

Bi8670 Principy rostlinných biotechnologií

Úvod a historie

Hana Cempírková, Ph.D.

cempirkova@sci.muni.cz

Jarní semestr 2022

Rostlinné biotechnologie

- **Definition of Plant Biotechnology:**

<http://www.agriinfo.in/default.aspx?page=topic&superid=3&topicid=1876>

- 1. Biotechnology is the application of biological organisms, system or processes to manufacturing and service industries.
- 2. Biotechnology is the integrated use of biochemistry, microbiology and engineering science in order to achieve technological application of the capabilities of micro-organism, cultured tissue cells and part thereof.
- 3. Biotechnology is “a technology using biological phenomenon for copying and manufacturing various kinds of useful substances.”
- 4. Biotechnology is “the controlled use of biological agents such as micro-organisms or cellular components for beneficial use. (U.S National Science Foundation)

Biotechnologie v širším pojetí

Nové biotechnologie mohou být klasifikovány do 4 širších kategorií:

1. Techniky pro **buněčné a tkáňové kultury** významné pro zemědělství.
2. Technologický vývoj spojený s **fermentačními procesy**, obzvláště v chemickém sektoru včetně tzv. **technik imobilizace enzymů**. Význam pro různá odvětví, např. produkce enzymů a aminokyselin.
3. Techniky, které aplikují **mikrobiologii** pro sledování, výběr a kultivaci buněk a mikroorganismů.
4. Techniky pro **manipulaci a přenos genetického materiálu**.

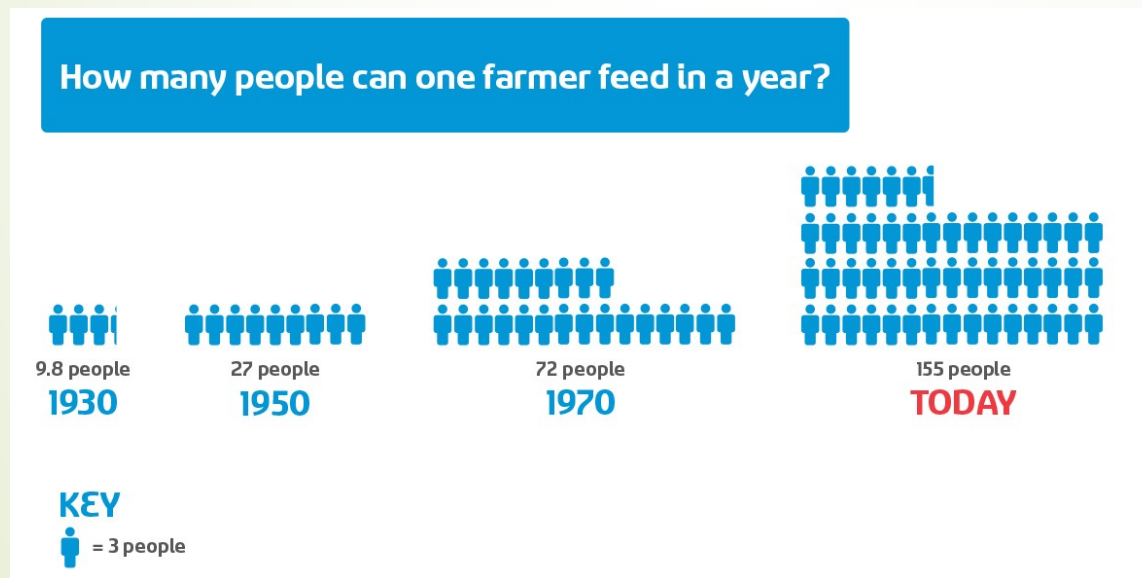


Vztah k dalším vědním disciplínám

- Tkáňové kultury
- Genetika a molekulární biologie (extrakce DNA, PCR, sekvenace...)
- Hybridizace a monoklonální protilátky (ELISA)
- Medicína (vakcíny)
- Proteinové inženýrství
- Zemědělství (nové odrůdy s různou odolností, vyšším výnosem...)
- Životní prostředí (remediace, konzervace diverzity druhů...)

Moderní rostlinné biotechnologie a lidé

- Nyní na Zemi asi 7,5 miliardy lidí, v roce 2050 bude více než 9 miliard
- Bude třeba zvýšit produkci potravin o více než 60%



<http://www.glassbarn.org/indiana-farming/technology>



Moderní rostlinné biotechnologie

- Zemědělství, potravinářský a farmaceutický průmysl
- Geneticky modifikované organismy (GMO)
- Molekulární „farming“
- Trvale udržitelné zemědělské strategie
- Produkce plodin pro zelenou energii
- Vývoj biologicky kontrolovaných strategií pro náhradu nebo omezení použití toxických pesticidů
- Vývoj systémů podporujících život ve vesmíru
- Vývoj rostlinných produktů pro využití v medicíně

(Kirakosyan et al., 2009)

Barevné označení biotechnologií

podle Electronic Journal of Biotechnology – 2005

- **Červené:** lékařské aplikace, včetně diagnostiky
- **Zelené:** zemědělství, životní prostředí, geomikrobiologie
- **Bílé:** průmyslové (založené na genovém inženýrství)
- **Šedivé:** klasické fermentace a bioprocessy
- **Modré:** akvakultury, oceány a pobřeží
- **Žluté:** potravinářské technologie a výživa
- **Zlaté:** bioinformatika a nanobiotechnologie
- **Fialové:** patenty, vynálezy, publikace
- **Hnědé:** biotechnologie pouští a vyprahlých území
- **Tmavé:** bioterorismus, biologické zbraně

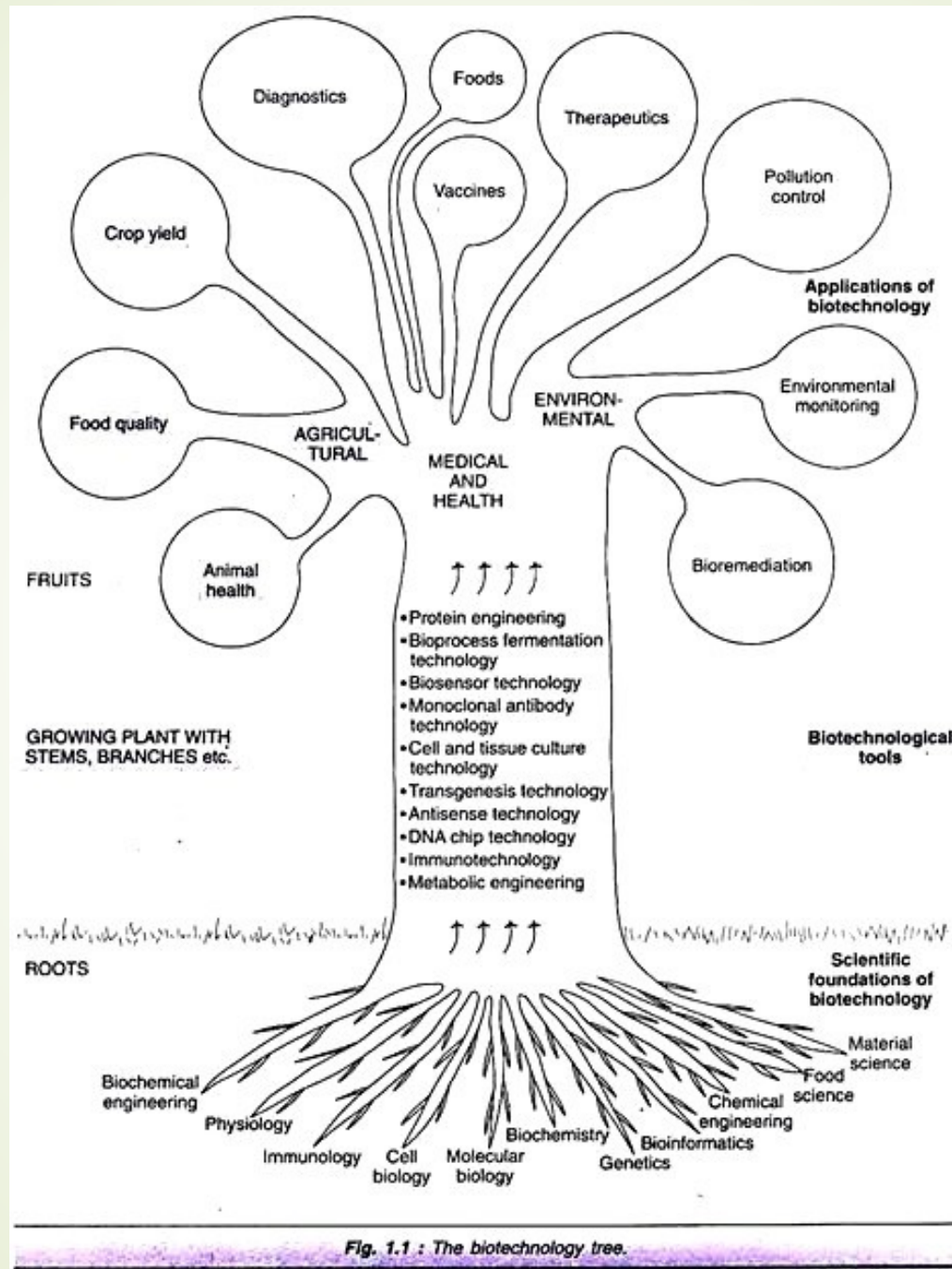


Fig. 1.1 : The biotechnology tree.

<http://www.biologydiscussion.com/biotechnology/things-to-know/biotechnology-10-things-to-know-about-biotechnology/9625>

GLOBAL STATUS OF COMMERCIALIZED BIOTECH/GM CROPS IN 2016

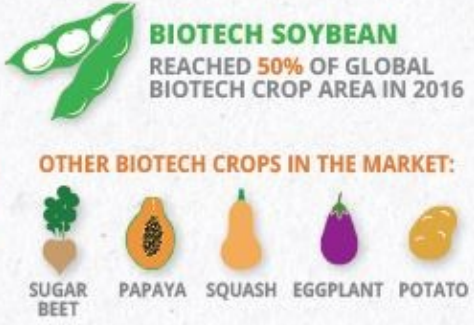
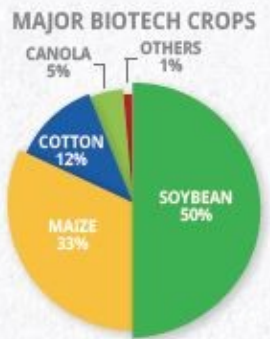


185.1 MILLION HECTARES BIOTECH CROPS
 IN **26** COUNTRIES PLANTED BY **18** MILLION FARMERS
FASTEST ADOPTED CROP TECHNOLOGY IN RECENT TIMES

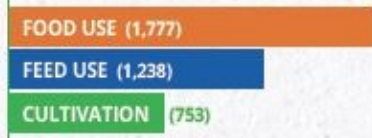
DEVELOPING COUNTRIES GREW MORE BIOTECH CROPS IN 2016



BIOTECH CROPS INCREASED ~110-FOLD FROM 1996-2016; ACCUMULATED AREA IS 2.1 BILLION HECTARES



3,768 APPROVED EVENTS FOR BIOTECH CROPS IN 40 COUNTRIES (1994-2016)



MAIZE HAS LARGEST NUMBER OF APPROVED EVENTS SINCE 1994
218 APPROVALS IN 29 COUNTRIES

BENEFITS OF BIOTECH CROPS

INCREASE CROP PRODUCTIVITY
US\$167.8 BILLION GLOBAL FARM INCOME GAINS (1996-2015) GENERATED BY BIOTECH CROPS

CONSERVE BIODIVERSITY
 PRODUCTIVITY GAINED THROUGH BIOTECHNOLOGY (1996-2016) HELPED SAVE **174 MILLION HECTARES** OF LAND FROM PLOUGHING & CULTIVATION

PROVIDE A BETTER ENVIRONMENT
REDUCED PESTICIDE APPLICATIONS
 DECREASED ENVIRONMENTAL IMPACT FROM HERBICIDE & INSECTICIDE USE BY **19%**

REDUCE CO2 EMISSIONS
 REDUCED GREENHOUSE GASES & HELPED MITIGATE CLIMATE CHANGE. IN 2015, 26.7 BILLION KGS CO2 WAS SAVED EQUIVALENT TO REMOVING **~12 MILLION CARS** OFF THE ROAD FOR 1 YEAR

HELP ALLEVIATE POVERTY & HUNGER
 BIOTECH CROPS BENEFITED **18 MILLION SMALL FARMERS** AND THEIR FAMILIES TOTALING **>65 MILLION PEOPLE**

GLOBAL STATUS OF COMMERCIALIZED BIOTECH/GM CROPS: 2018

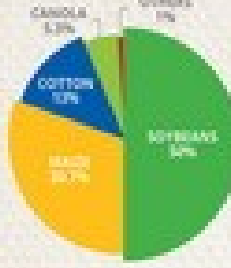
Biotech Crops Continue to Help Meet the Challenges of Increased Population and Climate Change

191.7 MILLION HECTARES BIOTECH CROPS
 IN **26** COUNTRIES PLANTED BY **17** MILLION FARMERS
FASTEST ADOPTED CROP TECHNOLOGY IN RECENT TIMES



BIOTECH CROP AREA INCREASED ~113-FOLD ACCUMULATED AREA IS 2.5 BILLION HECTARES

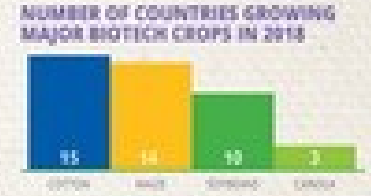
MAJOR BIOTECH CROPS



SOYBEANS HIGHEST ADOPTION WORLDWIDE **50%** OF BIOTECH CROP AREA

OTHER BIOTECH CROPS GROWN IN 2018:

SUGAR BEET PAPAAYA SQUASH EGGPLANT POTATO



4,349 APPROVALS FOR 387 BIOTECH EVENTS FOR 27 CROPS SINCE 1992 INCLUDING CANNONBALL, BOBE, AND PETUNIA

MAIZE MOST NUMBER OF APPROVED EVENTS **117 EVENTS IN 35 COUNTRIES**

USA MOST NUMBER OF GM EVENTS **544 APPROVED EVENTS**

INDONESIA PLANTED BIOTECH SUGARCANE FOR THE FIRST TIME IN 2018

ISRAELI PLANTED BIOTECH COTTON FOR THE FIRST TIME IN 2018

CONTRIBUTION OF BIOTECH CROPS TO FOOD SECURITY, SUSTAINABILITY, AND CLIMATE CHANGE MITIGATION



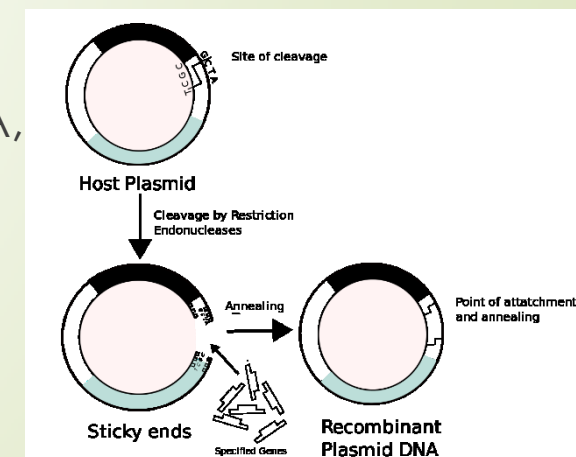
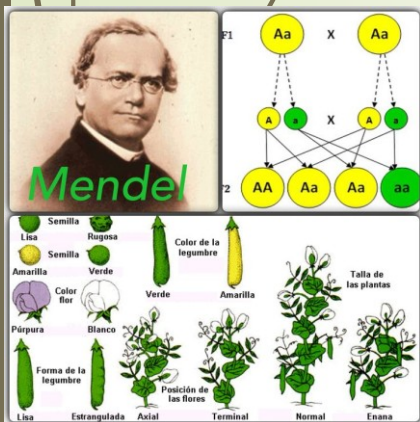


Troška historie...

Biotechnologie a zemědělství – vývoj I.



- 8000 př. n. l. – výběr semen nejlepších rostlin, domestikace druhů
- Cca. od 18. st. – křížení rostlin (např. brukev řepka tuřín – kříženec hlávkového zelí a vodnice)
- 1865 – Mendel a jeho pokusy s dědičností, základ oboru genetika
- Od 40. let 20. st. – šlechtění semen pomocí radiace nebo chemikálií (náhodné mutace)
- 1953 – Watson a Crick objevili dvojitou šroubovici DNA
- 1973 – Cohen a Boyer zdokonalili techniku rekombinantní DNA, základ genového inženýrství





Biotechnologie a zemědělství – vývoj II.

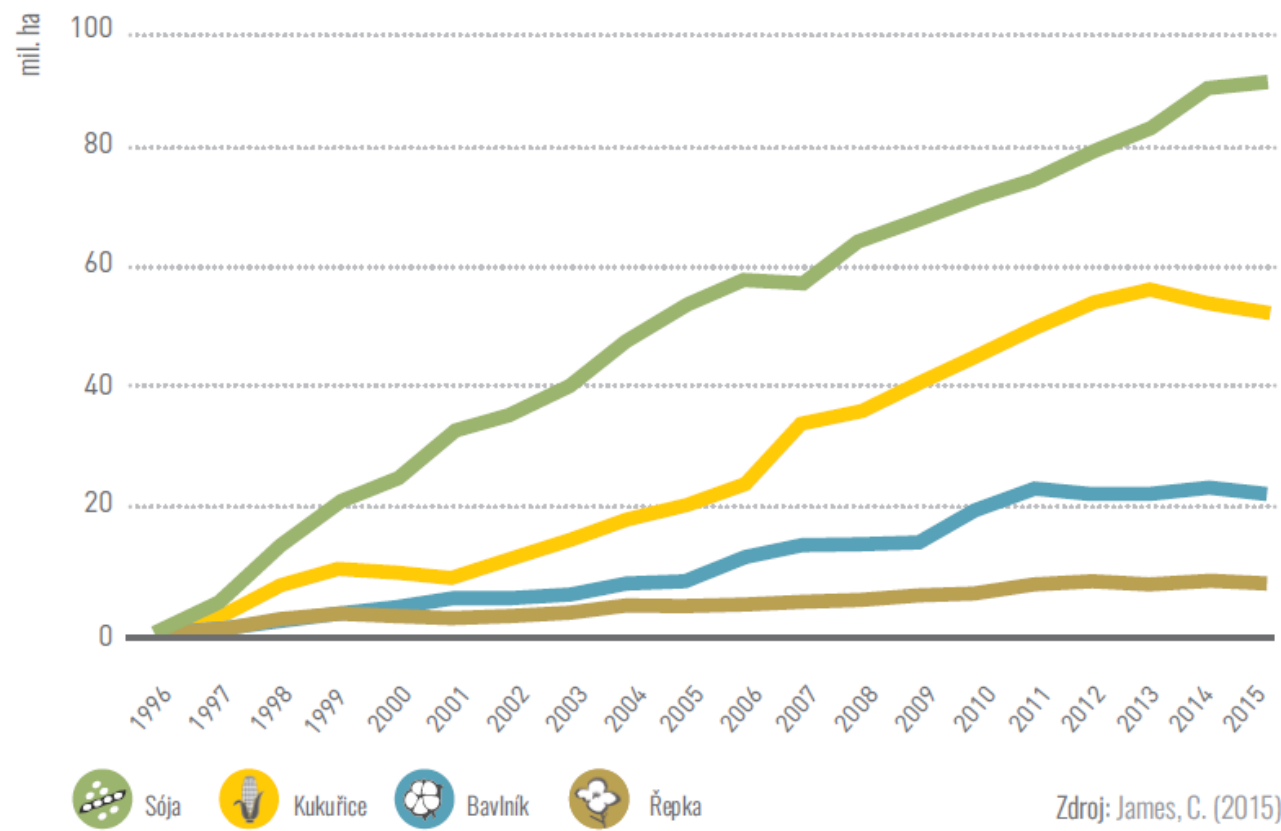
- ▶ 80. l. 20 st. – inzulín jako první produkt moderní biotechnologie. Rostlinní šlechtitelé aplikují nové metody do biotechnologie rostlin.
- ▶ 1996 – první biotech plodiny komercializovány (rajče s opožděným dozráváním)
- ▶ Od roku 1996 pěstování dalších biotech plodin: kukuřice, sójové boby, bavlna, řepka olejka, papája a další... po celém světě (v r. 2007 bylo geneticky transformováno cca. 140 druhů krytosemenných rostlin)
- ▶ Současnost – vývoj nových technik (např. editace genomu, umlčování genů, transformace plastidů, ...)

Nejrychleji přijatá pěstební technologie

> ISAAA

<http://bit.ly/2533Pol>

Od roku 1996 celosvětově narůstají plochy GM plodin i jejich konzumace.¹⁴ Genetické modifikace se tak staly nejrychleji přijatou pěstební technologií v historii. Většina GM plodin se pěstuje mimo Evropu a čím dál více v rozvojových zemích.¹⁴



Biotechnologie jako preferenční nástroj nasycení lidstva



- 80 % energetické hodnoty všech potravin na světě produkuje pouhých 6 plodin
- s rostoucí populací rostou požadavky na produkci obilovin

„velká šestka“: pšenice, rýže, kukuřice, brambory, batáty a maniok

Metody šlechtění

tradiční metody šlechtění (klasické, konvenční)

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

netradiční metody šlechtění (nekonvenční)

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

Metody šlechtění

Tradiční šlechtění

Šlechtitel vyhledá potřebné znaky u různých plodin stejného druhu. Vhodné jedince potom vzájemně kříží. U nové hybridní odrůdy se objeví kombinace žádoucích znaků.



Mezidruhové křížení

Šlechtitelé mohou křížit také odlišné, ale přesto podobné druhy. Z takového křížení pochází i moderní pšenice, jejíž původní křížení nastalo přirozeně.



Mutační šlechtění

Semena jsou vystavena vlivu záření, které podpoří vznik náhodných mutací DNA. Pokud vznikne žádoucí znak, je rostlina vybrána pro další šlechtění.



Selekce pomocí markerů

Bez znalosti genů, které kódují žádoucí znak, lze šlechtění urychlit sledováním DNA markeru v jejich blízkosti. Rostliny s žádoucím znakem lze určit dříve, než vyrají.



Genetické modifikace

Geny nalezené u jednoho druhu mohou být přeneseny přímo do genomu nepříbuzného druhu, který tím získá zcela novou vlastnost – například odolnost vůči škůdcům.





Klasické versus moderní biotechnologie

- problémem současné vědy i společnosti je rozpor mezi dlouhým obdobím 10.000 let trvání „klasických“ genetických modifikací (které zahrnují selekci, křížení, fúze genomů, mutagenezi a klonování) a na druhé straně rychlým nástupem nových metod a technologií, které nejsou zatím přijatelné pro společnost
= podmíněno uměle - ideologickými důvody
- zemědělské metody raných civilizací mohly měnit globální klima



Hlavní problém konvenčního šlechtění


absence vhodných genových zdrojů

Důvody:

- **alternativní zdroje *a priori* (téměř) neexistují** - banánovník
- **alternativní zdroje jsou vyčerpány** - klíčové obiloviny
- **alternativní zdroje jsou sexuálně nekřížitelné** - mnohé plané druhy bramboru, ale i brukvovitých nebo bobovitých rostlin



Vědecké kořeny moderních rostlinných biotechnologií

- 
1. tkáňové kultury (*in vitro*)
 2. regenerace rostlin z jednotlivých somatických buněk
 3. studium nemoci „crown gall“
 4. vývoj technik cílené genové manipulace

Tkáňové kultury - vývoj

- ▶ Haberlandt 1902 - otec rostlinných tkáňových kultur
- ▶ White 1934 – růst izolovaných **kořenových špiček**
- ▶ White 1939 – **kalusová** kultura *Nicotiana*
- ▶ Skoog a spol. (1957) – vliv **auxinu** a **kinetinu** na tvorbu prýtů a kořenů z kalusových shluků
- ▶ Steward a spol. (1958) – **regenerace plně funkčních rostlin** z jednotlivých buněk kalusu



Regenerace celých rostlin z jednotlivých somatických buněk

- ▶ Haberlandt (1902) jako první pěstoval izolované somatické buňky vyšších rostlin *in vitro*, ale krátká životnost, žádné dělení
- ▶ Muir et al. (1958) – pěstování jednotlivých **buněk v tekutém médiu**, po přenesení **na agar. médium se buňky dělily** a vytvořily shluky, některé vytvářely **kořeny nebo prýty**
- ▶ Backs-Hüseemann and Reinert, 1970 – první pozorování **vzniku embryí ze somatických buněk**

Crown gall I.

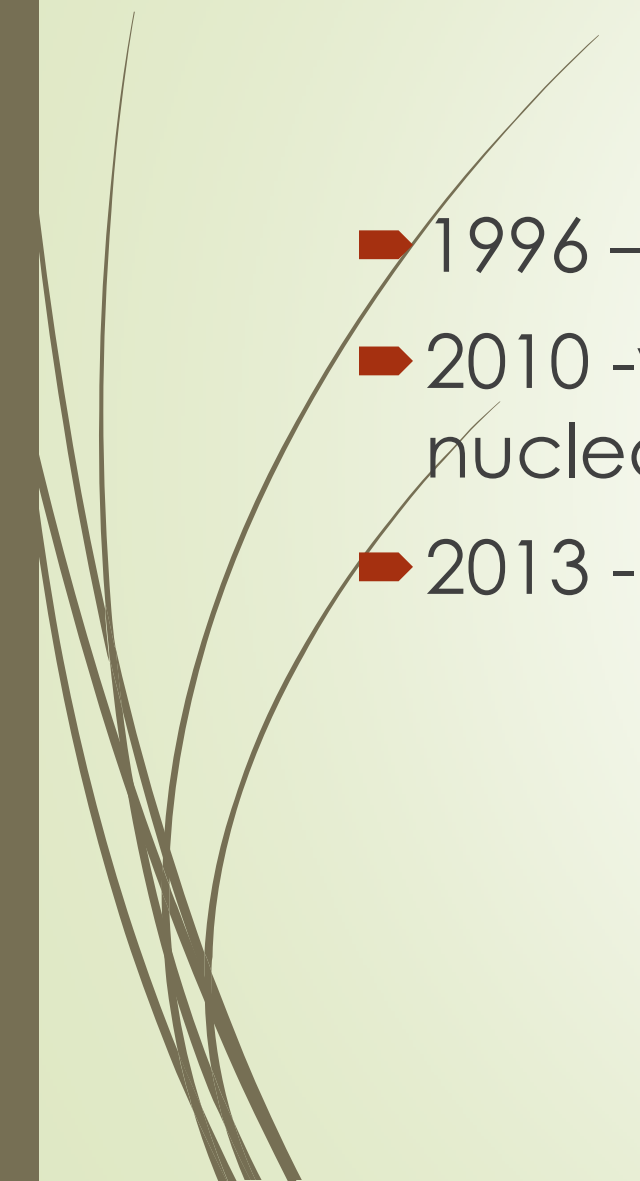
- Smith, 1907 – popis nemoci **crown gall** (=bakteriální boulovitost, nádorovitost) způsobené bakterií pojmenovanou *Bacterium tumefaciens*, která později přejmenována na ***Agrobacterium tumefaciens***
- Smith srovnával crown gall nemoc s rakovinovým bujením u lidí
- Objev tvorby sekundárních nádorů, které byly indukovány bakterií, ale bakterii neobsahovaly (White and Braun 1941)
- Objev **oktopinů** a **nopalinů** v rostlinách, které nakaženy *Agrobacteriem*
- 1969 – přenos virulence z virulentního na nevirulentní (saprofytický) kmen *Agrobacterium*, návrh možného **přenosu DNA**
- 1974 – objev **plasmidu**, který je odpovědný za virulenci *Agrobacterium*

Crown gall II.

- 1978 – zjistilo se, že do rostlin je přenesena pouze část plasmidu, definování termínů **Ti plasmid** a **T-DNA**
- 1980 – T-DNA pouze v **jaderném** genomu
- 1984 – **geny** na plazmidu, které kódují **syntézu auxinu** a **cytokininu**
- Vytvoření „**odzbrojeného**“ plasmidu (bez indukce nádorů, kořenů nebo prýtlů) – předpoklad pro využití Ti plasmidu jako vektoru pro zavedení vybraných genů do genomu rostlin (1981)
- Některé rostliny rezistentní vůči *Agrobacterium*, proto vývoj dalších metod pro zavedení DNA do rostlinných buněk (elektroporace, mikroinjekce, biolistika/bombardování částicemi...)



Genomové editace

- 1996 – technika Zinc finger nukleázy (ZFNs)
 - 2010 -využití TALENs (Transcription activator-like effector nucleases)
 - 2013 - technika CRISPR/Cas system
- 

UNEARTHEDCOMICS.COM 2013
COPYRIGHT SARA ZIMMERMAN

Ok, I guess
that was a
little too much
manipulation.

A-1 GMO
LABS

