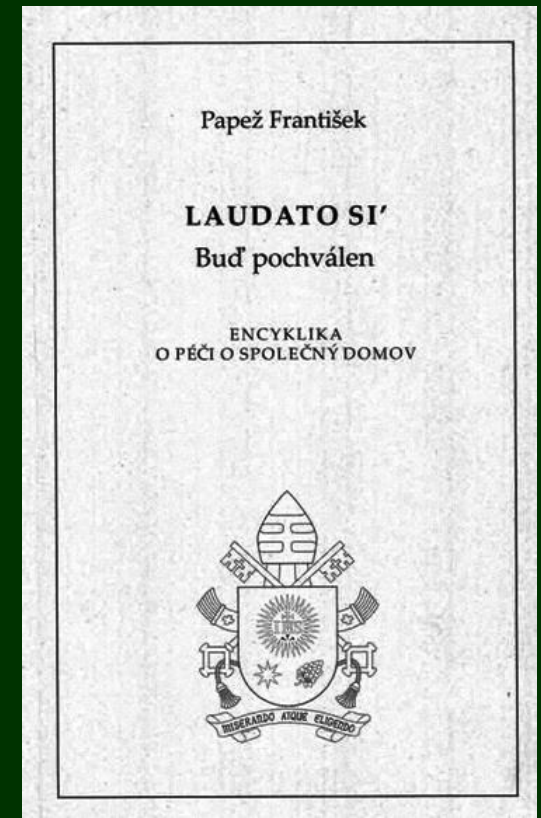
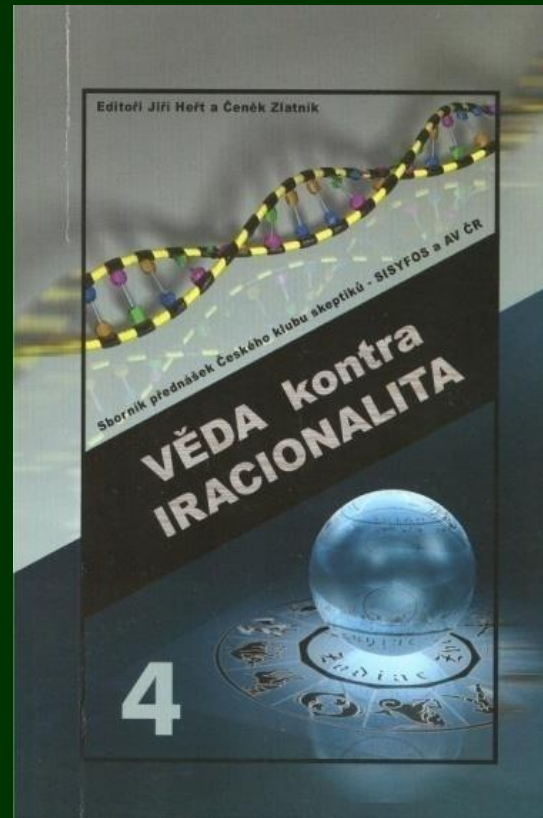
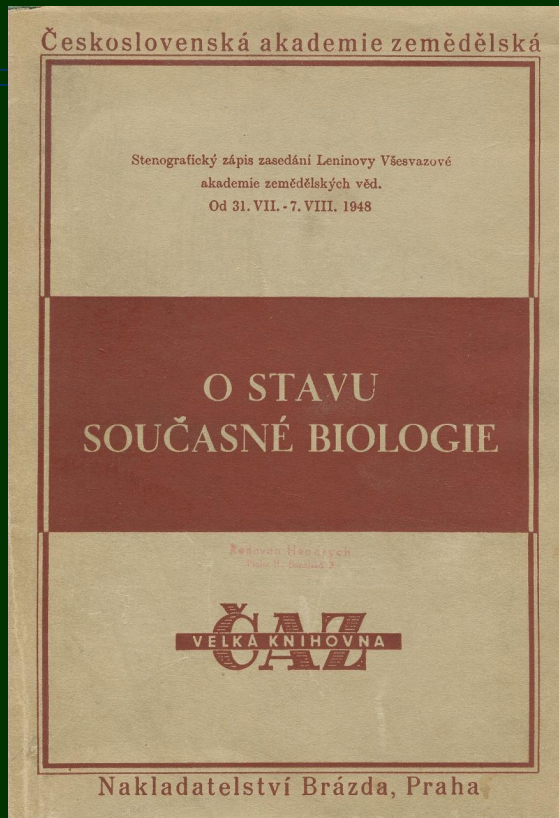


POHLED NA „NOVÉ“ TECHNIKY ŠLECHTĚNÍ



Zdeněk OPATRNÝ

Katedra experimentální biologie rostlin
Přírodovědecká fakulta UK Praha

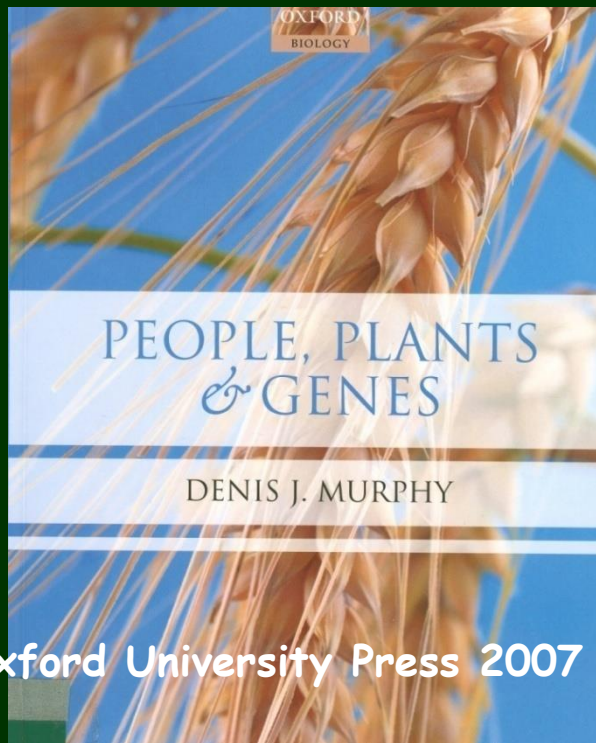
New Breeding Techniques- Hope for Agriculture and Food Chain

Biotrin z.s. - VŠCHT Praha 2018

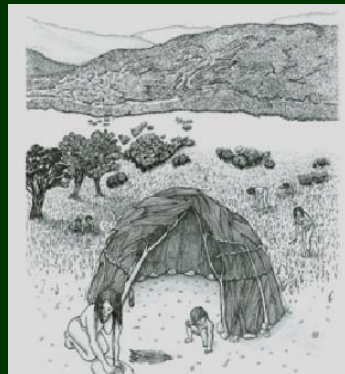
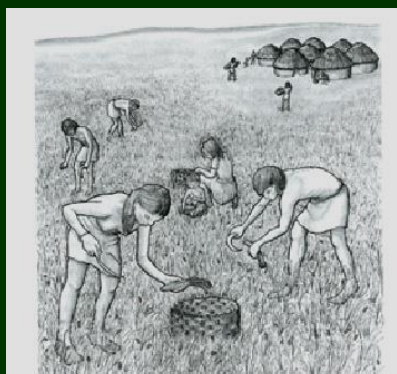
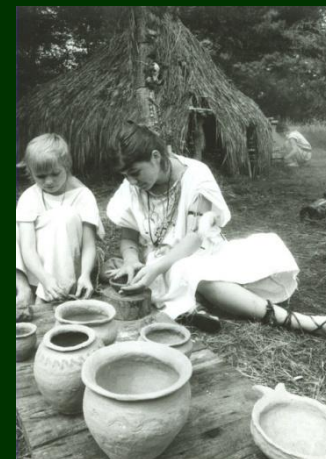
Počátky **šlechtění** rostlin i živočichů
vycházejí z toho, co „napáchala“ sama **příroda**

Člověk vstoupil až cíleným výběrem a množením
spontánně mutovaných či **křížících se** feno/geno typů

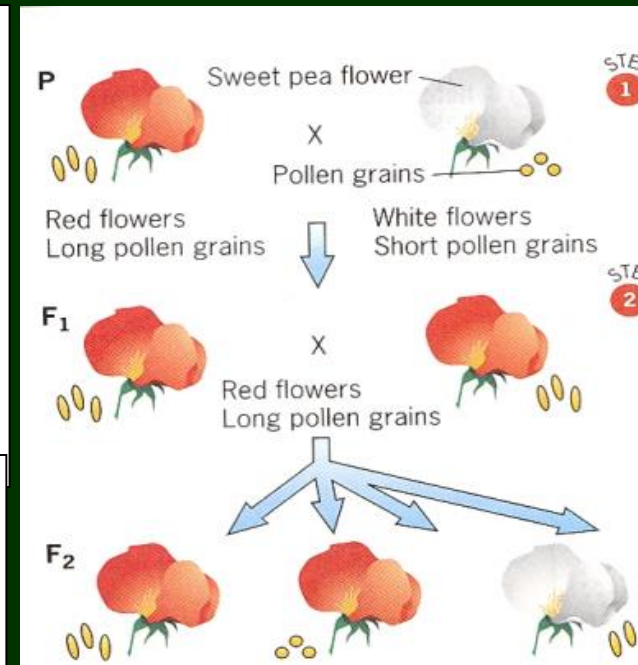
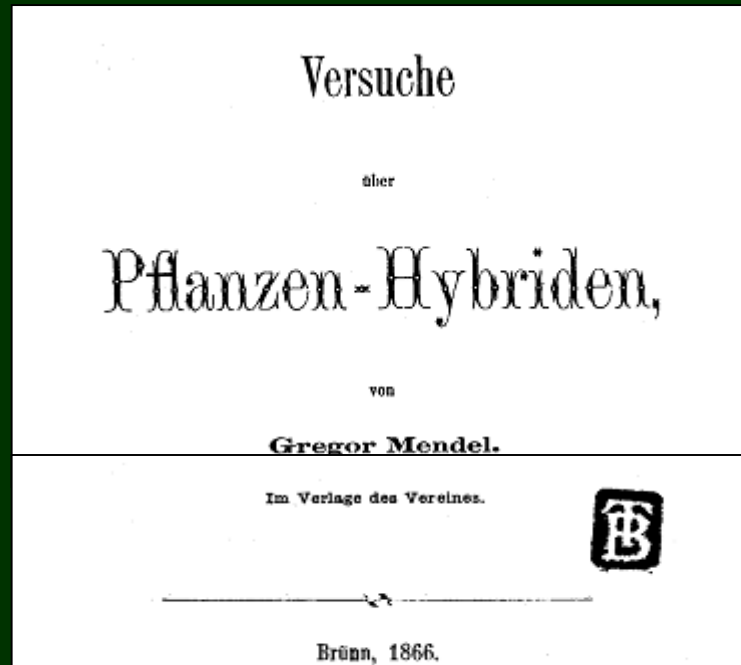
Zemědělství v době bronzové - tutově BIO bez cíleného šlechtění



Mamuti
Oddíl experimentální
archeologie, Praha
1982

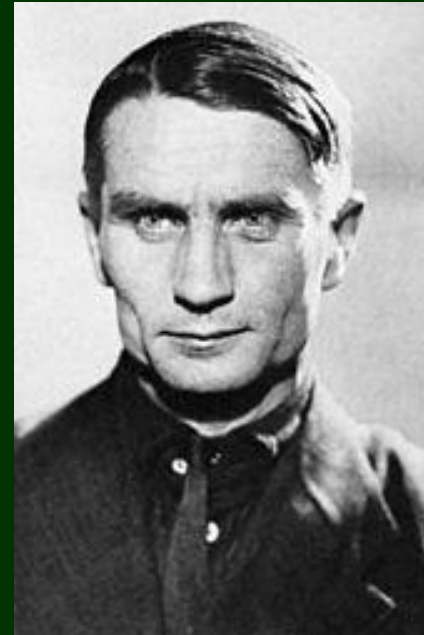
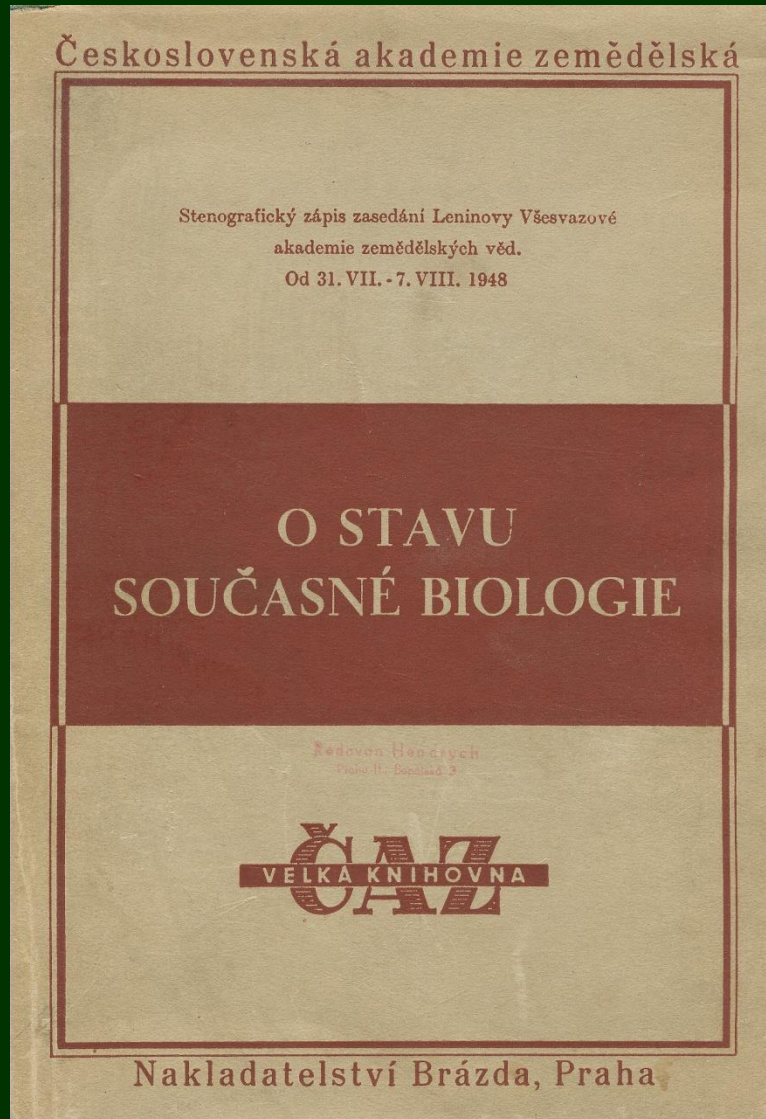


J.G. Mendel a hrách aneb kde v roce 1865 začala genetika



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

Od Ivana Vladimiroviče Mičurina k „lysenkismu“



Trofim
Denisovič
LYSENKO

1898
1976



Chromosomová dědičnost obecně neplatí

Chromosomová teorie dědičnosti uznává možnost získávání kříženců jen pohlavní cestou. Zavrhuje možnost získávání vegetativních kříženců, poněvadž neuznává specifický vliv životních podmínek na podstatu rostlin. I. V. Mičurin nejen že uznával možnost existence vegetativních kříženců, ale vypracoval i metodu mentora. Tento způsob spočívá v tom, že roubováním větví těch nebo oněch starých odrůd ovocných stromů do koruny mladé odrůdy přejdou do mladé odrůdy vlastnosti z naroubovaných *větví staré odrůdy*. Proto byl tento způsob pojmenován I. V. Mičurinem jako mentor, t. j. vychovatel. Jako mentor může být využita i podnož. Touto cestou byla Mičurinem vypěstována nebo zlepšena celá řada nových dobrých odrůd.

I. V. Mičurin a mičurinci vysvětlili, že když se dva různé druhy stromů spojí, potomstvo bude mít vlastnosti obou rodičů.

Roubování jako cesta ke vzniku vegetativních kříženců

Stadiově nezformované organismy, které neproběhly dosud úplným cyklem vývoje, budou při očkování vždy měnit svůj vývoj ve srovnání se semenáči, t. j. rostlinami neroubovanými. Při srůstání rostlin po roubování povstává jednotný organismus různorodé povahy roubu a podnože. Sbírajíce semena z roubu nebo podnože a vysévající je, můžeme obdržet potomstvo rostlin, jejichž jednotliví jedinci budou mít vlastnosti nejen té odrůdy, z jehož plodu jsou vzata semena, ale i z druhé odrůdy, se kterou prvá byla spojena roubováním.

Je jasné, že rouba i podnož nemohly si vyměňovat chromosomy v jádrech svých buněk a přece přecházely dědičné vlastnosti z roubu do podnože a opačně. *Tedy plastické látky produkované podnoží a roubem, stejně tak i chromosomy, jakož i kterákoliv částička živého těla, mají druhové vlastnosti a určitou dědičnost.*

Kterákoliv částička živého těla je nositelem dědičnosti

zřejmý je jak **MITOCHONDRIÁLNÍ** tak **PLASTIDOVÝ** a možná i **TRANSPOSONOVÝ HGT** u **ROUBOVANCŮ**

Science 1 May 2009:
Vol. 324 no. 5927 pp. 649-651
DOI: 10.1126/science.1170397

- Report

Exchange of Genetic Material Between Cells in Plant Tissue Grafts

1. [Sandra Stegemann](#) and
2. [Ralph Bock*](#)

± Author Affiliations

1. *Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Am Mühlenberg 1, D-14476 Potsdam-Golm, Germany.*

AMERICAN JOURNAL OF
Botany

American Journal of Botany 98(8): 1231–1242. 2011.

SPECIAL PAPER

WHAT CAN WE LEARN FROM TOBACCO AND OTHER SOLANACEAE ABOUT HORIZONTAL DNA TRANSFER?¹

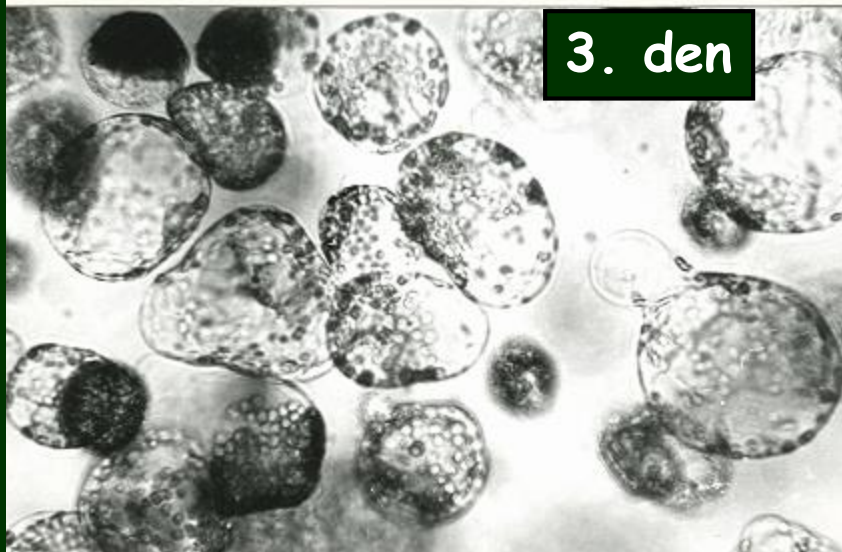
MARTINA TALIANOVA² AND BOHUSLAV JANOUSEK

Department of Plant Developmental Genetics, Institute of Biophysics AS CR, Kralovopolska 135, 612 65, Brno, Czech Republic

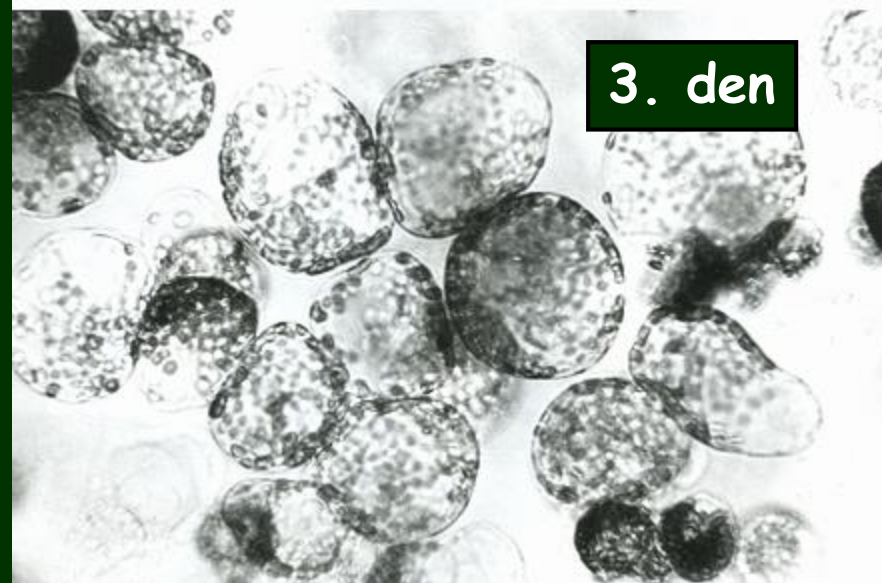
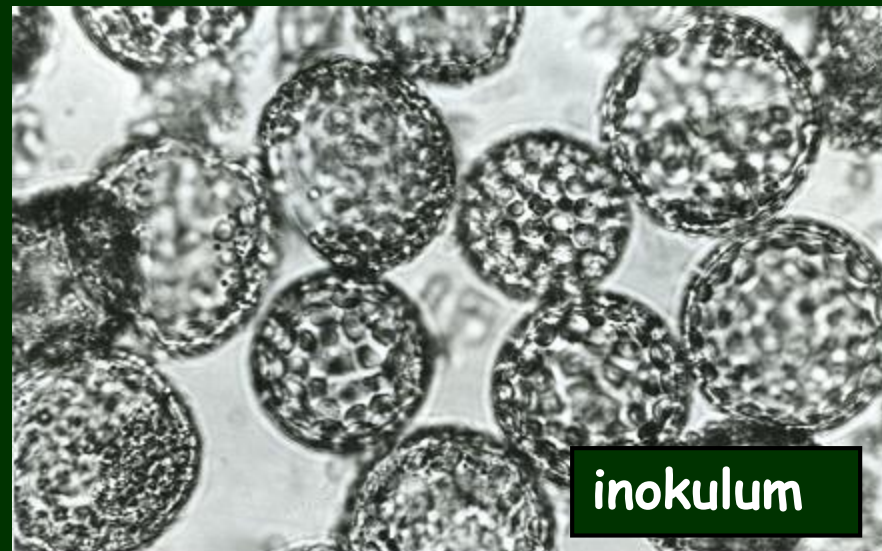
**Somatická hybridizace
nepohlavní křížení**

IN VITRO

Protoplastová kultura česnek



brambor



TOMOFFEL / POMATO, **Melchers** 1982

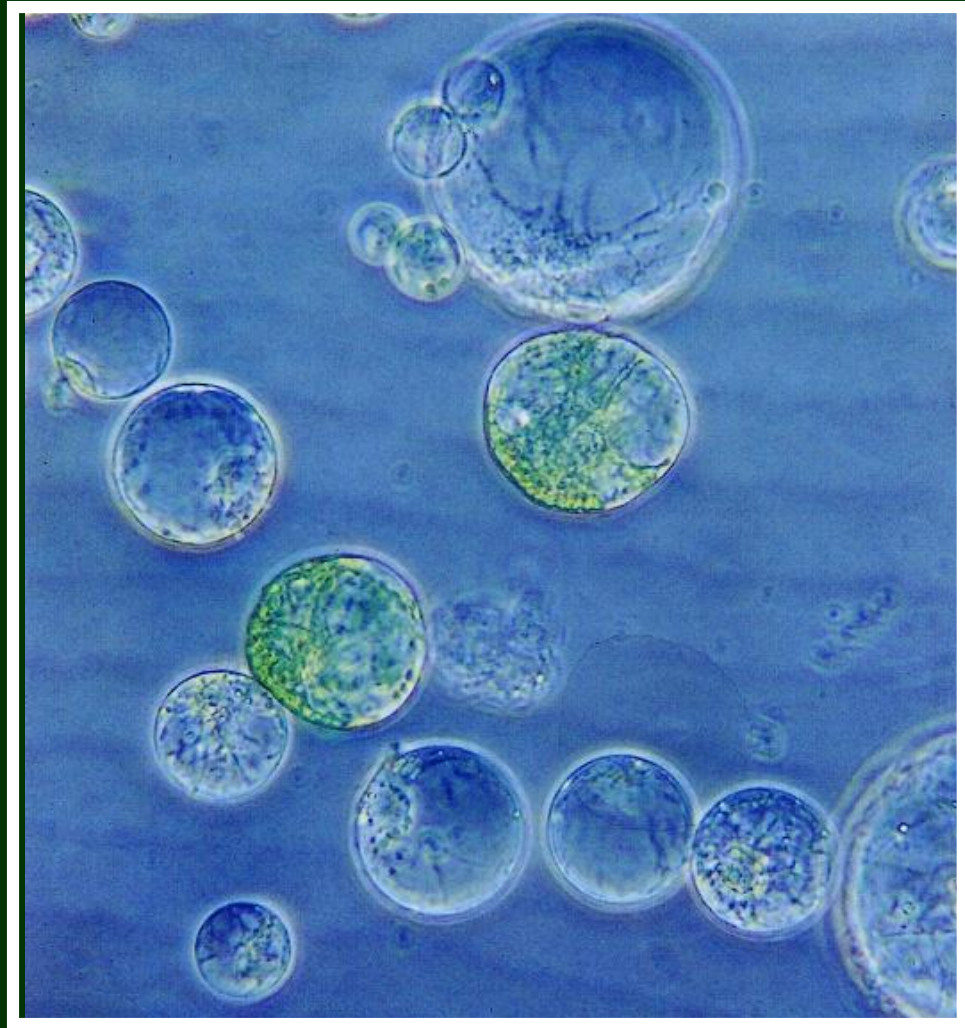


Fig. 29. George Melchers (1906–), with his famous somatic hybrids of potato and tomato obtained by protoplast fusion.

Vznik buněčných cybridů

Protoplast - cytoplasm fuze

Brassica oleracea



GENOVÝ PŘENOS = TRANSGENOZE

představuje alternativu sexuálního genového přenosu

- * přenášen je pouze jeden přesně identifikovaný gen, postupně skupina genů
- * dárce může být jakýkoliv organizmus
- * podstatné zkrácení „selekčního procesu“
používá se i pro přenos genů vzájemně křížitelných organismů
= cisgenoze

produkt genového přenosu se nazývá
Geneticky Modifikovaný Organismus

Jak se vlastně dají rostliny

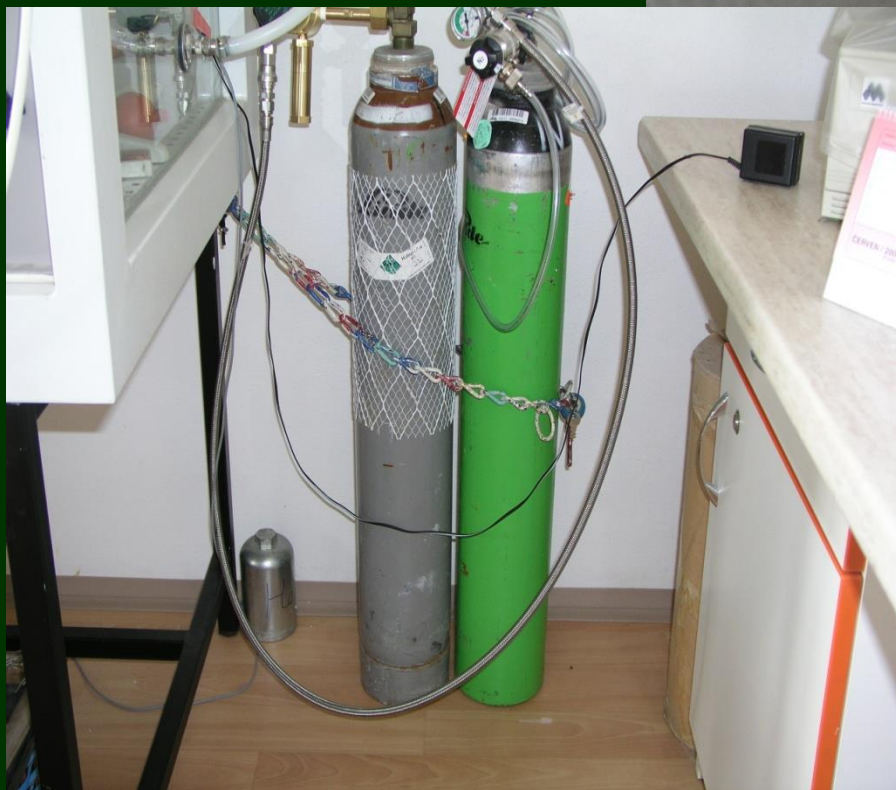
„GENETICKY MODIFIKOVAT„?

Agroinfiltrace

Nicotiana tabacum nebo *benthamiana*



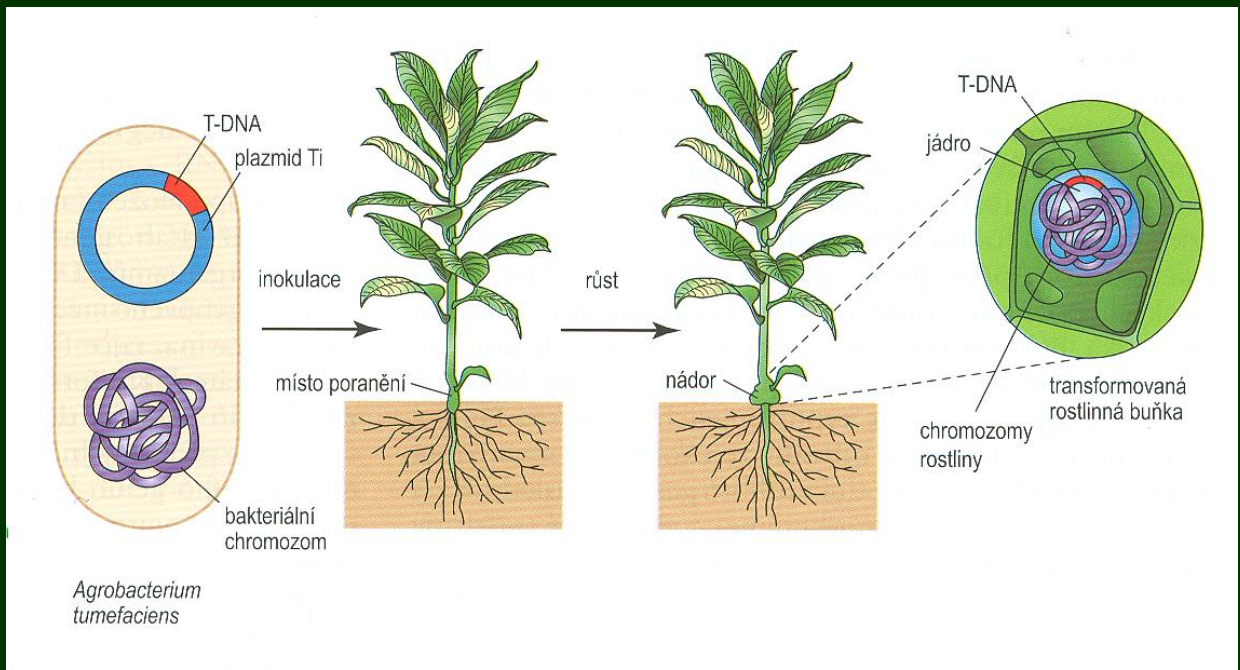
Částicové dělo particle Gun biolistika



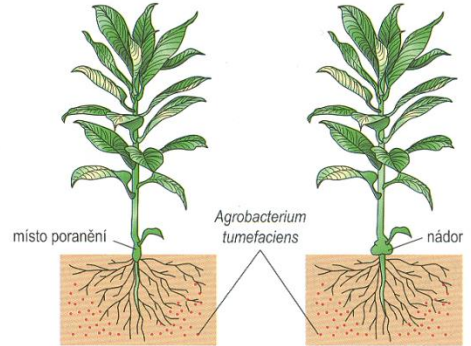
NEJUŽÍVANĚJŠÍ

PŘÍRODNÍ injekční stříkačka

Agrobacterium tumefaciens



tvorba nádoru v místě nad povrchem půdy

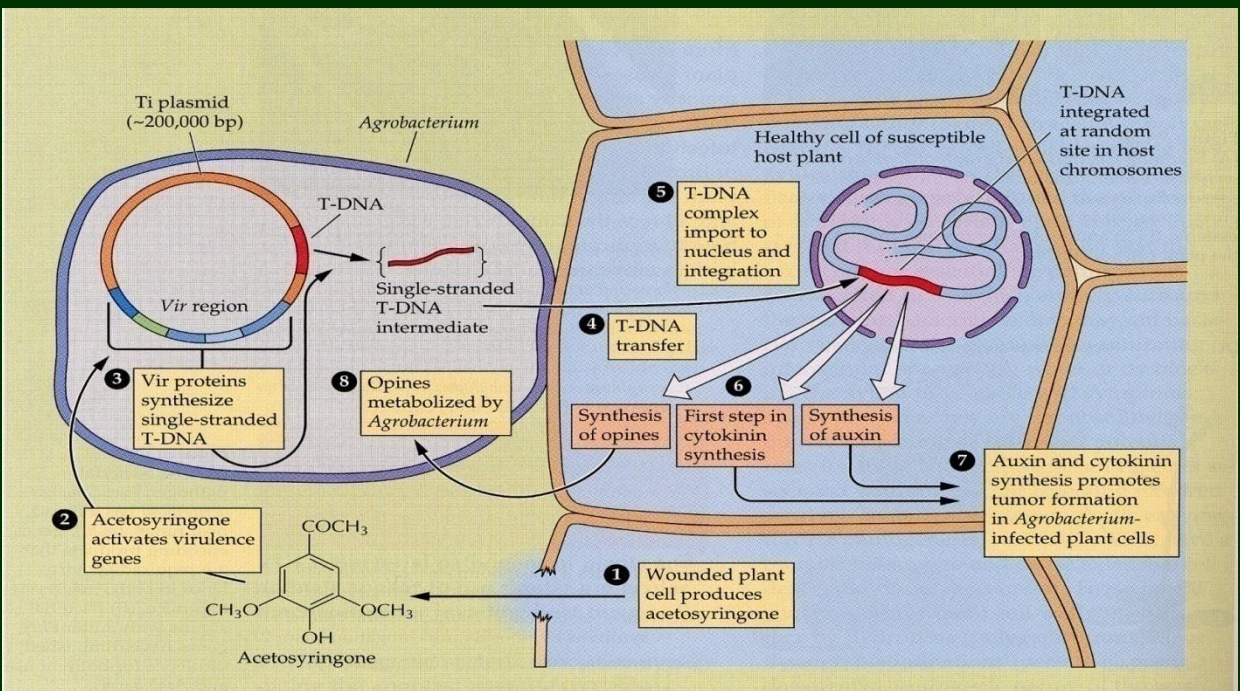


(a)



(b)

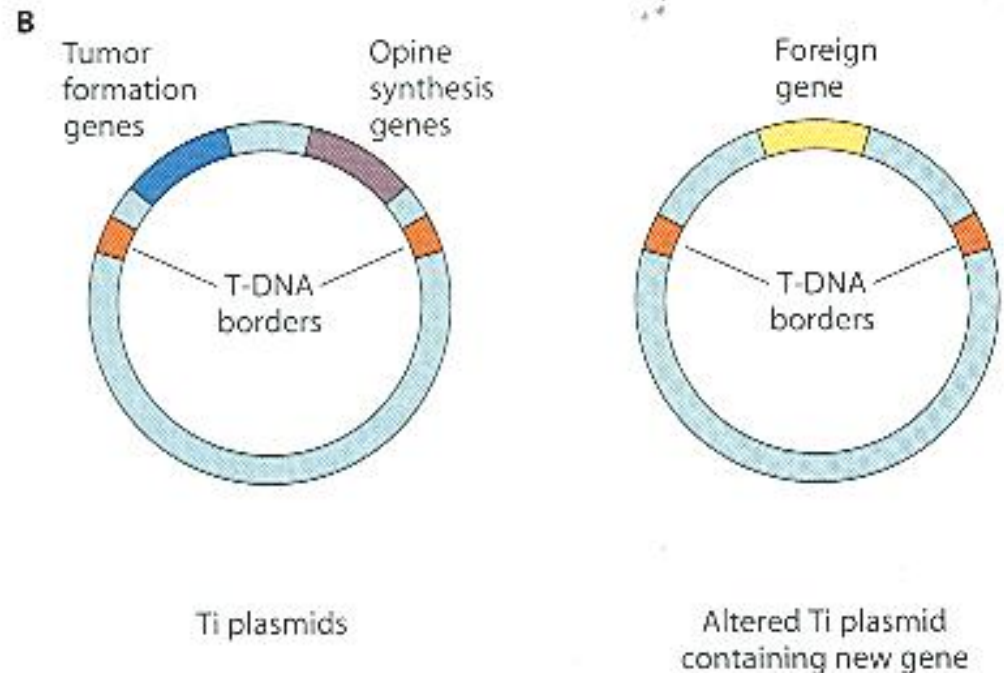
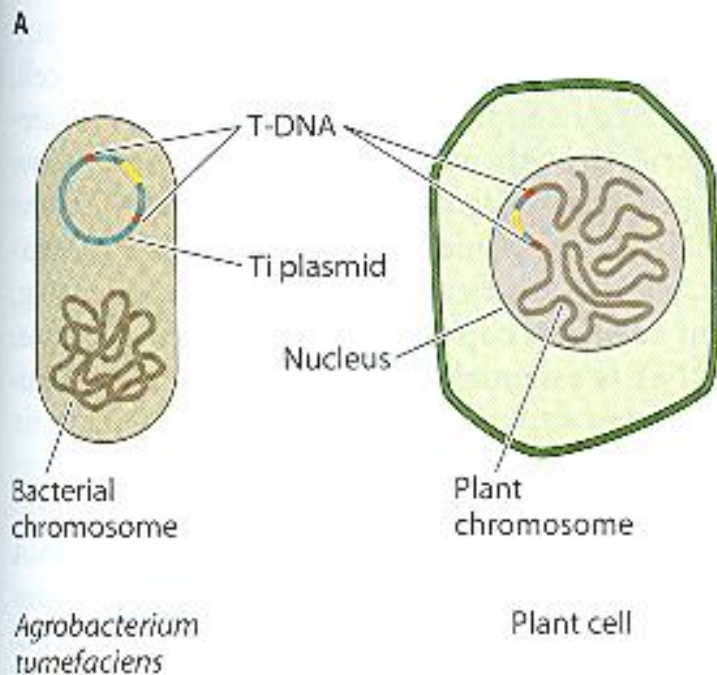
Obr. 17.17 ▶ Vytváření nádorů na rostlinách v místech poranění u (a) rostliny rostoucí v půdě nebo u (b) listu infikovaného bakterií *Agrobacterium tumefaciens*.



JENŽE podstatně VYLEPŠENÁ

„Divoký“ plasmid
tvoří rostlinné nádory

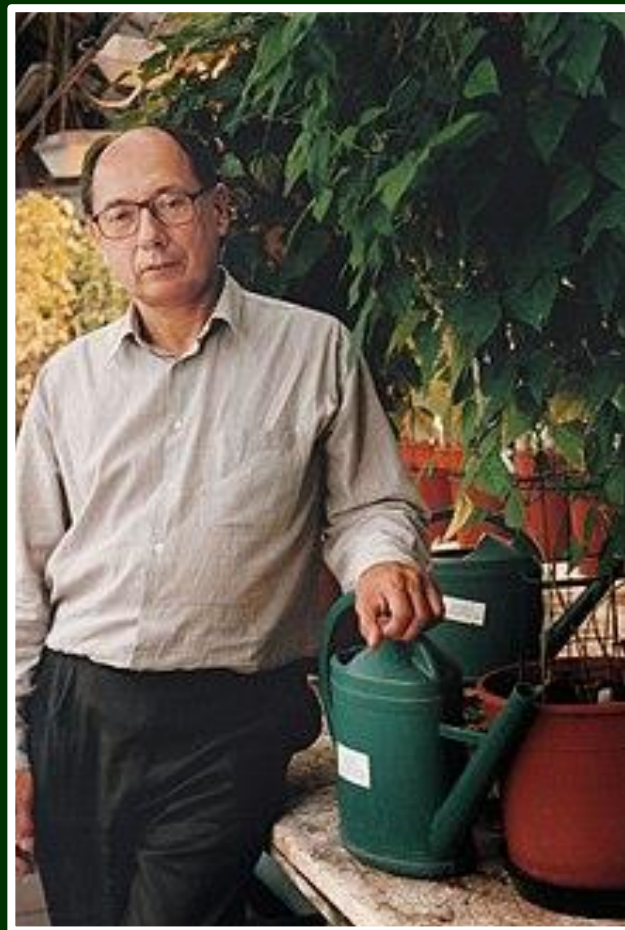
„Odzbrojený plasmid“
převpravník cizích genů
žádné nádory netvoří



Praktické využití

„agrobacterium system“ - od tabáku ke Zlaté rýži

Marc van Montagu 1976



Ingo Potrykus 2000



Praktické využití

GM plodiny

otloukánci v Evropě
ekonomičtí tygři většiny světa

Přístup Evropy přece si sem toho cizáckého MonSatana nepustíme !!

k 29.březnu 2017 povoleno v EU k používání 73 GM plodin, z toho:

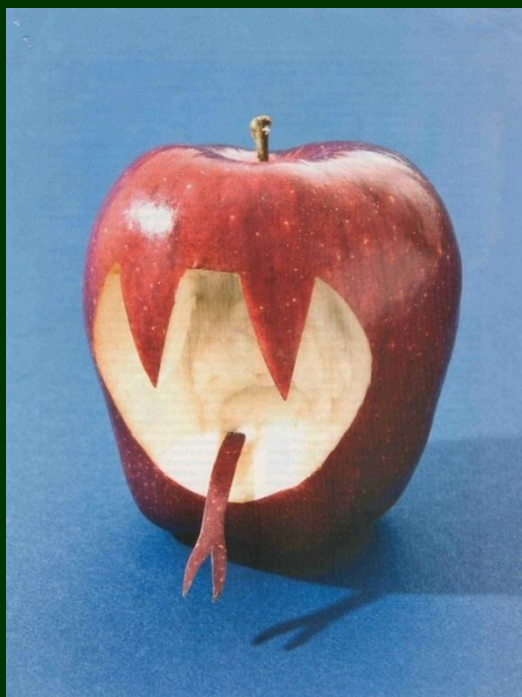
43x kukuřice
15x soja
10x bavlník
4x řepka
1x cukrová řepa

V ČR povoleny k pěstování:

1x BT kukuřice (MON 810)
1x „obalový“ brambor
ale už se tak neděje

na druhé straně:

masivní dovozy GM krmiv, zejména sojové moučky
bez nich by „klekla“ živočišná výroba



(Ing.Petr Beneš, MZe ČR)

GE ... Gene engineering

nebo

GE ... Gene editing ?

Editovat ... měnit nebo upravovat nějaký datový obsah...

viz přednáška

Zdeněk Opatrný - Genová editace u rostlin a naše zdraví
(Sisyfos 17.1.2018)

https://www.youtube.com/watch?v=MetbOnV_j0U

New Breeding Techniques (NBT)



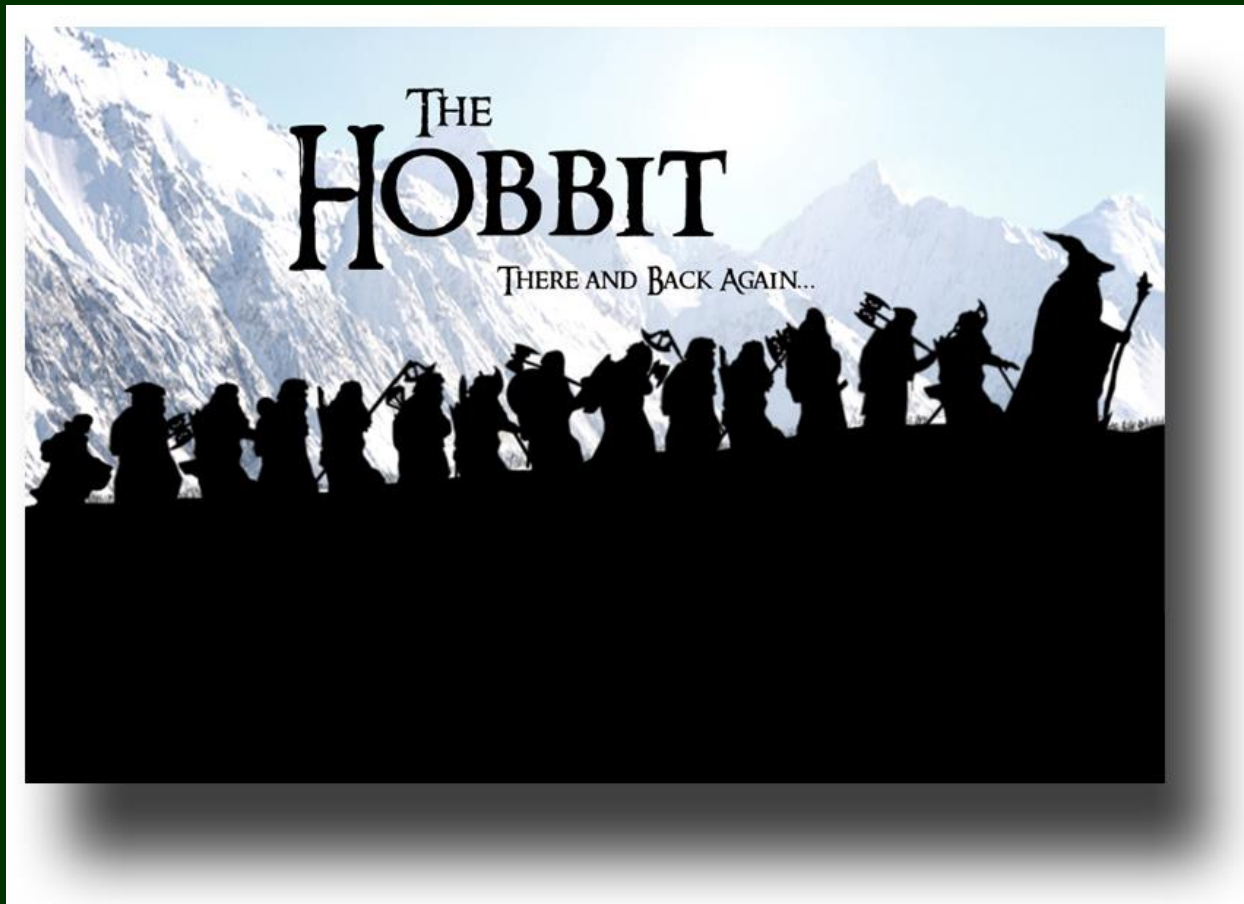
NEW BREEDING
TECHNIQUES FOR PLANTS

A source of innovation for the agrofood chain and beyond

<http://www.nbtplatform.org/documentation>

návrat k **mutagenezi**

zemědělství GENOVĚ EDITAČNÍ



„když mi zakázali nový gen „nepřirozeně vložit“, budu ty existující cíleně mutovat / a následně editovat..“

Mutageneze SPONTÁNNÍ

- * radioaktivita půdy/vody
- * civilizační faktory: nitrososloučeniny
- * emise těžkých kovů

Člověk se přidal **Černobyl 1986:**



za čtyři roky



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

ПОСТЕЛАС КАРТОЧКА
VISITOR'S CARD

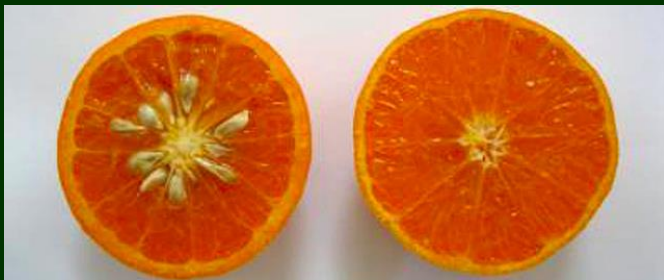
СТРАНА DR. Z. OPATRNY
COUNTRY.....
ГОРОД PRAGUE
CITY.....
ИМЯ CZECHOSLOVAKIA
NAME.....
МЕСТО РАБОТЫ RES. INST. CROP PRODUCTION
ORGANIZATION.....
АДРЕС ОРГАНИЗАЦИИ, ТЕЛЕФОН JANOVSKA 107
ADDRESS OF ORGANIZATION, PHON.....
ПОЛНОСТЬ DEPT. DIRECTOR BIOTECHNOL. CENTER
OCCUPATION.....
ДАТА ПОСЕЩЕНИЯ 12. X.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

plejáda mutací rostlinných i živočišných

Mutageneze ZÁMĚRNÁ / CÍLENÁ cíle nahodilé



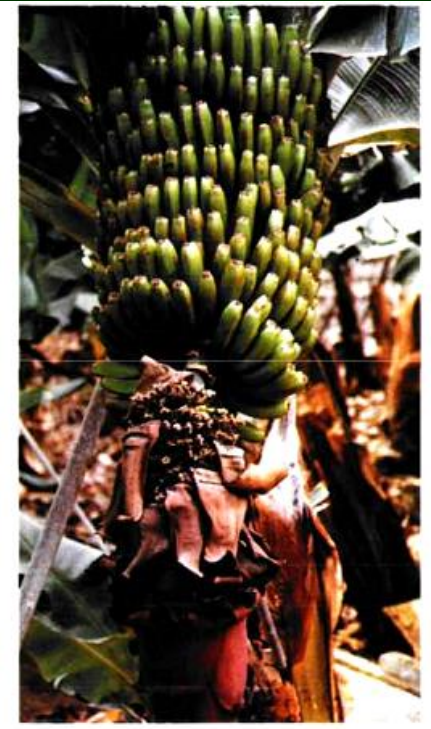
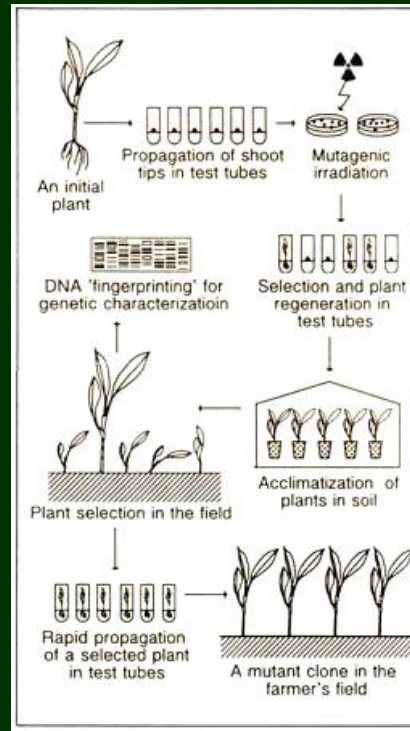
gama pole



BEFORE & AFTER

radiace

- * chemické mutageny
- * transposony
- * T-DNA



cenná zejména pro plodiny, které se množí
JEN SEMENY

Doc. Ing. Josef Bouma, CSc.

famous breeder

Associated Professor
at Mendel University in Brno



1921-2002

1943-1948, Selecta, Plant Breeding Station Větrov

1948-1951, Plant Breeding Station Valtice

1951-1970, Plant Breeding Station Branišovice

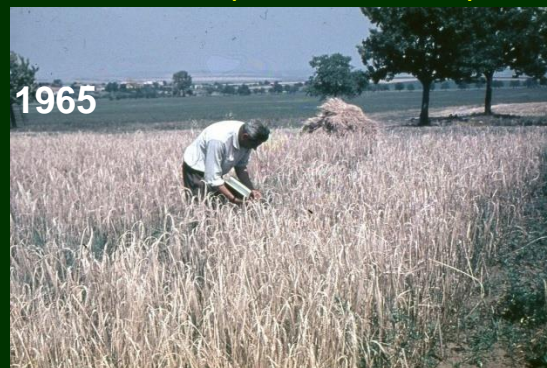
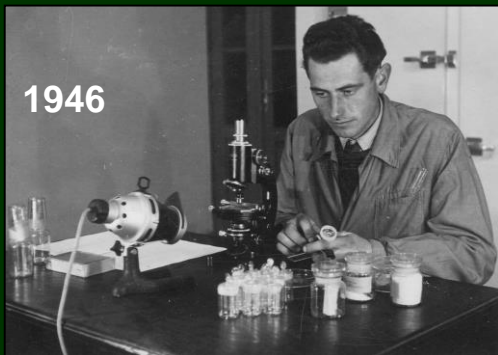
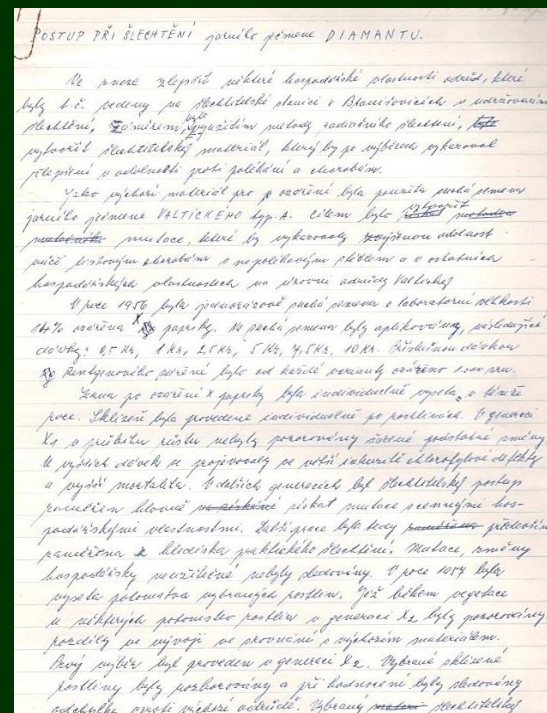
1970-1987, Plant Breeding Station Hrubčice

Author or co-author

* 13 cultivars of spring barley, „Diamant“ (1965-1976)

* 6 cultivars of winter wheat, „Hana“ (1985-2000)

Diamant' breeding, working procedure

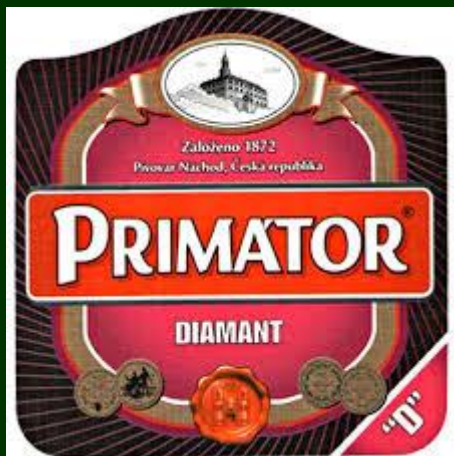


His name is a part of plant breeding history not only in the Czech Republic but also in the world.

laskavě zapůjčeno Ing. Ohnoutkovou - Boumovou

Mutageneze je účinnou šlechtitelskou alternativou
i u těch křížitelných / semenotvorných rostlin

Hanácké mutační DIAMANTY pro světové pivaře



?

MUTAGENESE v nástupu ZELENNÉ REVOLUCE

Norman Borlaug

(1914 - 2009)

méně slámy - více zrna



Čánka žně, Krejzlovi, kolem roku 1915



pšenice Norin 10

mutant v genu pro délku internodia
reduced height(rht)

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

Rýže IR8 (Miracle Rice)

Jak vyřadit či nahradit konkrétní gen?

Genově- inženýrští mágové současnosti využívají mechanismů přirozené genové transkripce či reparace prokaryot (bakterie) či eukaryot (živočichové).

Až na výjimky se v nich neúčastní „cizorodá“ DNA či RNA, **nejde tedy o GM technologie** a nebrání jim stávající anti GM legislativa. Výsledný „produkt“ také nejde detekovat jako „nepřirozený“.

ZINK-FINGER nukleázy (1986) – trojice „zinkových prstů“ cílí nukleázu na určité místo v genomu s asi 40% přesností

TALEN technika – **T**ranscription **A**ctivation **L**ike **E**fektor protein + Fok1
Nukleáza ... až 75% přesnost

CRISPR/cas9 – postup odvozen od funkce prokaryotních imunitních (antivirových) mechanismů s přidavkem nukleázy cas9 ...až 90% účinnost
2012

CRISPR

(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats),

segmenty nahromaděných pravidelně rozmístěných krátkých palindromických repetitiv,

jinak řečeno: úseky prokaryotické DNA obsahující krátké repetice nukleotidů.

Cas

je zkratka pro CRISPR-associated genes (s CRISPRem-sdružené geny).

Byla objevena řada genů, asociovaných s CRISPRovými repetitivami.

<http://vesmir.cz/2015/05/27/crispr-presna-strelba-geneticke-cile/>

Největší událost od J.G.Mendela či Watsona/Crieka ?

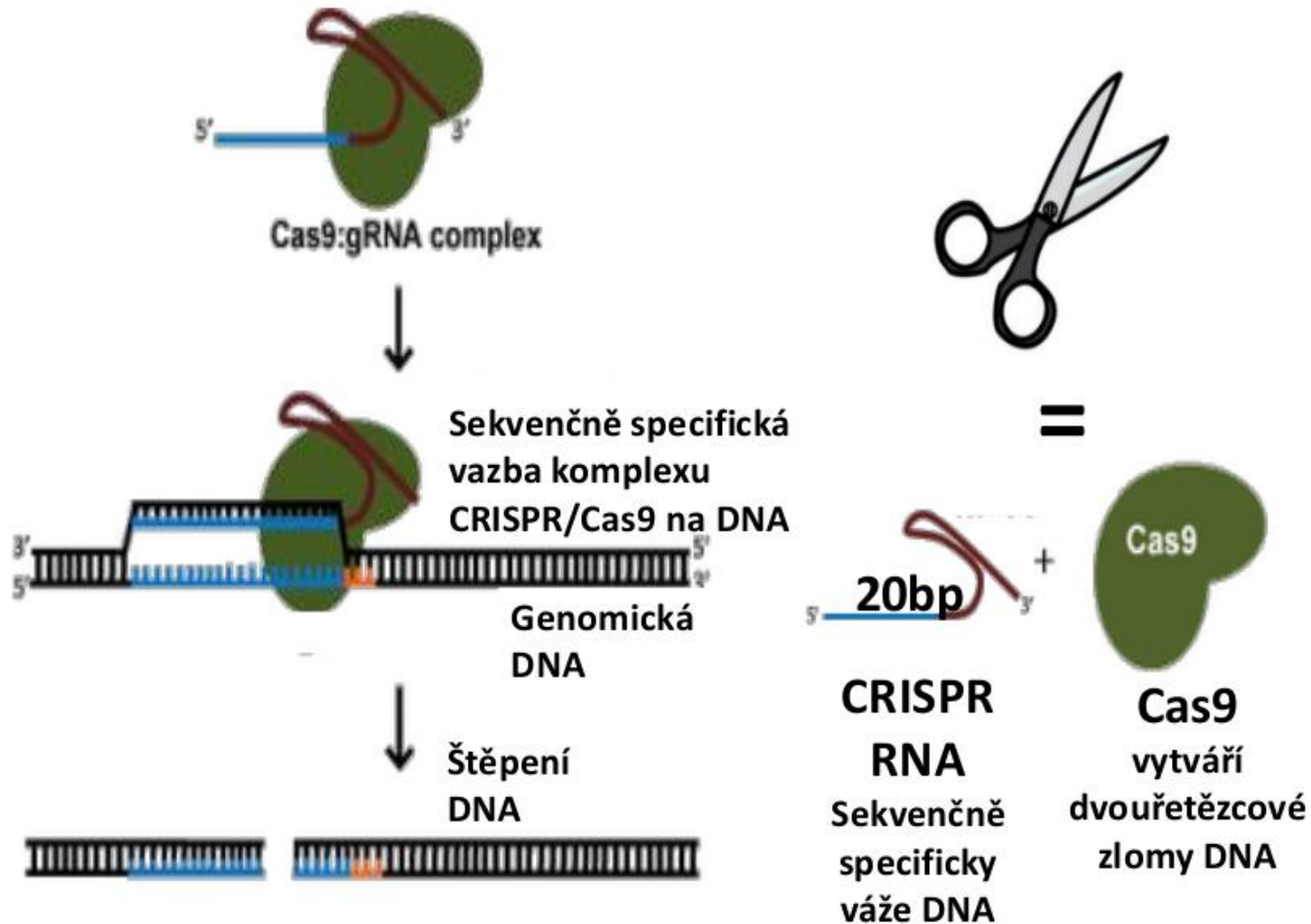
„Enzymatický komplex CRISPR/Cas9 se naváže na vybrané místo v DNA, vystřihne kus sekvence a nahradí ji za jinou.

Pomocí krátkého řetězce „naváděcí“ ribonukleové kyseliny (RNA) přesně vyhledá určené místo v dědičné informaci a „molekulárními nůžkami“ enzymu nukleázy Cas pak „střihne“ do dvojité šroubovice DNA.

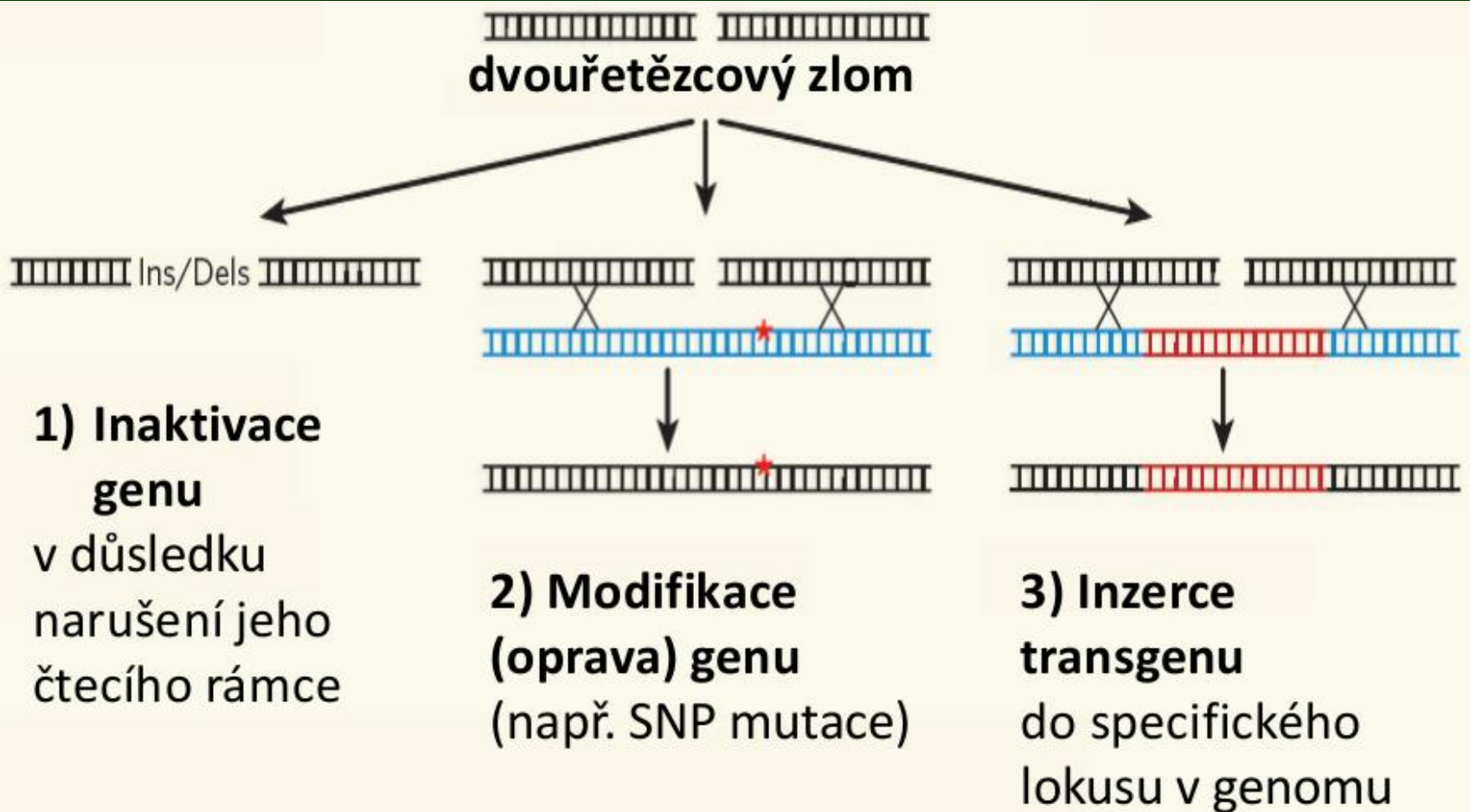
Lze tak:

- * s vysokou účinností narušit zvolené místo v dědičné informaci
- * nebo naopak na určené místo v genomu vnést úsek cizí DNA
- * ale také „brzdit“ nebo „akcelarovat“ jednotlivé geny.“

RNA specifická pro určitou „genovou sekvenci“ přesně navede s ní spojenou nukleázu



Cíleně lze pozměnit i řadu genů současně !!!



přicházejí **Jennifer DOUDNA** a **Emanuelle CHARPENTIER**
a začíná celosvětová „krisprovací tsunami“



Jennifer Doudna

University of California



Emanuelle Charpentier

University of Jena

model **bakteriální/prokaryotní** systémy

(Jinek et al., Science, červen 2012)

A v „doudnovském týmu“ opět Moravák



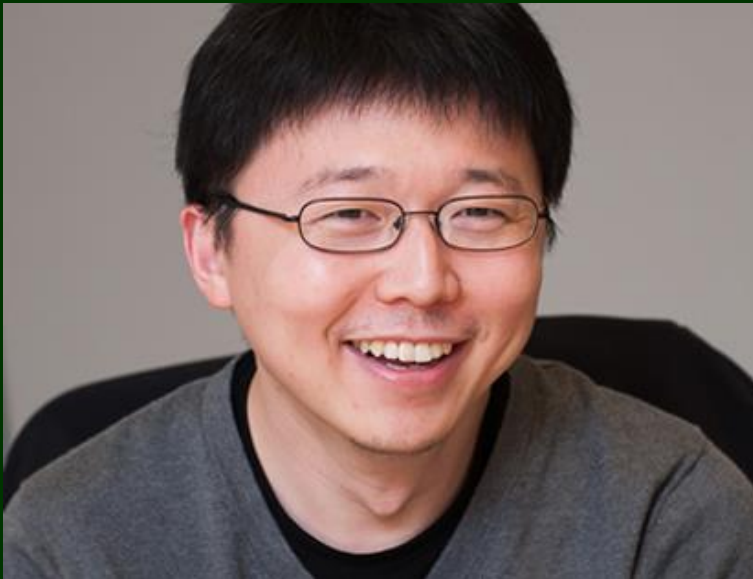
Prof. Martin Jínek ,
biochemik , 1979



Gymnazium Třinec, Oratory School of Reading UK, University of Cambridge,
European Molecular Biology Laboratory Heidelberg, University of California
Berkeley, ETH Zurich

Objevitelských týmů je ale víc - a blíží se bitva o patenty...

Model **prokaryotní / savčí buněčné** systémy



Feng Jang

Broad Institute (Massachusetts Institute of Technology/)

Publikace: Science, Cong et al. 2013 , patent prosinec 2012

<https://www.broadinstitute.org/bios/feng-zhang>

Naděje i rizika pro všechny formy života?

Zásadní přelom ve šlechtění mikroorganismů
živočichů a rostlin ?

Zásadní průlom do léčby dědičných vad
a nemocí ?

Technologie přijatelná i pro odpůrce genových
přenosů, (GM) ?

Jak pro které...

Aféra „URS NIGGLI“ a genový editing /NBT

duben 2016



Urs Niggli

stále ještě ředitel FIBL

doporučil využít „krisprování“
pro cílenou mutagenezi,
zvyšující odolnost kulturních
odrůd k patogenům

„Biošlechtitelé“ jej
ostře zkritizovali za porušení
„biotabu“

Niggli:

... Každá technologie má určitá rizika, je třeba je posuzovat individuálně.

CRISPR/Cas metoda má vysoký potenciál:

Můžeme tak vypnout geny náchylnosti k onemocnění, zpět zavádět geny resistance z divokých příbuzných rostlin, které byly do značné míry ztraceny během šlechtění na výnos nebo kvalitu v posledních stu letech. Mohly bychom tak skutečně ušetřit pesticidy ve velkém měřítku

Ekologičtí šlechtitelé:

Správní rada by mu měla dát náhubek

<http://bio-markt.info/kurzmeldungen/urs-niggli-aeussert-sich-abwaegend-zu-crispr-cas-bio-zuechter-schlagen-alarm.html>

http://neviditelnypes.lidovky.cz/veda-bionahubek-se-tentokrat-nepovedl-dxk-/p_veda.aspx?c=A170112_221415_p_veda_wag

BOUMA ANO

Evropský soudní dvůr
GE prozatím zakázal

DOUDNA NE

Gamanůž zakázán z důvodu předběžné opatrnosti



Press and Information

Court of Justice of the European Union
PRESS RELEASE No 111/18
Luxembourg, 25 July 2018

Judgment in Case C-528/16
Confédération paysanne and Others v Premier ministre and Ministre de
l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt

Organisms obtained by mutagenesis are GMOs and are, in principle, subject to the obligations laid down by the GMO Directive

However, organisms obtained by mutagenesis techniques which have conventionally been used in a number of applications and have a long safety record are exempt from those obligations, on the understanding that the Member States are free to subject them, in compliance with EU law, to the obligations laid down by the directive or to other obligations

Fide, sed cui fidas, vide ...

Příběh pšenice

Prof. Jaroslav Doležel
ÚEB AV ČR Centrum Haná Olomouc

Češi „klíčem“ k poznání pšenice

Wheat Initiative

- Vědci sdruženi v Mezinárodním konsorciu pro sekvenování genomu pšenice (IWGSC) poplátl strukturu dedičné informace plodiny důležitě pro výživu lidstva. Tročet se jí skládá asi 700 milionů tun.
- Genetický plán se podařilo odhalit díky tzv. chromozomové strategii českých vědců, vyniklé týmem profesora Jaroslava Doležela.
- Dnešní vydání časopisu *Science* přináší hned čtyři články, které jsou základem pro poznání pšenice a její budoucí šlechtění. Šlechtitelé by mohli vypěstovat i odolnější odrůdy s vyššími výnosy.
- Pšenice (druhy triticum) má dědičnou informaci asi šestkrát větší než člověk, protože vznikla jako hybrid tří pláň rostoucích trav. Genetici si s tím dlouho neuměli poradit.
- Protože má pšenice vysokou výživnou hodnotu, jde o důležitý zdroj proteinů. V Evropě je základní surovinou výroby pečiva a těstovin. Průmyslově se využívá k výrobě škrobu, líhu či piva.

Prof. Jaroslav Doležel (59)

- Působí v Ústavu experimentální botaniky Akademie věd ČR.
- Je vědeckým ředitelem Centra regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum v Olomouci.
- Zabývá se strukturou a evolucí genomu rostlin a aplikacemi takzvané průtokové cytometrie.
- Koordinuje mezinárodní výzkum pšenice – nejen v konsorciu IWGSC.
- Publikoval přes 200 článků s téměř 6000 citacemi ve vědeckých časopisech. Zdroj: Scopus, LN

Analýza pšeničných chromozomů

http://neviditelnypes.lidovky.cz/veda-britska-superpšenice-a-hanacky-saturnin-fnv-/p_veda.aspx?c=A130531_225516_p_veda_wag

2014

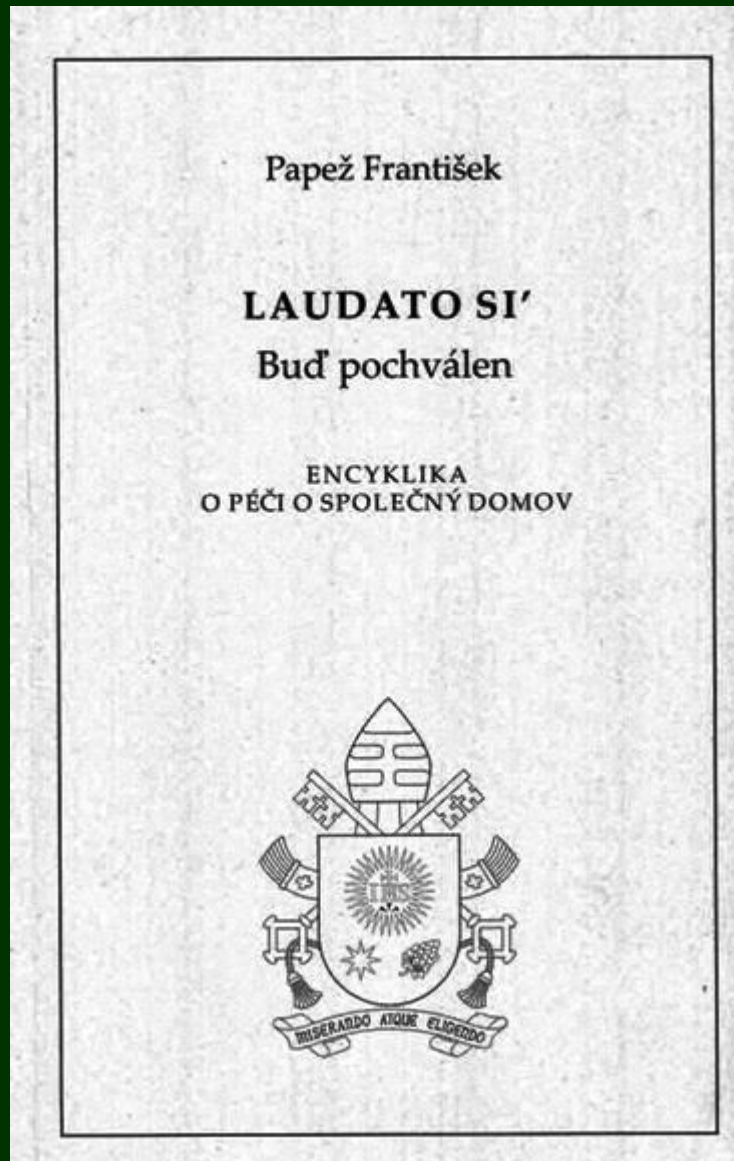
<http://www.ceskatelevize.cz/porady/10441294653-hyde-park-civilizace/216411058090924/>

2017

Encyklika papeže Františka

Obdělávat a chránit
Zahradu Světa
i s pomocí
molekulární
biologie a
genetiky

Není možné
brzdit lidskou
tvořivost.
Nelze však
nebrat v úvahu
cíle, následky,
kontext a
etické meze

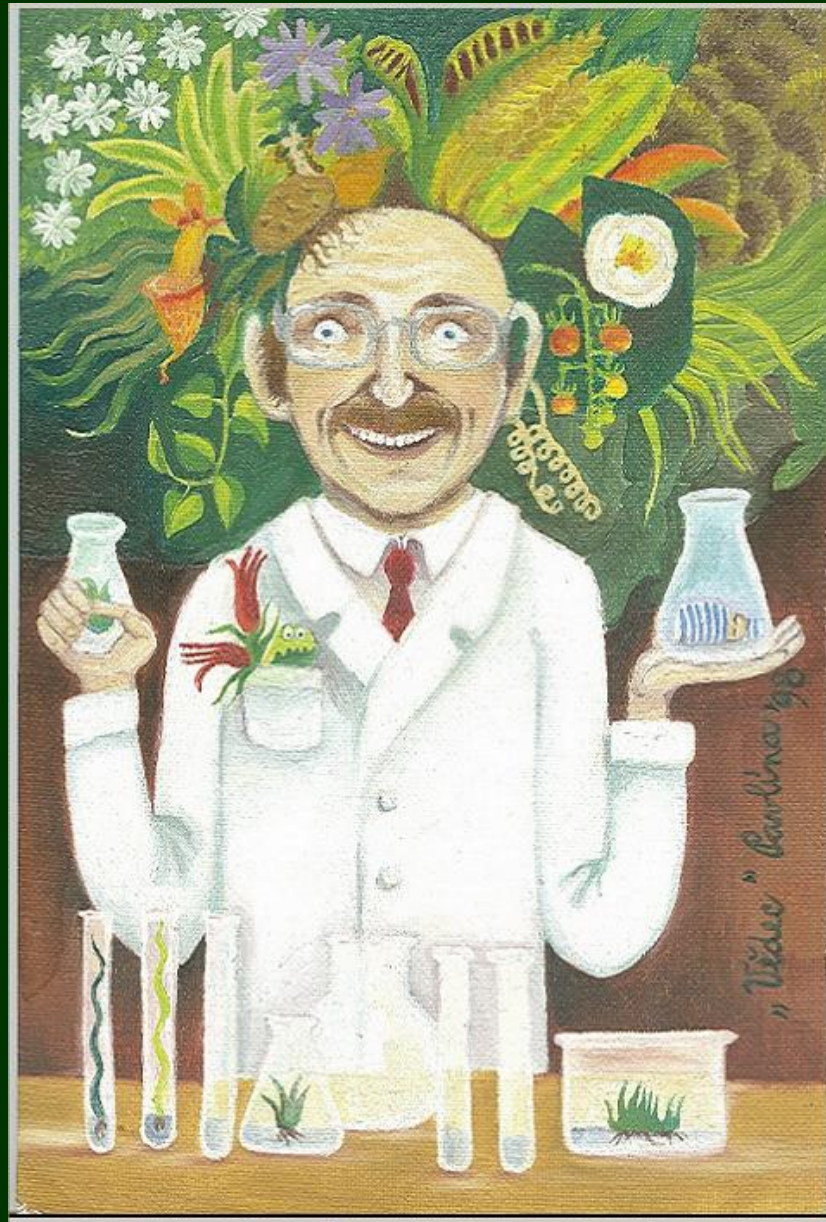


Je těžké vynést
obecný soud nad GMO,
protože se mezi sebou
velmi liší a vyžadují
specifické přístupy.
Je třeba nepřisovat
rizika samotné technice
a **zajistit vědeckou a**
společenskou debatu,
která bude natolik
odpovědná a všestranná
aby dokázala posoudit
veškeré dostupné
informace a
nazývat věci
pravými jmény...

24. května 2015

takže ANO či NE ???

Fide, sed
cui fidas,
vide ...



Věř, ale
komu věřit,
měř ...

Děkuji za pozvání a pozornost

