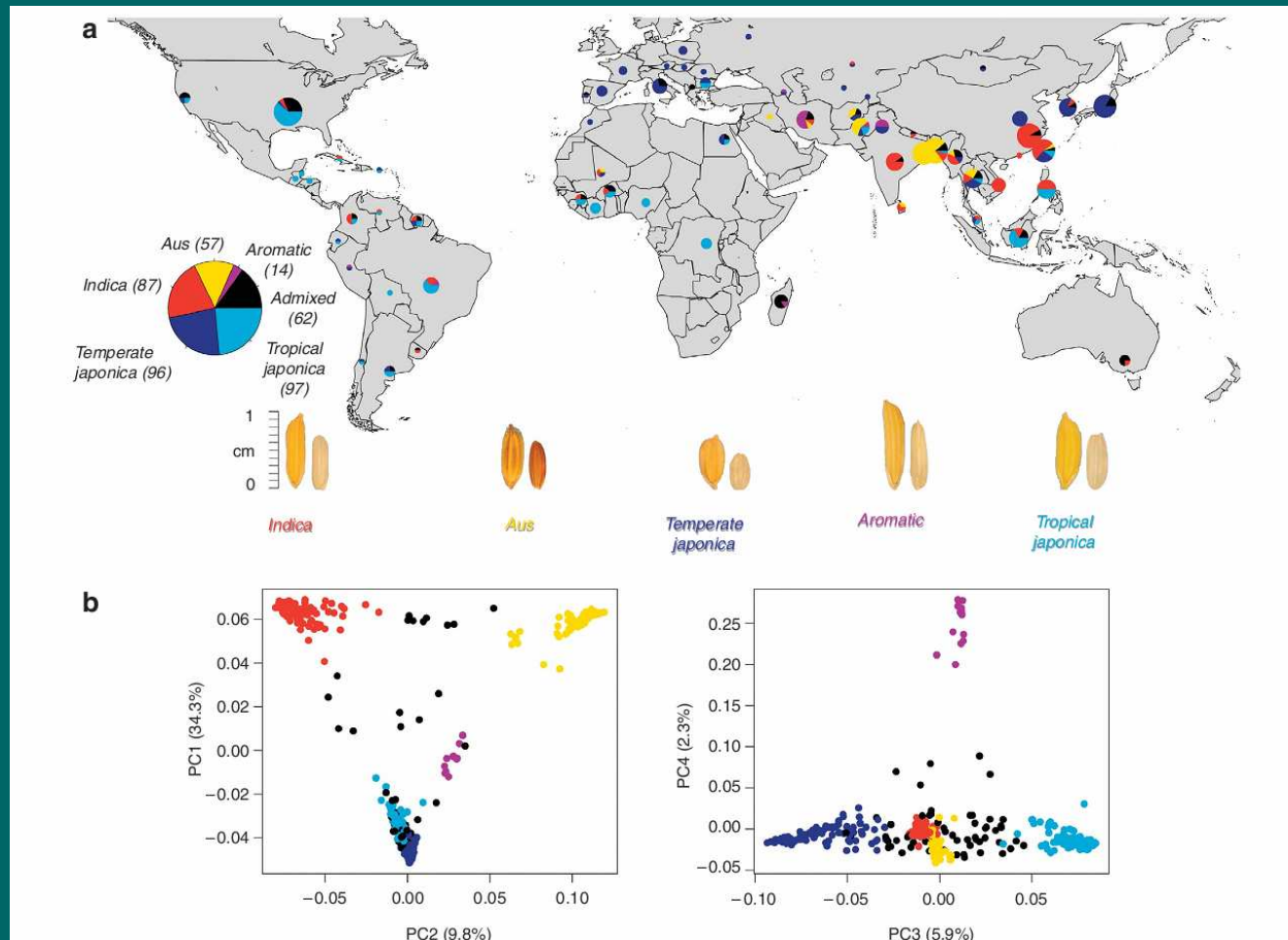
Candidate genes are selected based on prior knowledge from mutational analysis, biochemical pathway, or linkage analysis of the trait of interest. An independent set of random markers needs to be scored to infer genetic relationships. It is a low cost, hypothesis-driven, and trait-specific approach but will miss other unknown loci.

Princip asociačního mapování

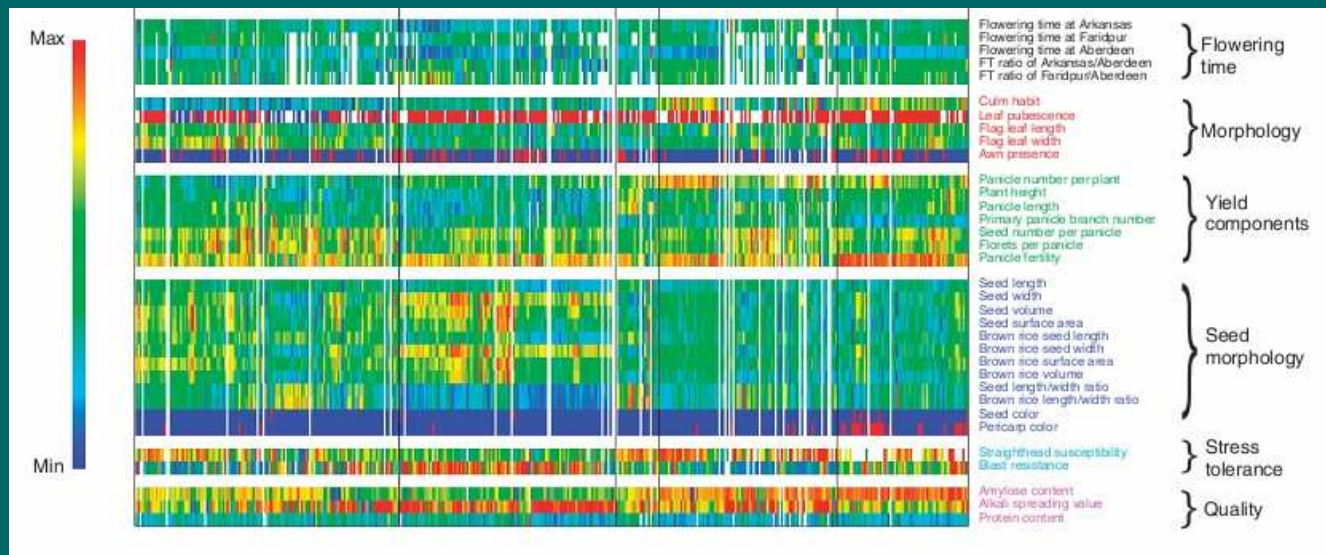
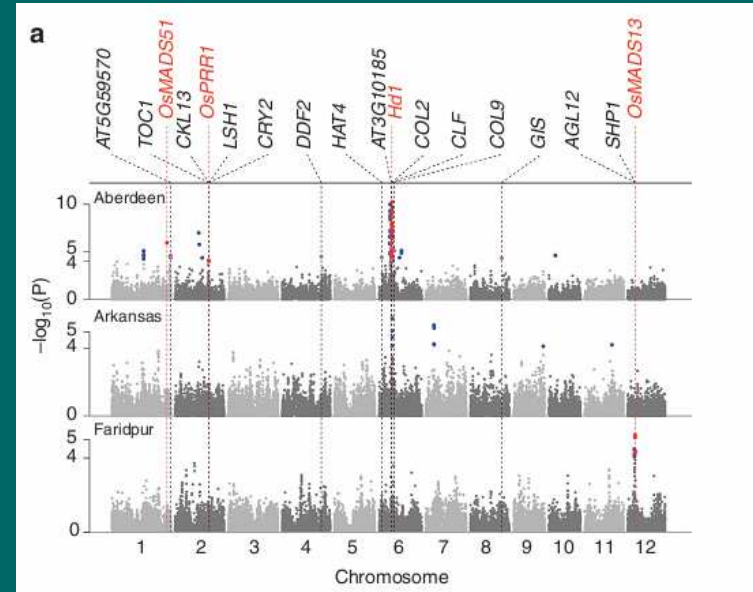
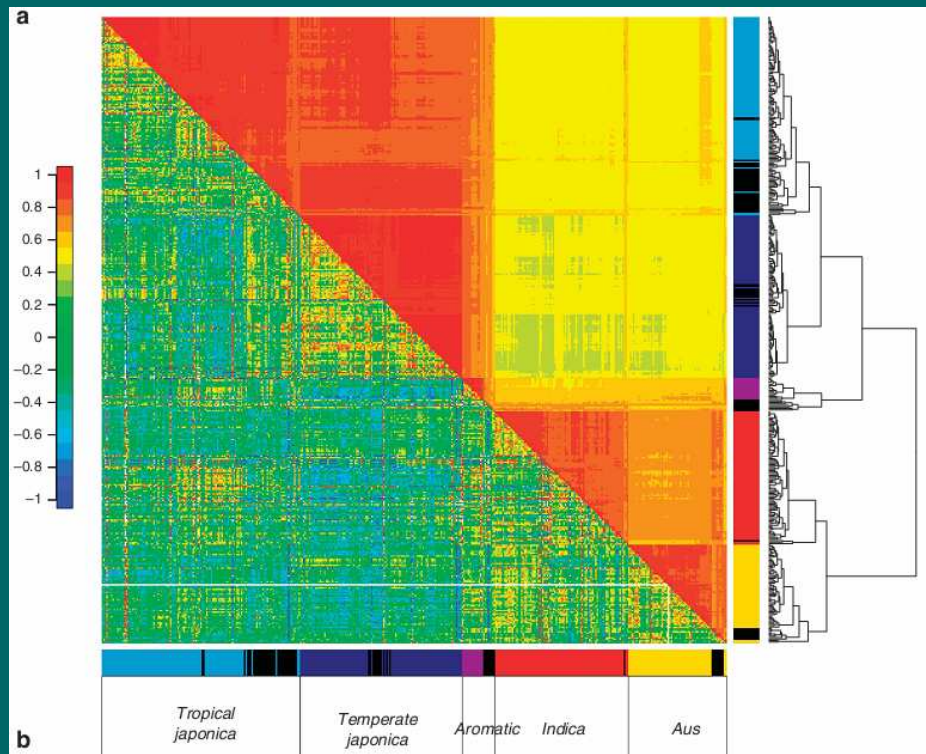


Statistická asociace dané alely (SNPu) s fenotypovým projevem
Ideálně napříč genomem, mim 100-1000 genů najednou

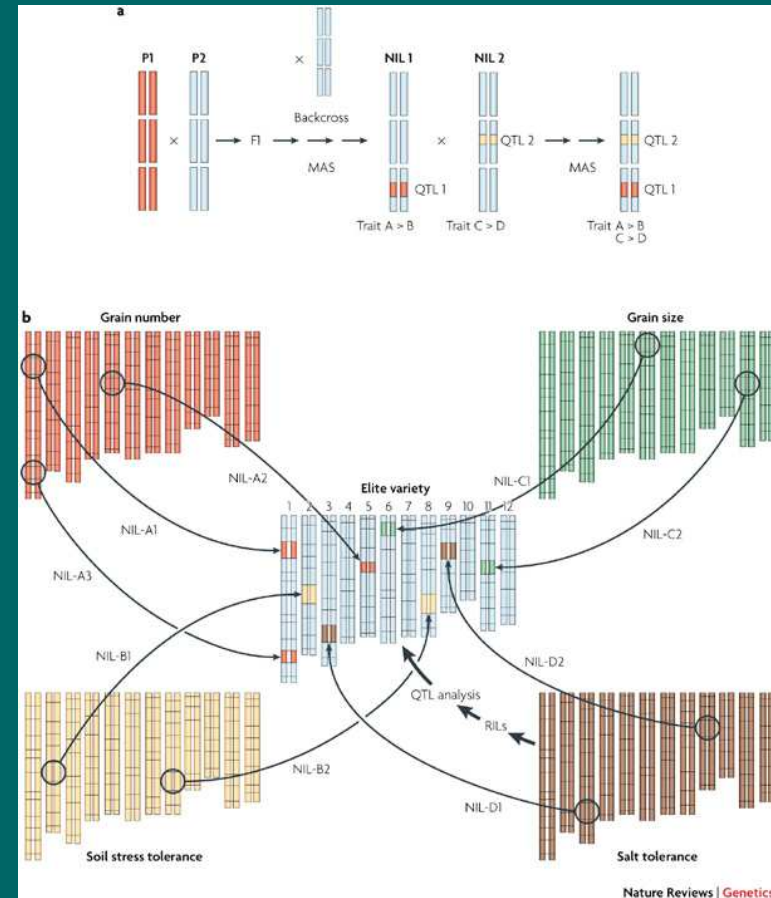
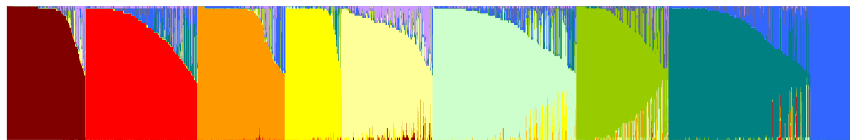
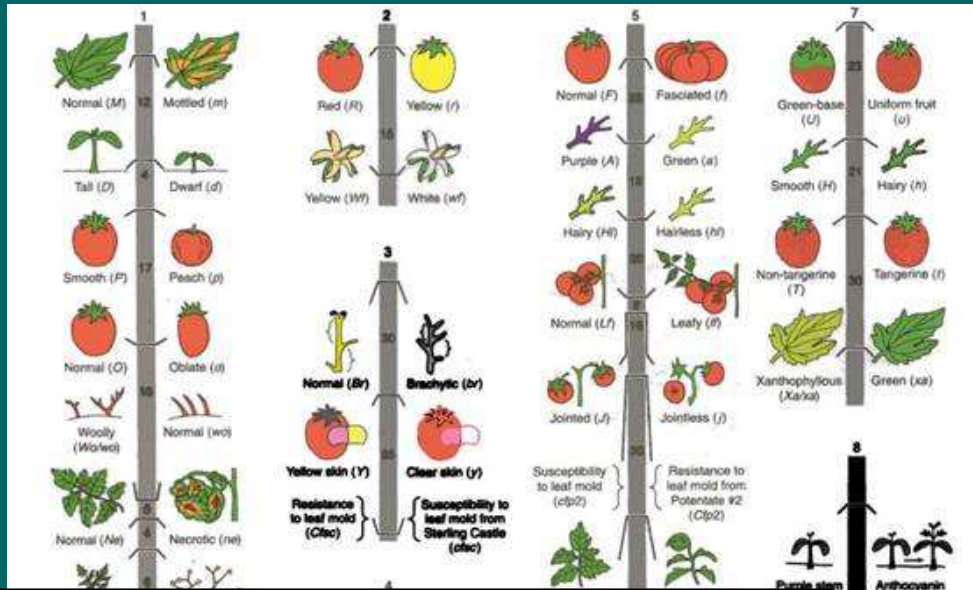
Genome-wide association mapping reveals a rich genetic architecture of complex traits in *Oryza sativa*



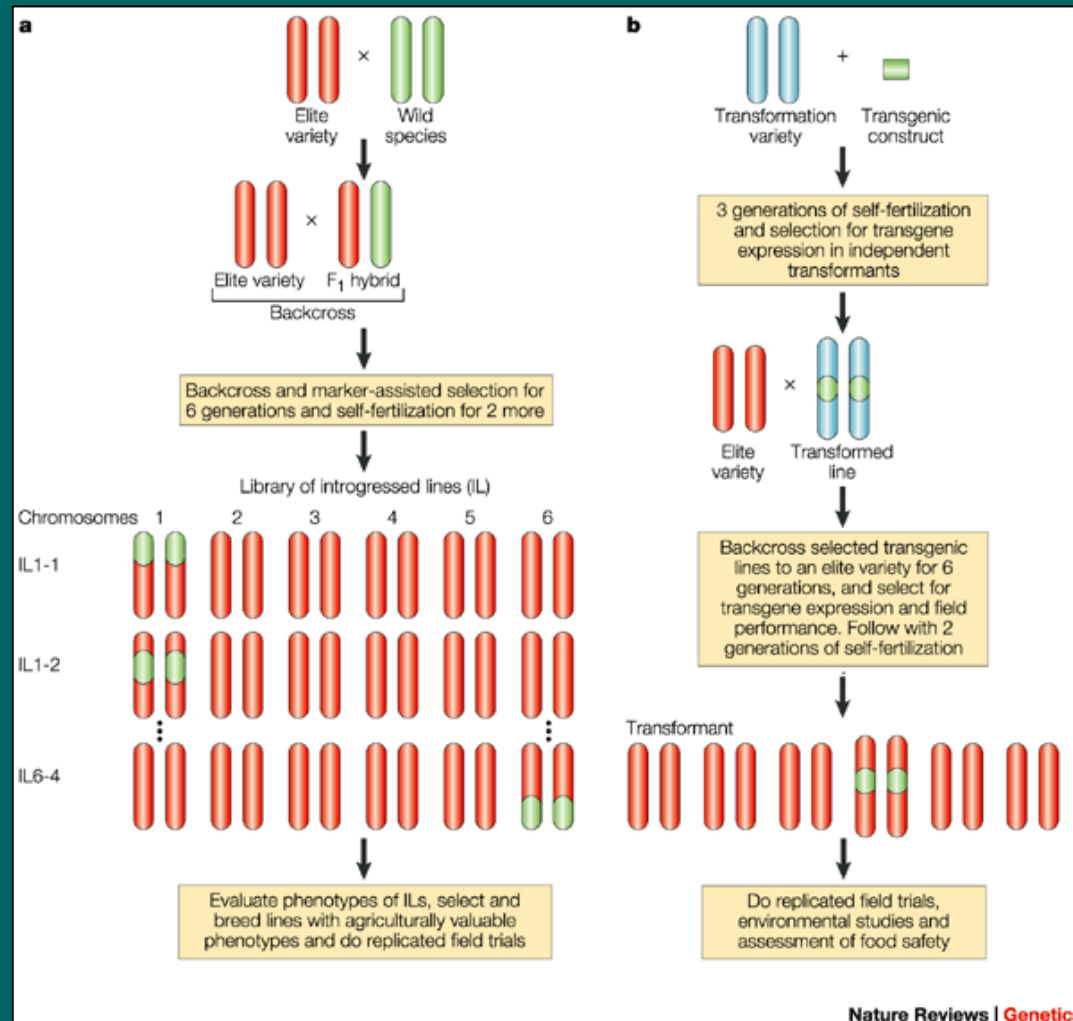
Znaky hodnocené na 3 lokalitách 250,000 SNPs na všech chromosomech



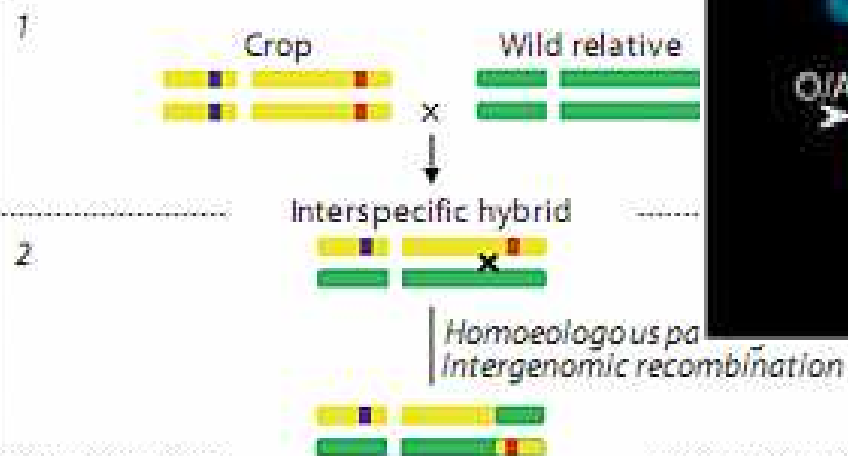
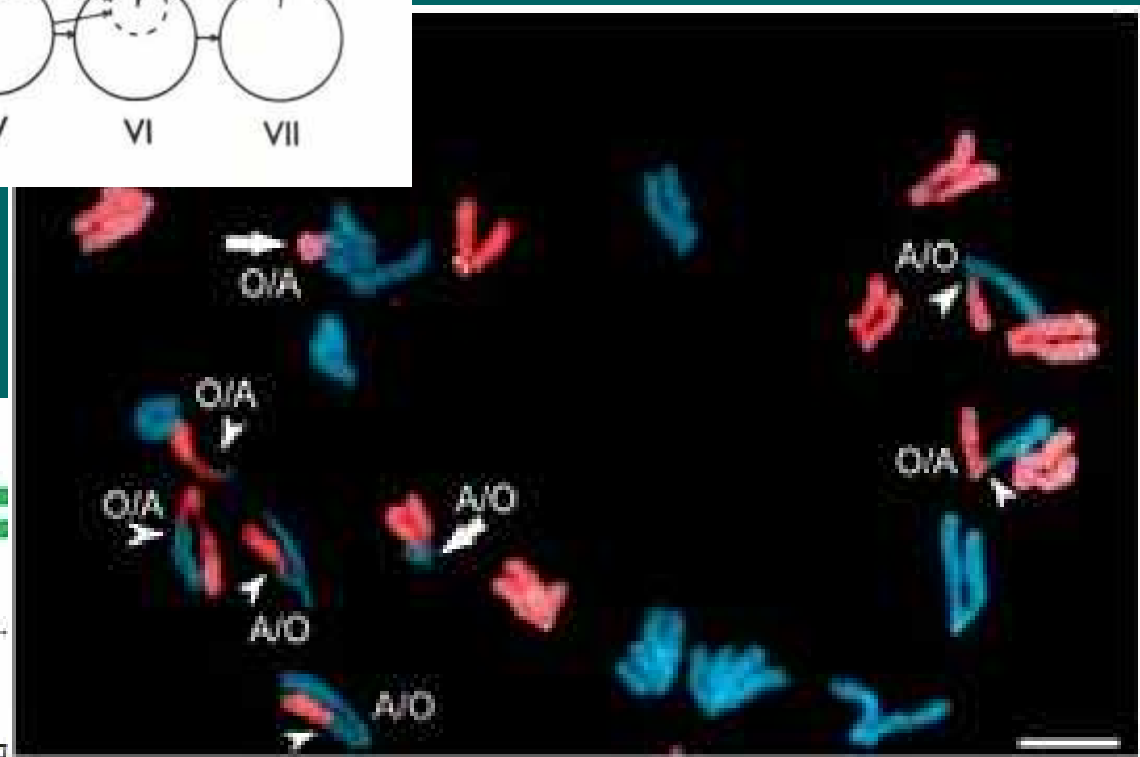
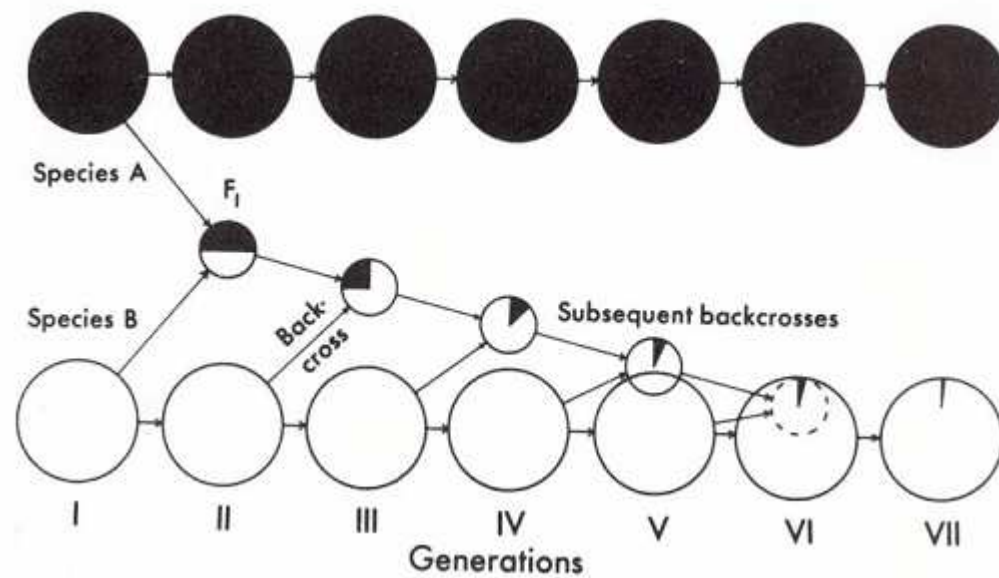
Pyramidování genů - Breeding by design



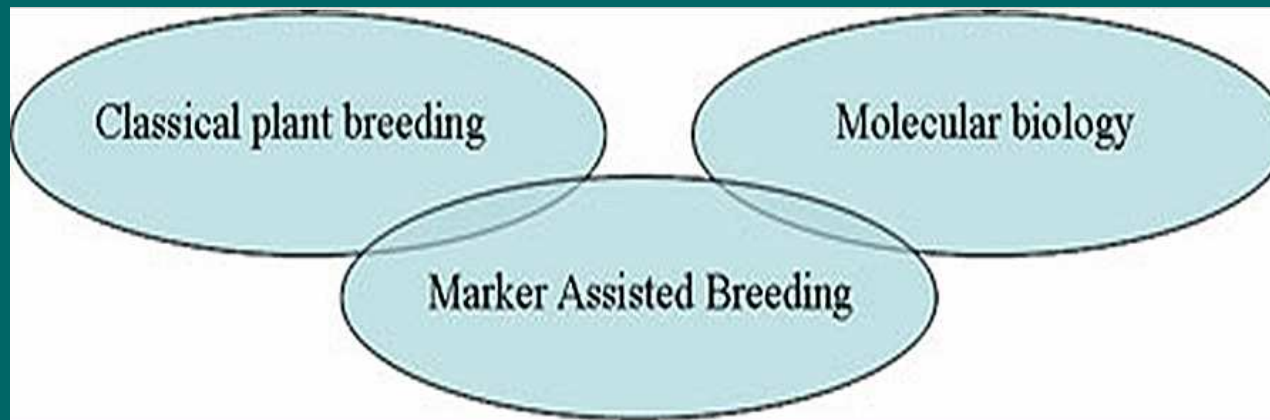
Rozšíření užitečných vlastností introgrese a transgenose



Crop – wild relatives introgression



Marker Assisted Breeding/Selection (MAS)



Laboratorní, skleníkové, polní testování fenotypu

inokulace



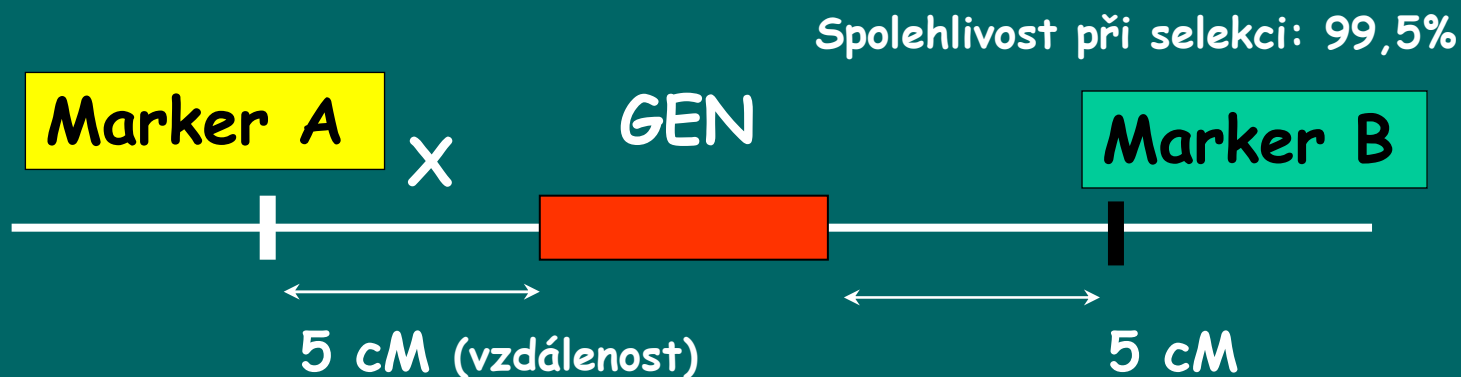
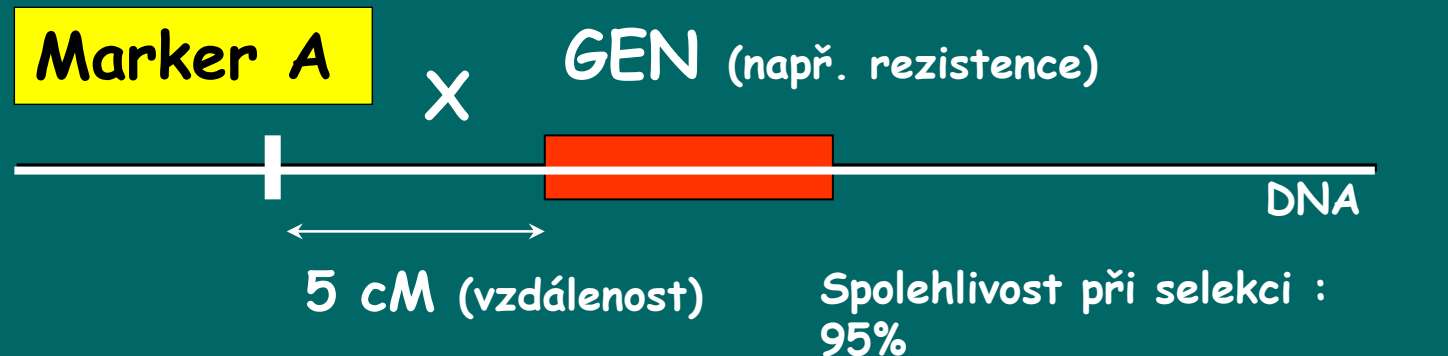
pěstování



hodnocení



Vazba markeru se znakem - nepřímý marker

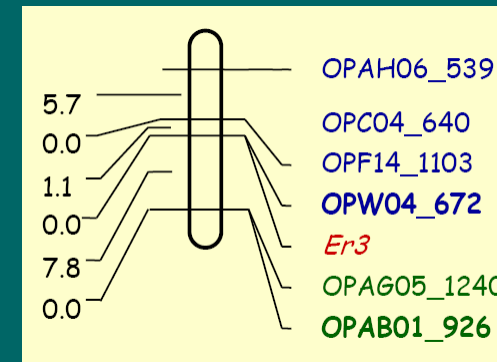
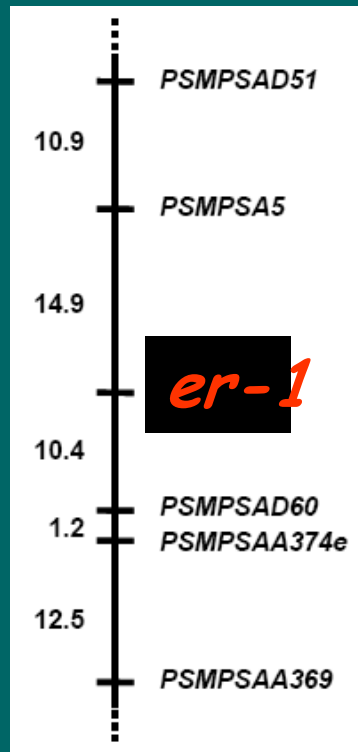


Výsledek selekce s použitím nepřímého markeru

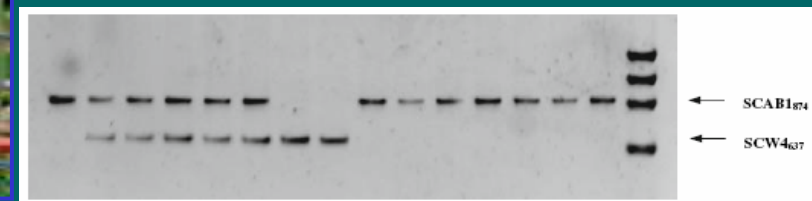
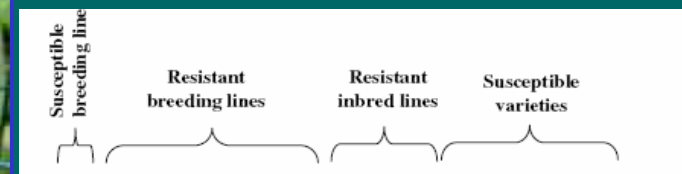


Rezistentní **Náchylná** Rezistentní Rezistentní Rezistentní Rezistentní

Padlí hrachu (*Erysiphe pisi*)



P. fulvum - dominantní *Er-3* ge



Recesivní *er-1* gen

Genově specifický (ideální) marker

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

Gen



DNA

Marker – varianta A



Marker – varianta B



R

R

R

R

R

R

Selekční
spolehlivost

100 %

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

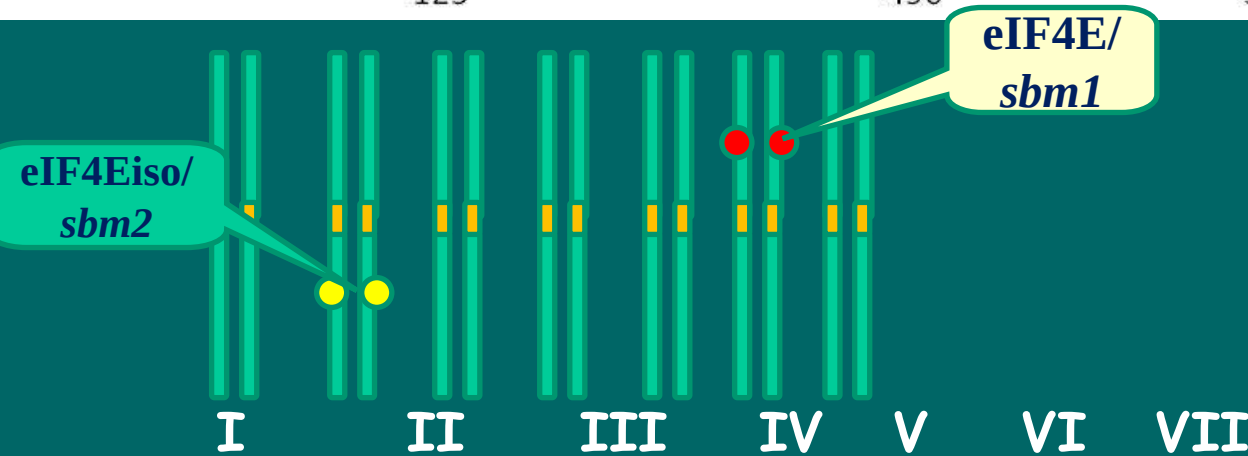
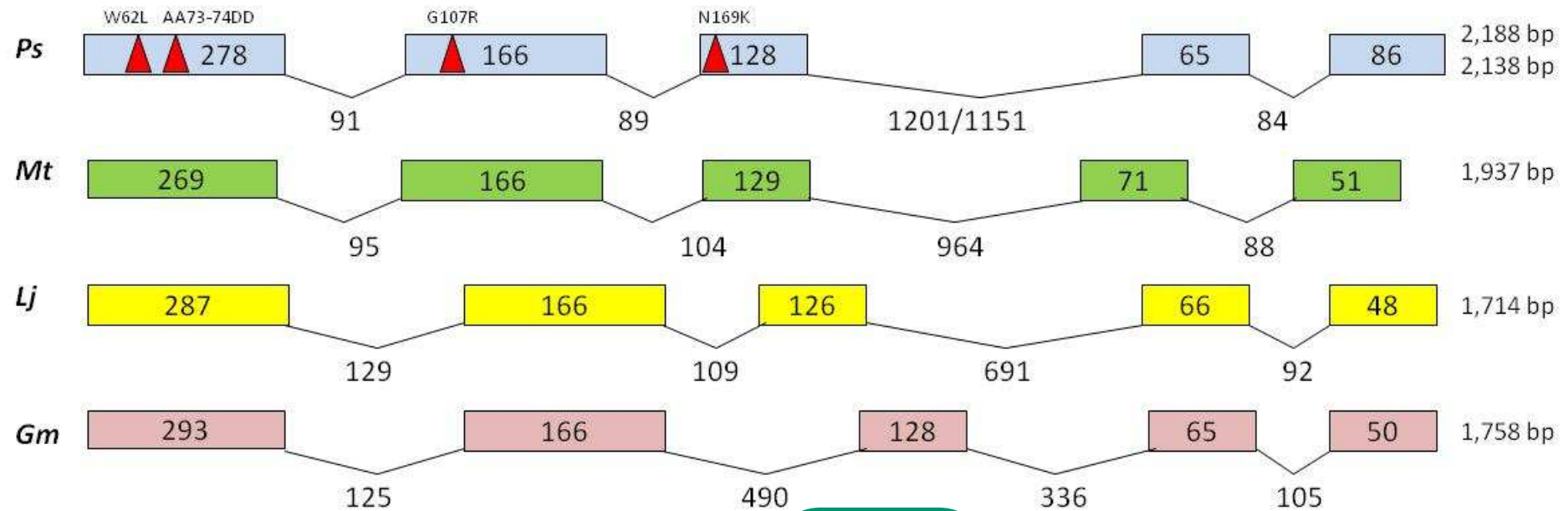


Přenos:

- mšicemi
- **semeny**
- mechanicky



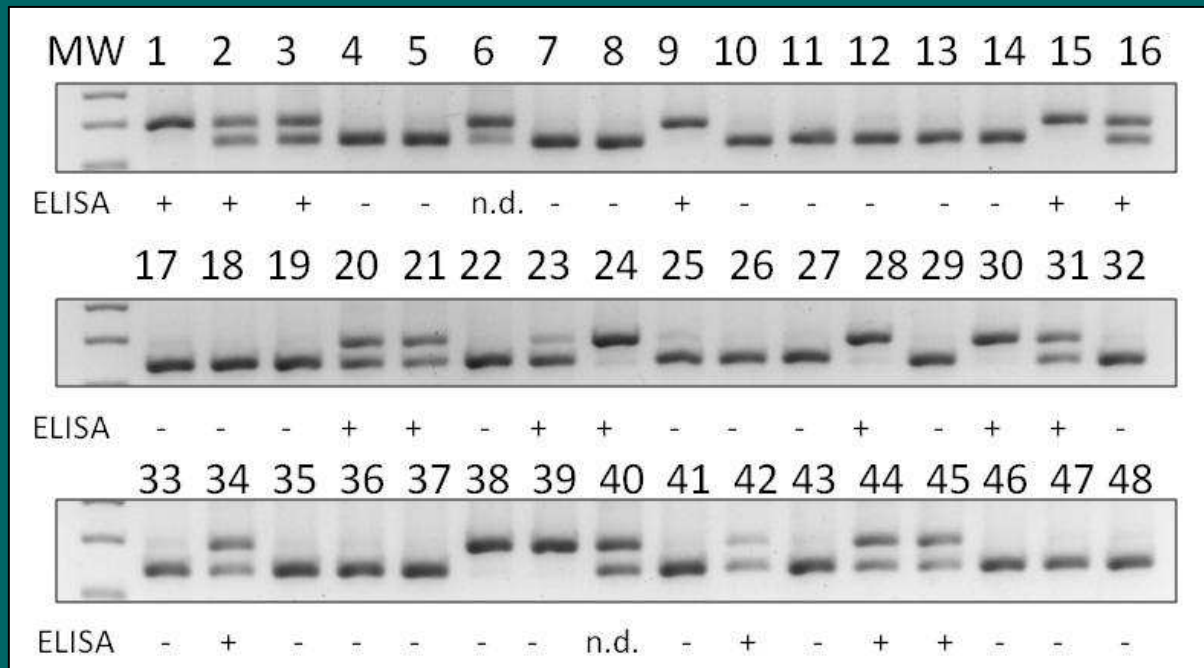
Schéma eIF4E genu vybraných zástupců *Fabaceae*



Smýkal *et al.* 2010

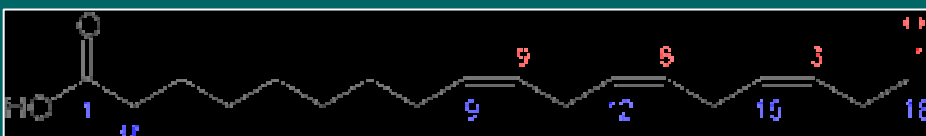
100% spolehlivost DNA analýz versus 75% virologické testování

plus úspora času a materiálu



Len setý (*Linum usitatissimum* L.)

Původně přadná rostlina
ale i 35% oleje v semeni



α-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 TGA GATTACGGGGTCATCAACAA
981/03	250	GACGACCGTCGAT TGA GATTACGGGGTCATCAACAA
962/03	250	GACGACCGTCGAT TGA GATTACGGGGTCATCAACAA

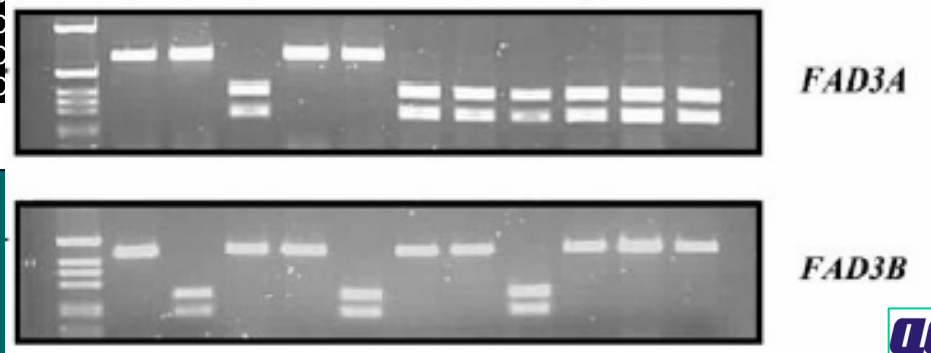
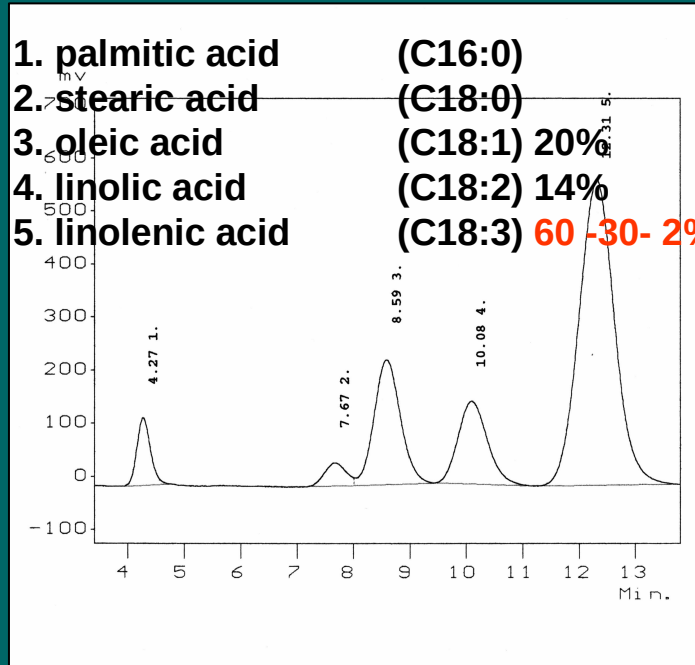
* Stop codon

FAD 3B exon 1

Amon	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
Windemere	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
Jantar	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
Venica-wt	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
Normandy-wt	174	TGGGTGAAGAACCCCTGGAGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
Lola	174	TGGGTGAAGAACCC TGA AGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA
984/05	174	TGGGTGAAGAACCC TGA AGGTCGCTCAGCTACGTCCTGAGA

* Stop codon

1. palmitic acid (C16:0)
2. stearic acid (C18:0)
3. oleic acid (C18:1) 20%
4. linolic acid (C18:2) 14%
5. linolenic acid (C18:3) 60 -30- 2%



PROČ
nám nestačí konvenční šlechtění ?

Klíčovým problémem je
absence vhodných genových zdrojů

Důvody:

- * alternativní zdroje *a priori* neexistují
- * alternativní zdroje jsou vyčerpány
- * alternativní zdroje jsou sexuálně nekřížitelné

GENETICKÉ INŽENÝRSTVÍ

jako naděje i noční můra

