



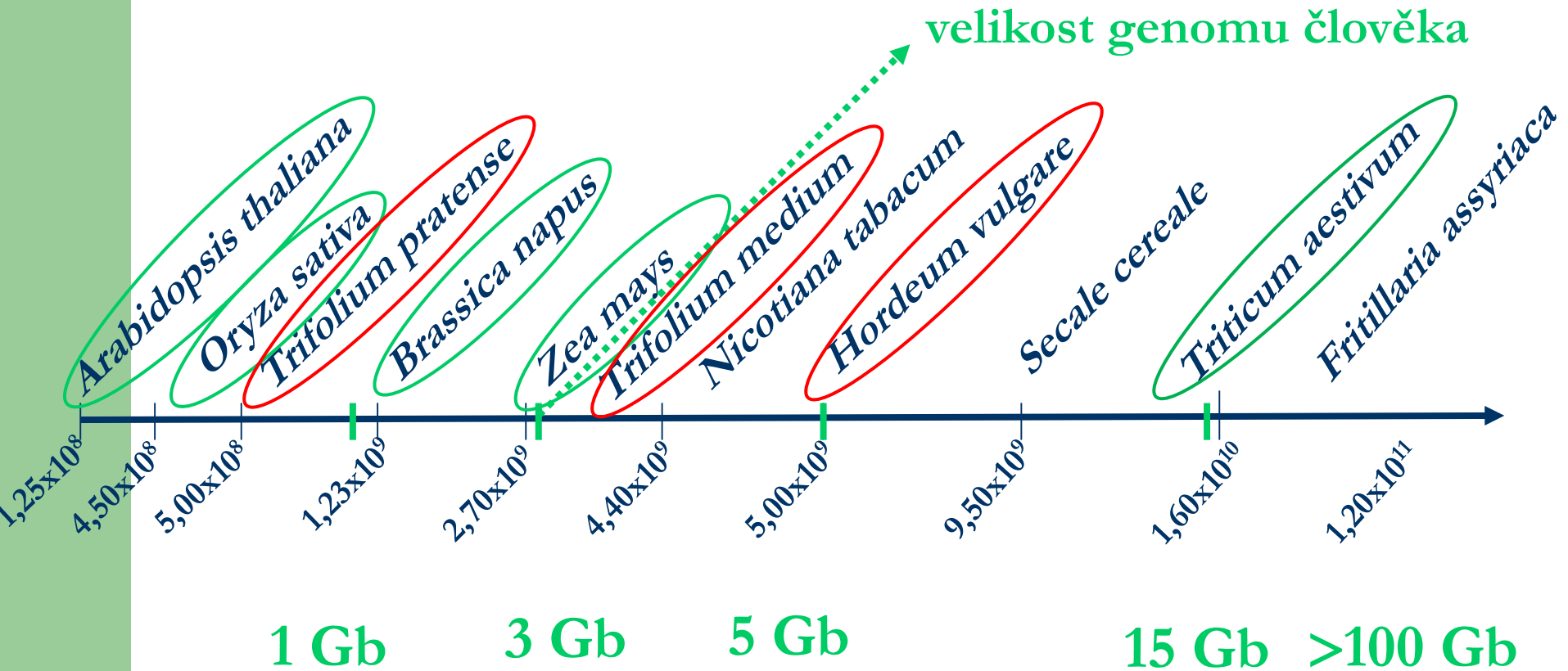
# Laboratoř molekulární genetiky rostlin Ústav experimentální biologie

Studium rostlinných genomů/genů  
geneticko-molekulárními metodami  
a využití výsledků při zlepšování plodin

---

Jana Řepková

# Rostlinné genomy



# Směry výzkumu

## **Rod jetel *Trifolium***

Přístupy klasické genetiky

Mezidruhová hybridizace → introdukce genů

Přístupy molekulární a genomické

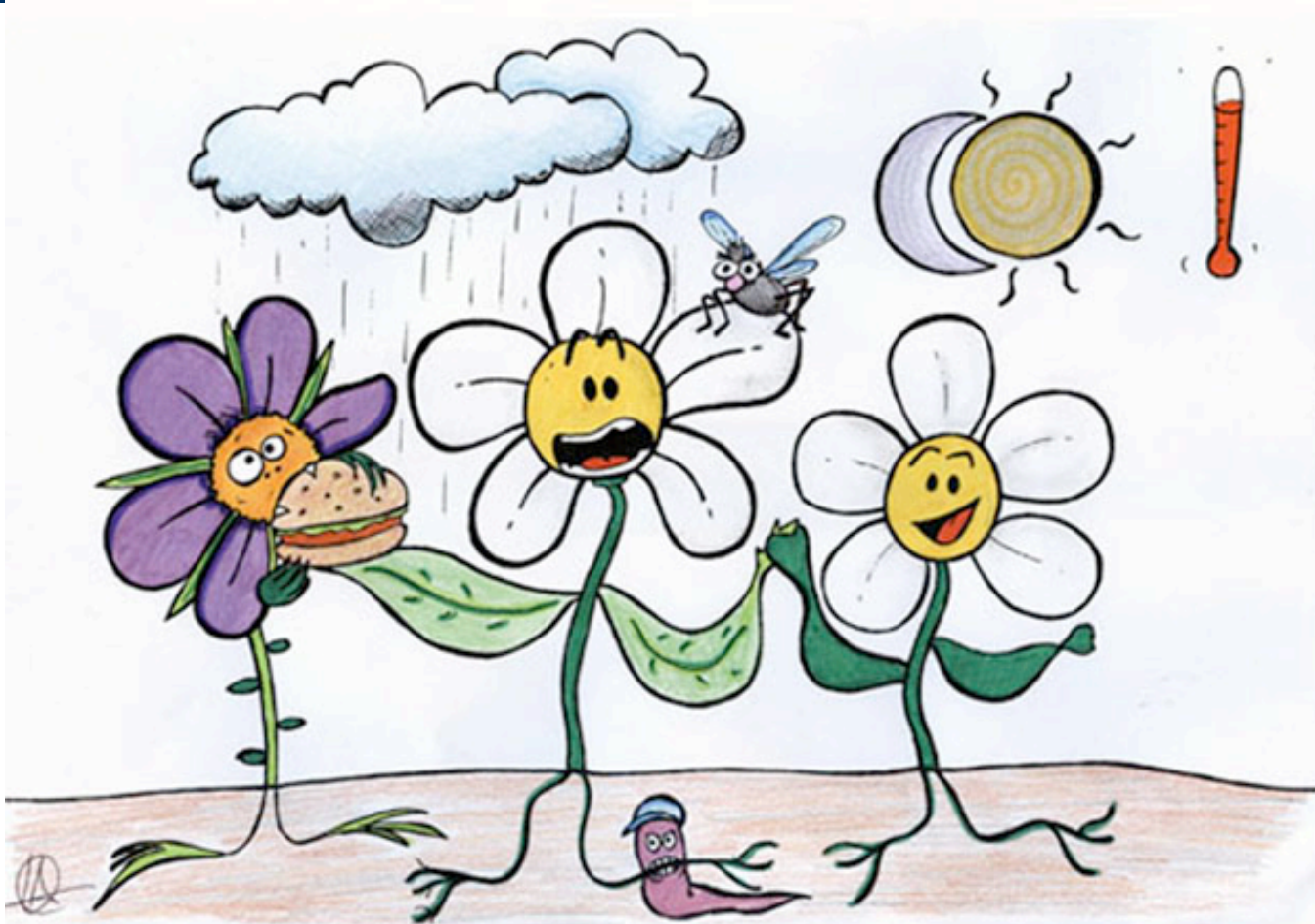
Strukturní, funkční a srovnávací genomika

Celogenomové analýzy, repetice, geny rezistence,  
fixace dusíku

**Kulturní druh *T. pratense***

**Planý druh *T. medium***

# Proč? Jak?

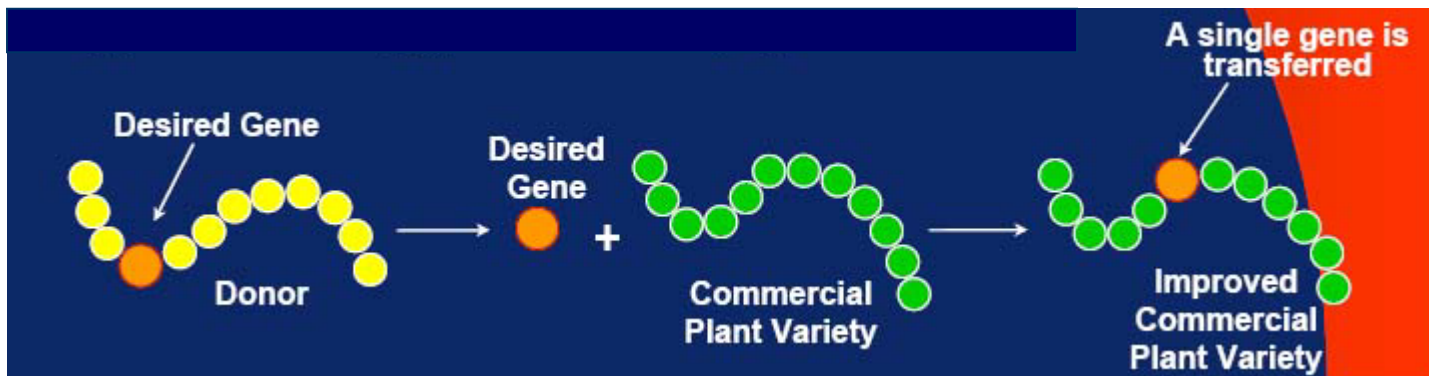


# Biotechnologie jsou rozšířením šlechtění

**Tradiční šlechtění – kombinuje mnoho genů současně**



**Biotechnologie – cílené vkládání genů**



**Molekulární šlechtění – cílené studium genů**

# Jetel luční (*Trifolium pratense*) pícnina



## Cíle šlechtění

### Kvalita

PPO, fytoestrogeny, mastné kyseliny

### Odolnost k patogenům

*Fusarium* sp., viry

### Vytrvalost (*T. medium*)

tvorba stonkových výběžků

## Donory vhodných genů

## Mezidruhová hybridizace

# Strategie řešení - získání hybridů

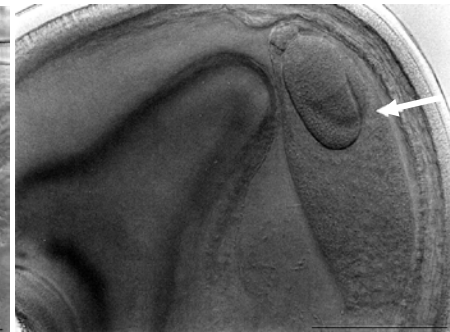
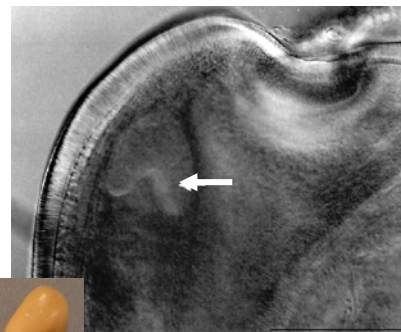


X



*T. pratense*  
jetel luční  
 $2n=4x=28$

*T. medium*  
jetel prostřední  
 $2n=8x=64$



Studium embryogeneze



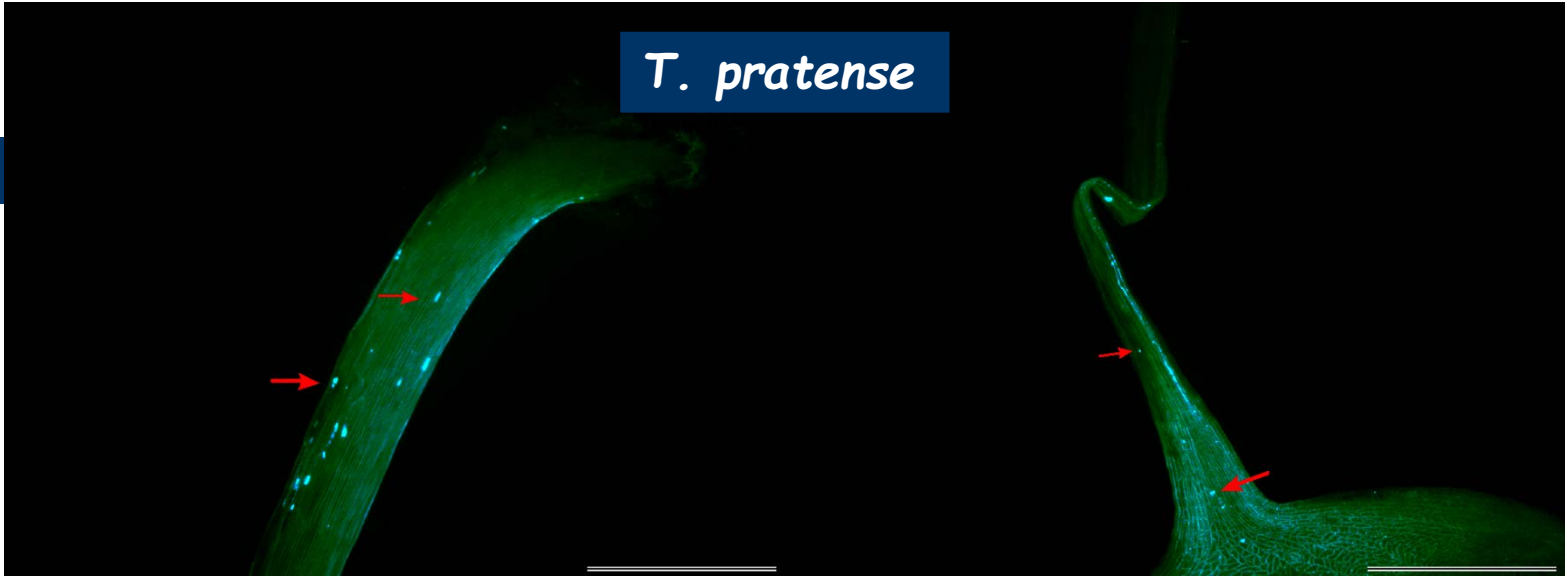
Záchrana embryí



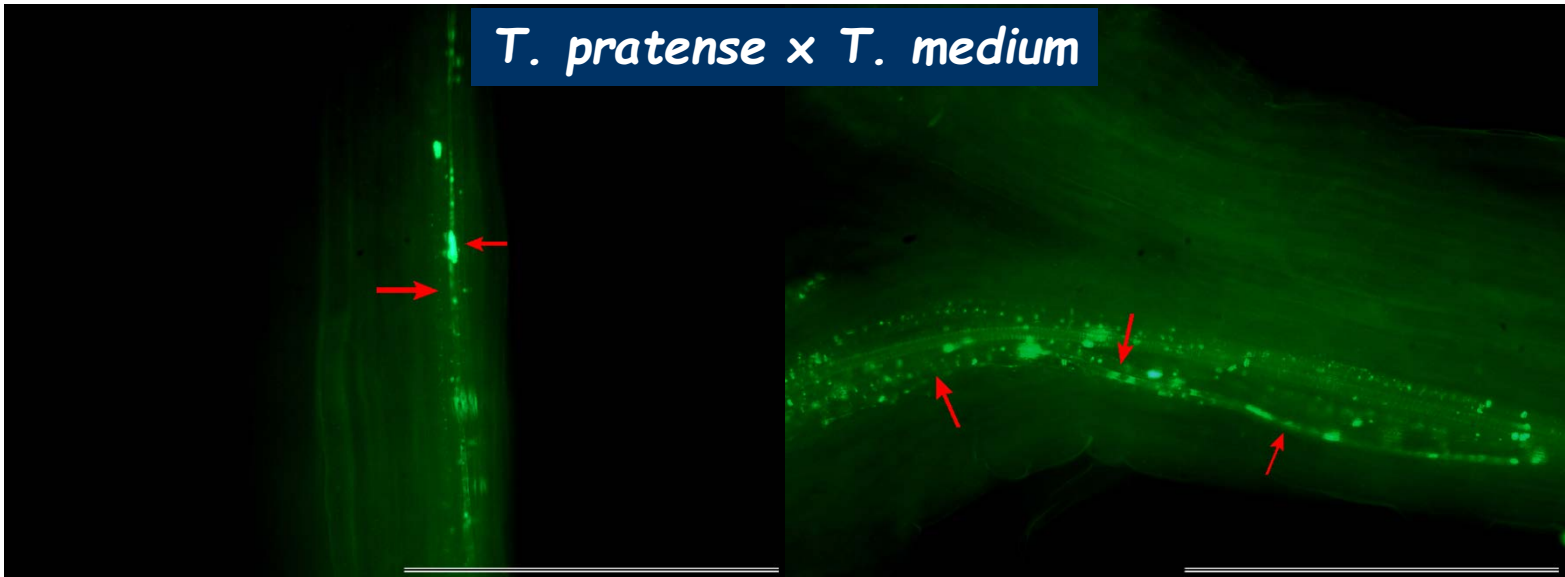
Hybridi-morfologická a cytogenetická variabilita

# Výsledky studia prezygotických bariér *Trifolium*

*T. pratense*



*T. pratense* x *T. medium*



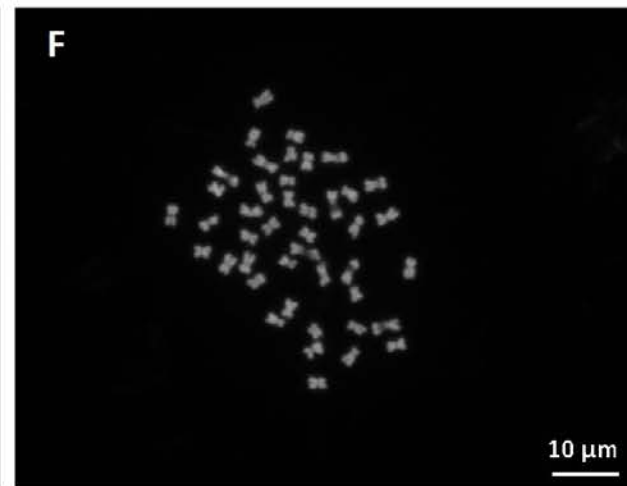
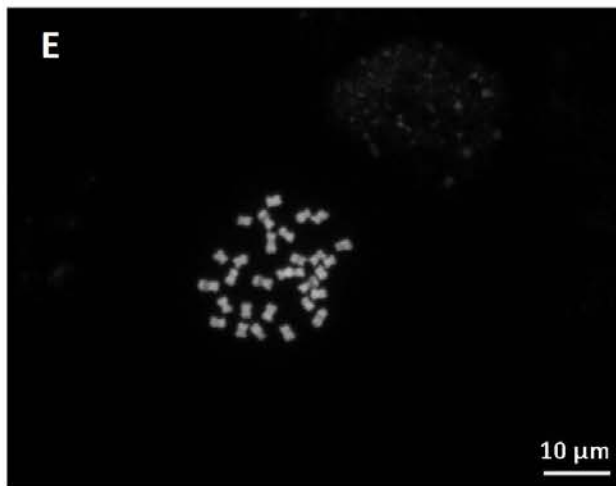
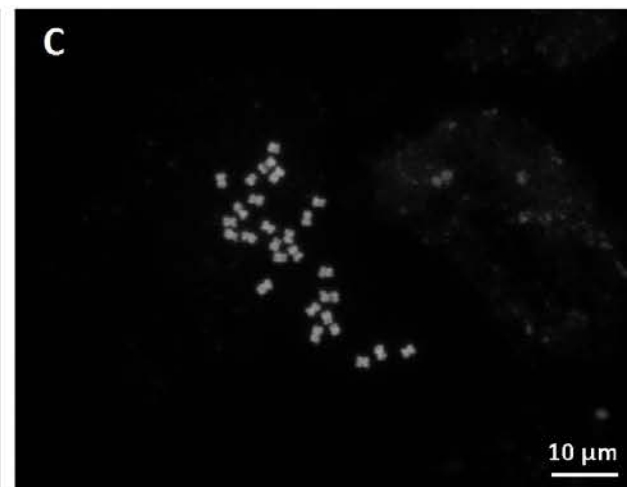
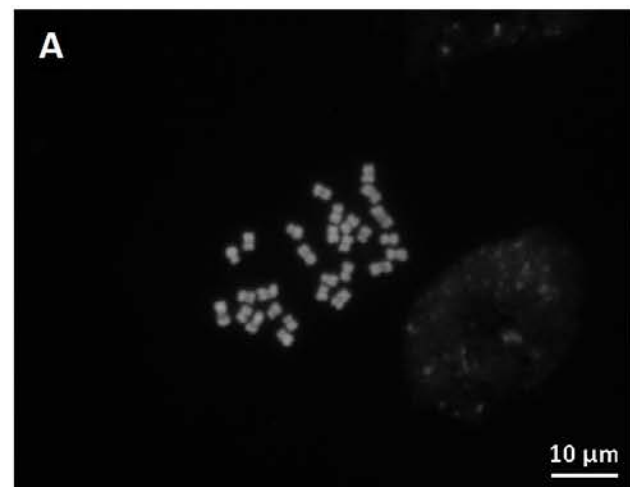


# Cytologická analýza hybridů

*T. pratense*

*T. medium*

hybridi



# Kořenový systém hybridů ve srovnání s rodiči



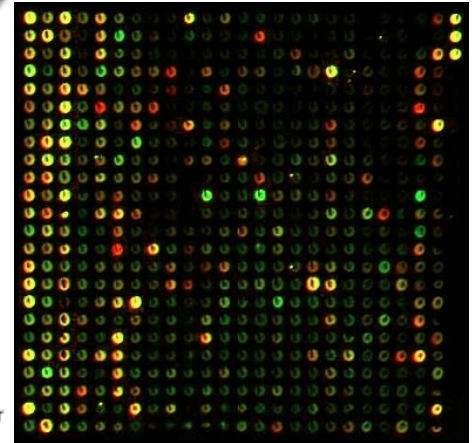
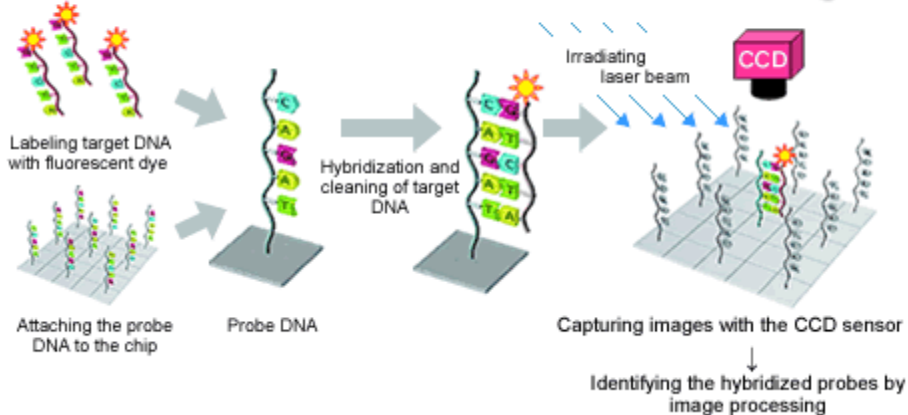
# Tradiční a „molekulární“ šlechtění

1. Povolení odrůdy PRAMEDI založené na mezidruhových hybridech
2. Sekvenování genomů obou křížených druhů, referenční sekvence Sady DNA markerů, čipy s DNA markery



## Fluorescence-Detection DNA Chip

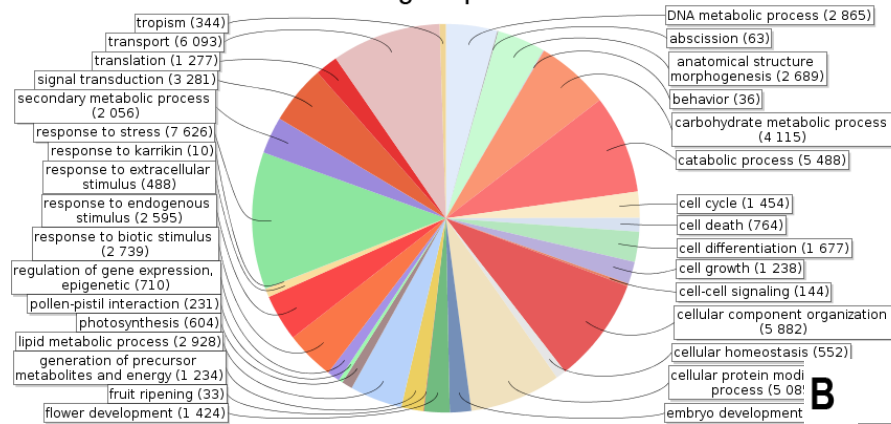
The four bases A, T, G, and C bind A to T or G to C. A target DNA sequence is analyzed by checking which bases the target DNA bases bind.



# Klasifikace genů *Trifolium pratense* do funkčních kategorií (A) biologických funkcí (B) molekulárních funkcí

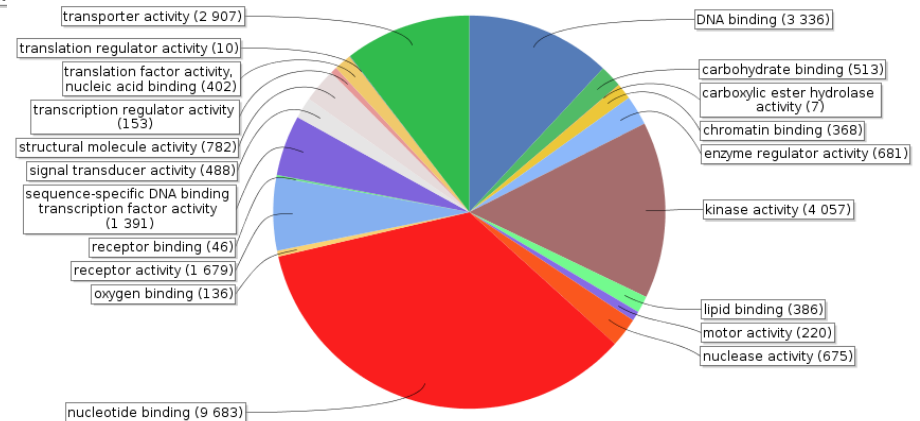
**A**

## Biological process

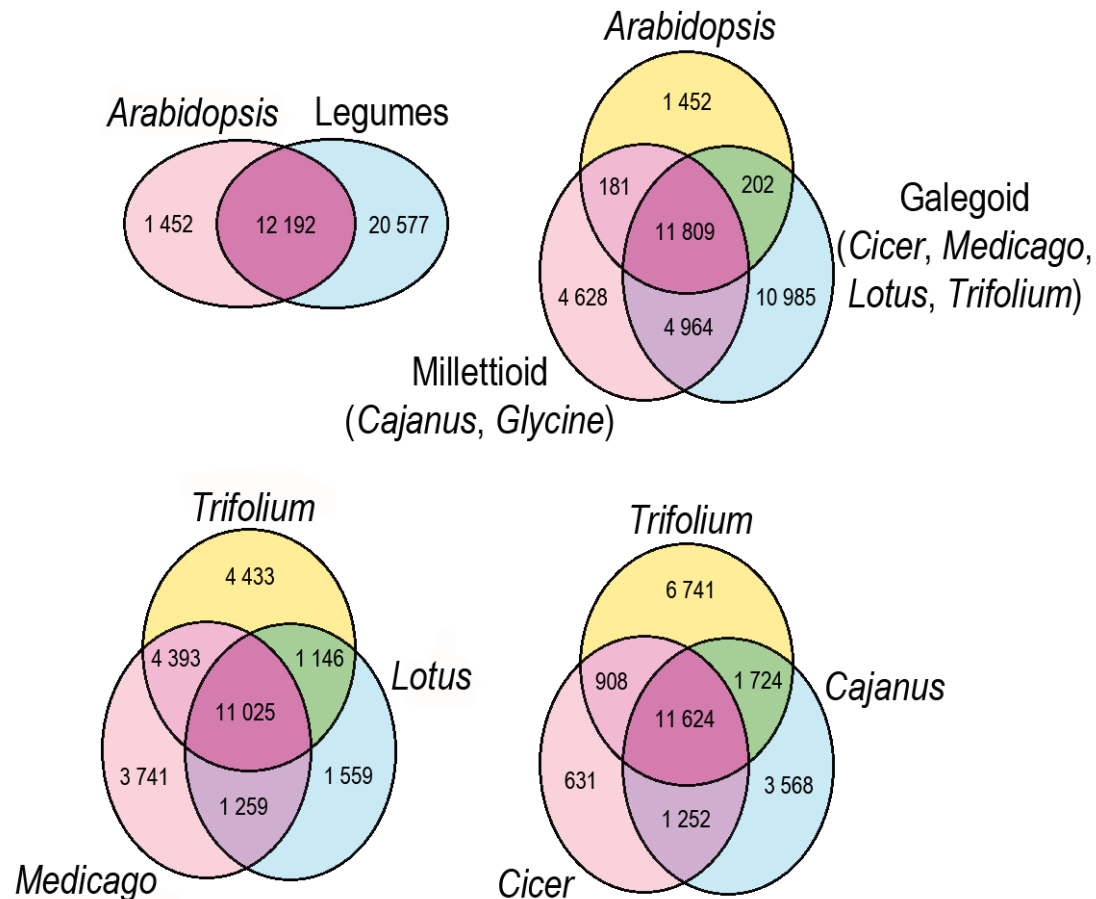


**B**

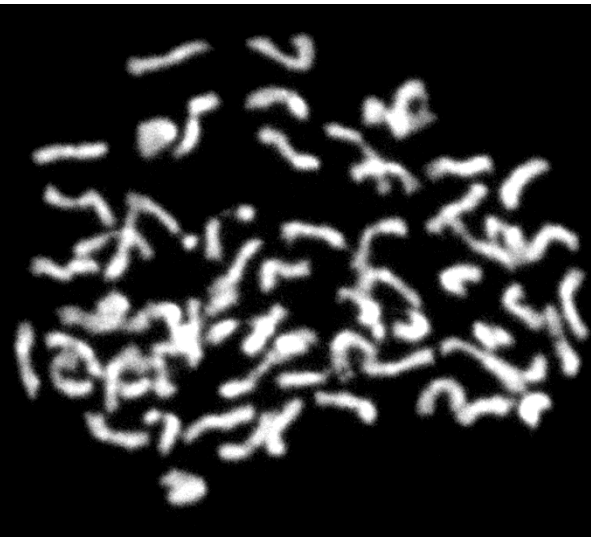
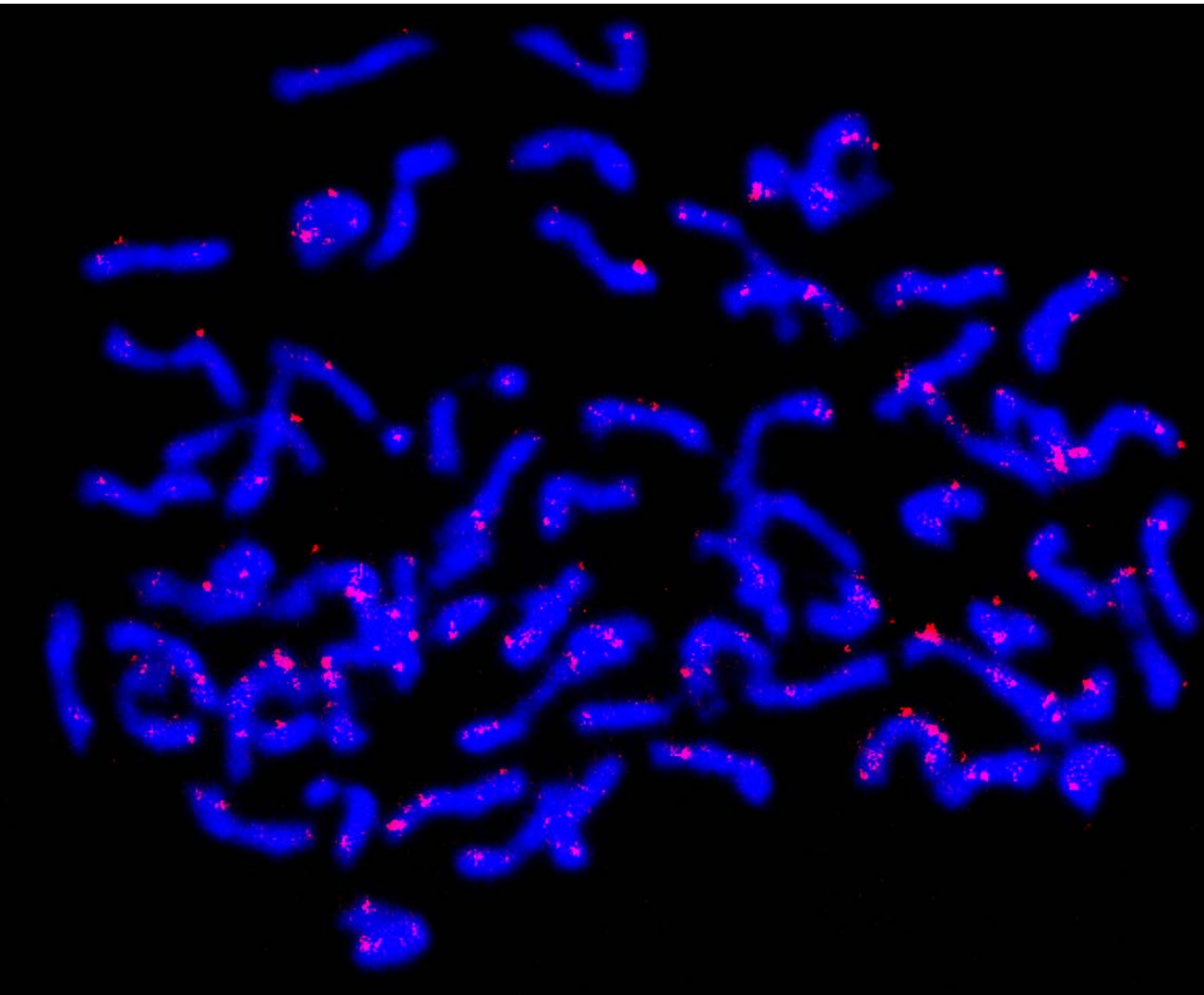
## Molecular function



# Ortologní a specifické geny při srovnání *Trifolium pratense*, *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus*, *Cicer arietinum*, *Cajanus cajan*, *Glycine max* a *Arabidopsis thaliana*



# Studium repeticí v genomech druhů rodu *Trifolium*



**FISH**

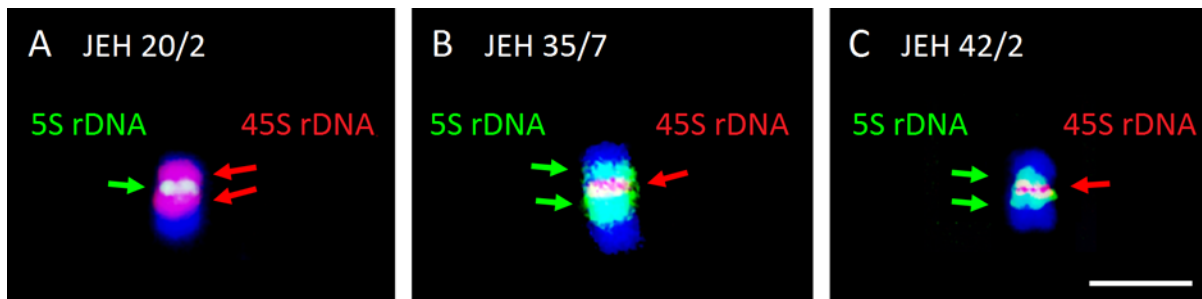
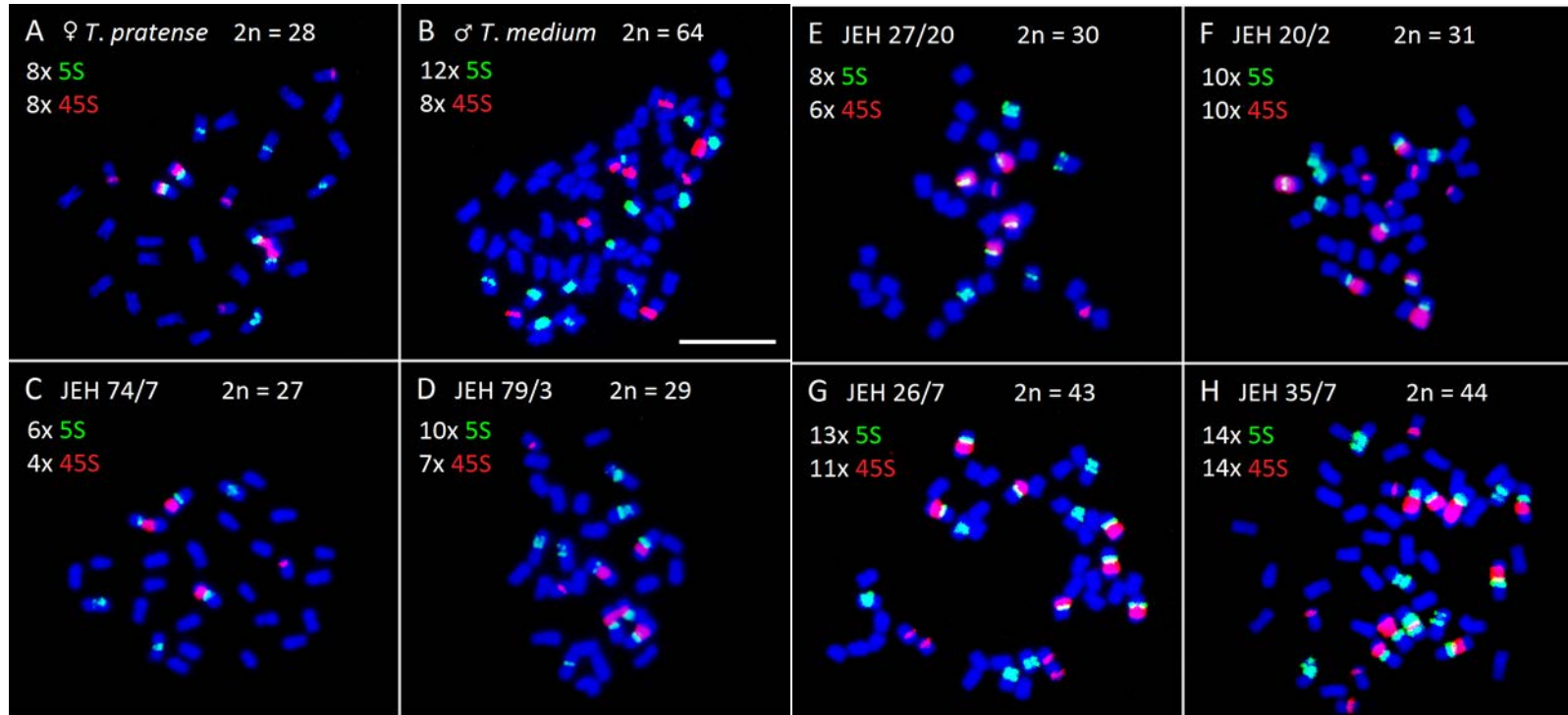
**Příprava sond**

CL146 – nick translace,  
barva **Cy3**

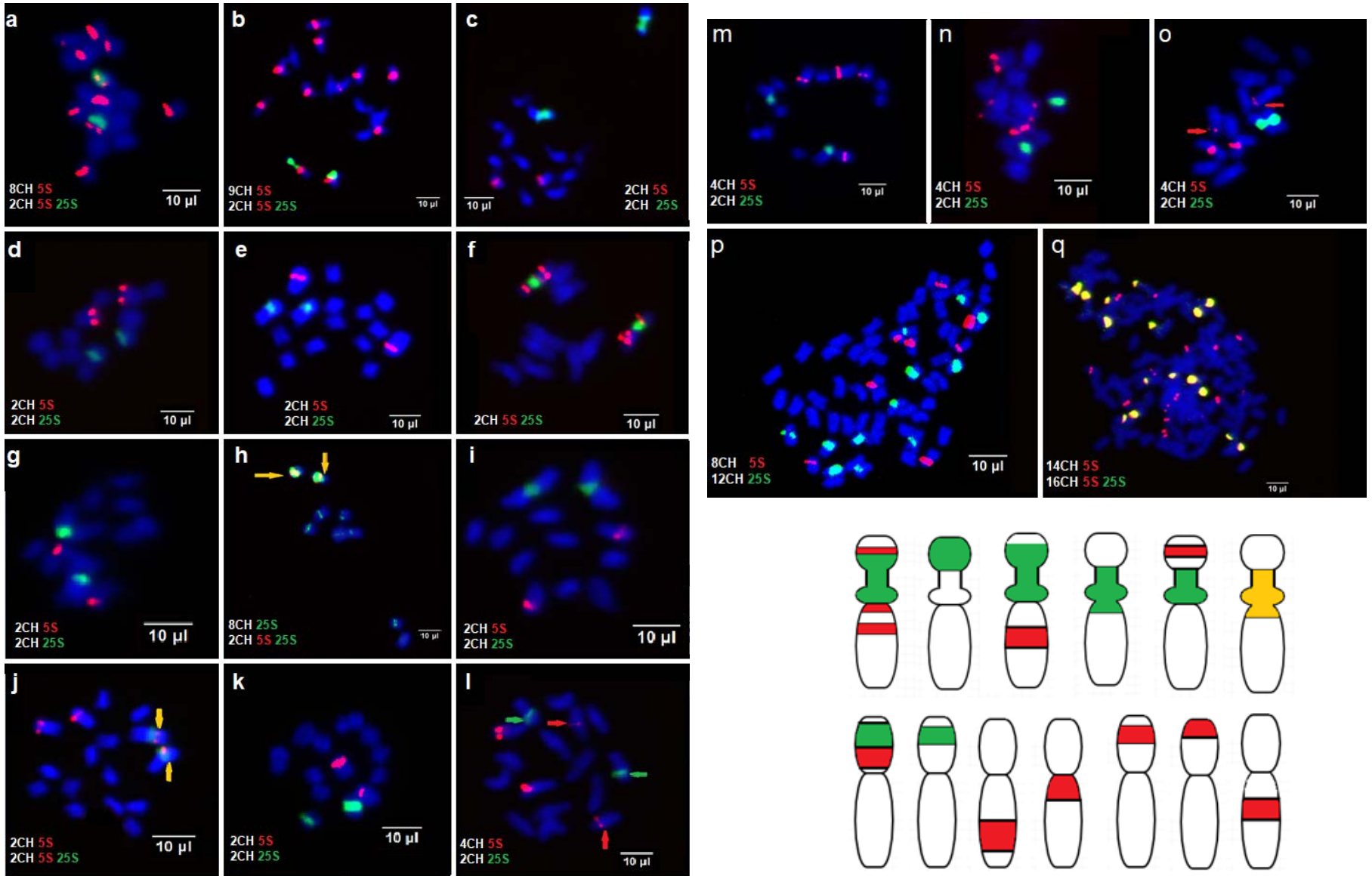
chromozomy *T. medium*

- **DAPI**

# Studium lokusů rDNA *T. pratense*, *T. medium* a hybridů



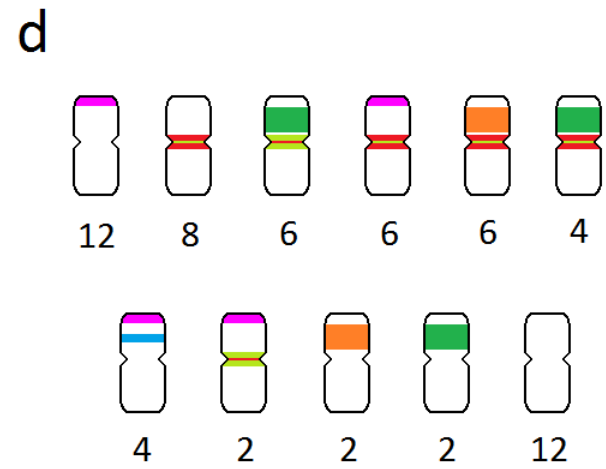
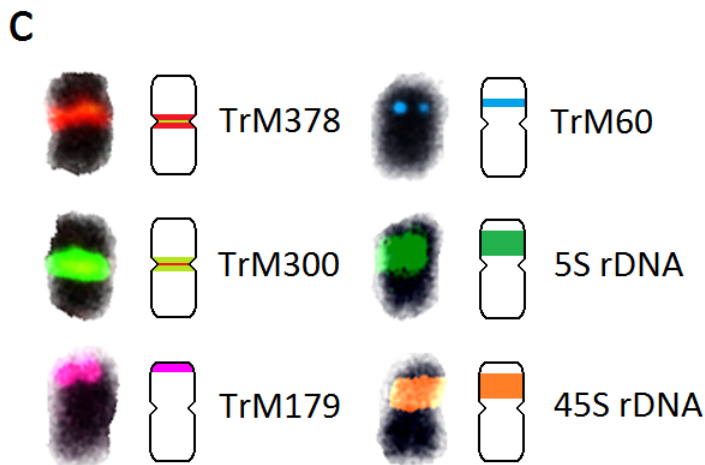
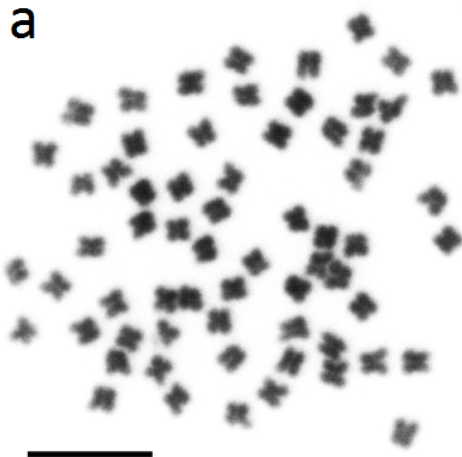
# Studium lokusů rDNA u 39 druhů *Trifolium*





# Karyotyp *Trifolium medium*

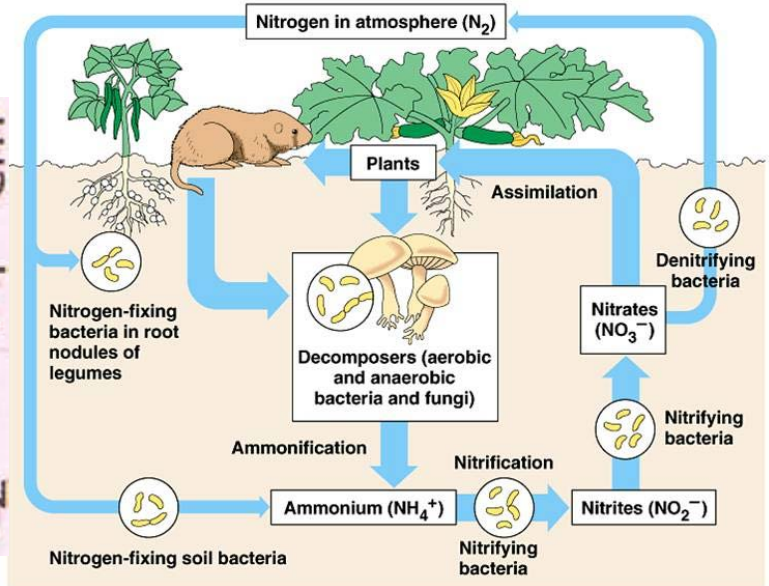
$2n = 8x = 64$



# Studium specifických kódujících sekvencí

## Fixace vzdušného dusíku rostlinami

Klíčové geny

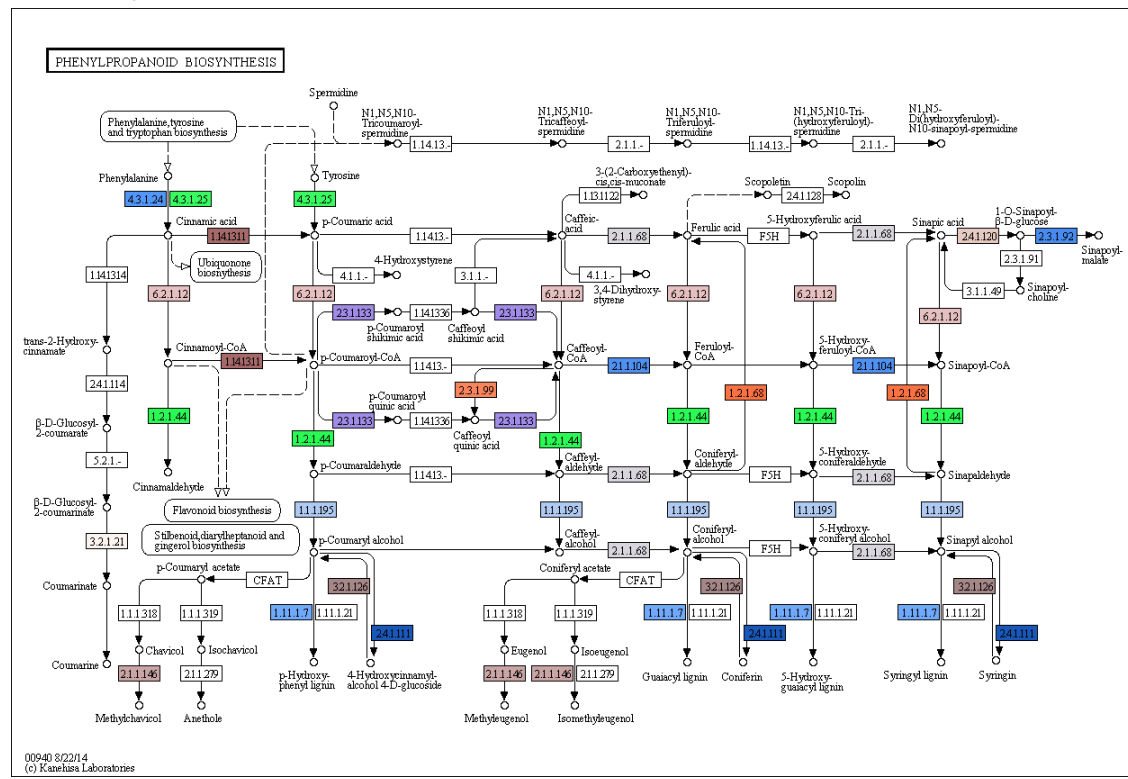


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Diagnostika, aplikace ve šlechtění

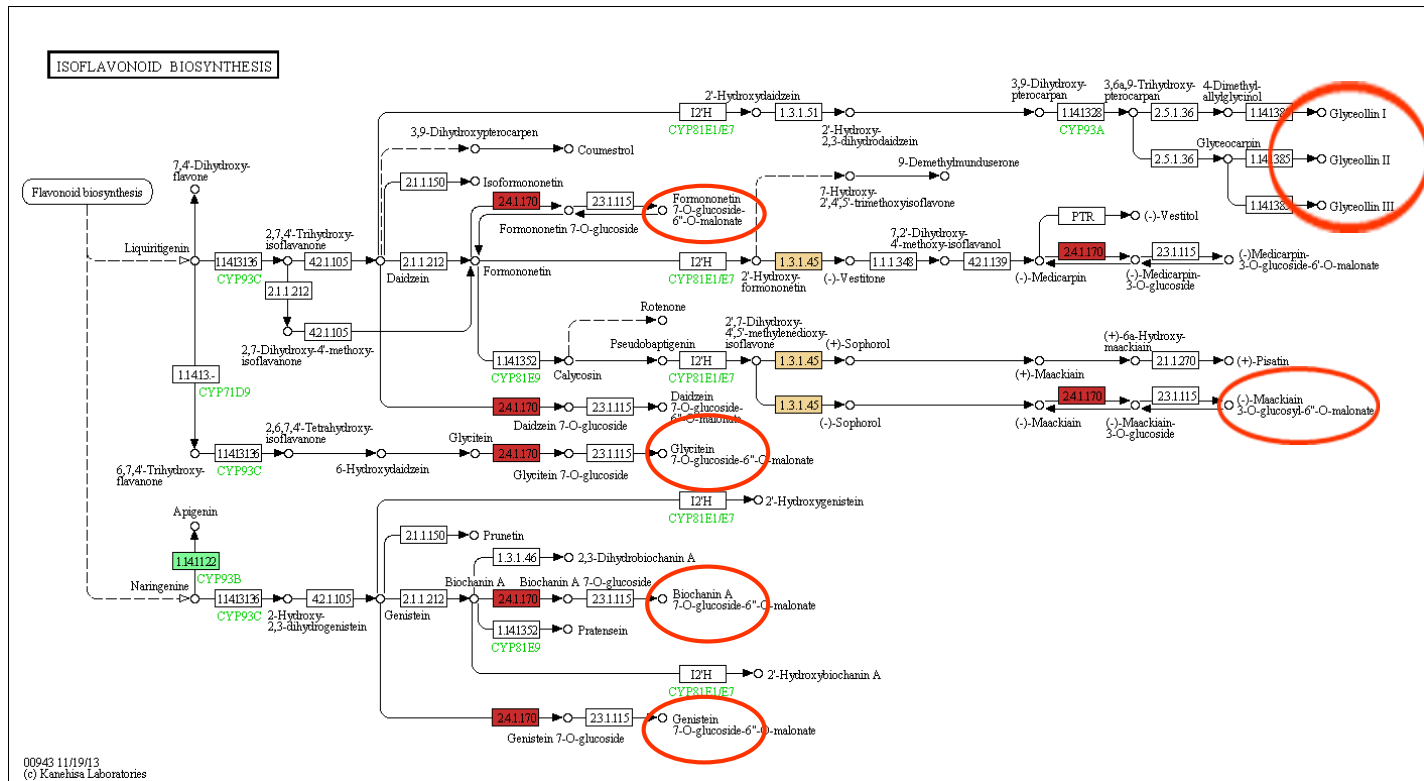
# Identifikace genů biosyntetických drah

## Sekundární metabolity: izoflavonoidy - fytoestrogeny, fytoalexiny

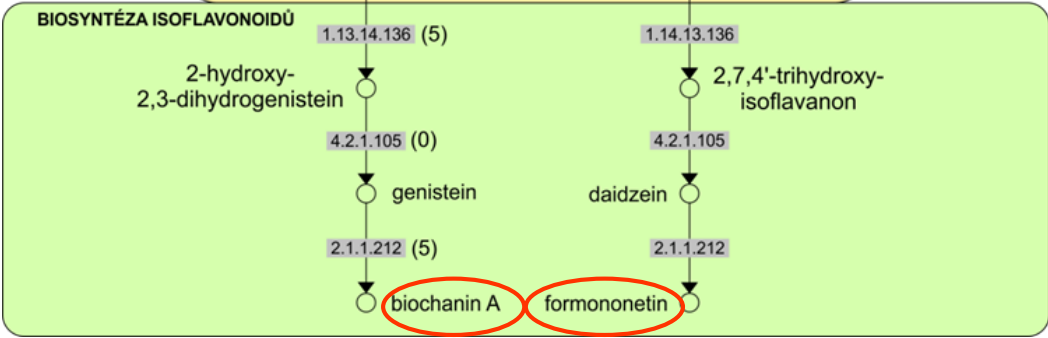
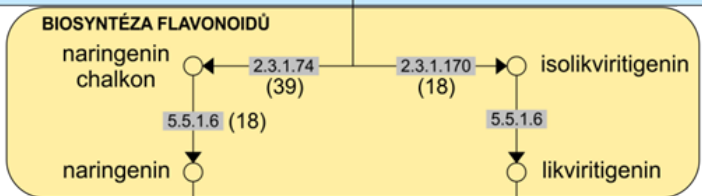
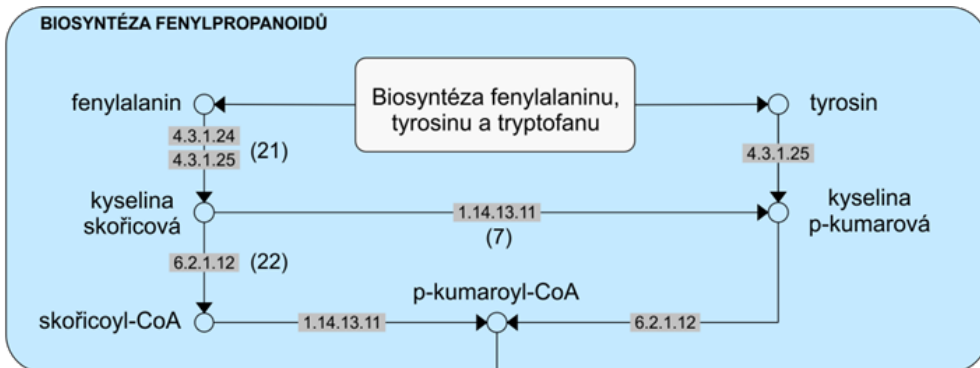


# Sekundární metabolity fytoestrogeny, fytoalexiny

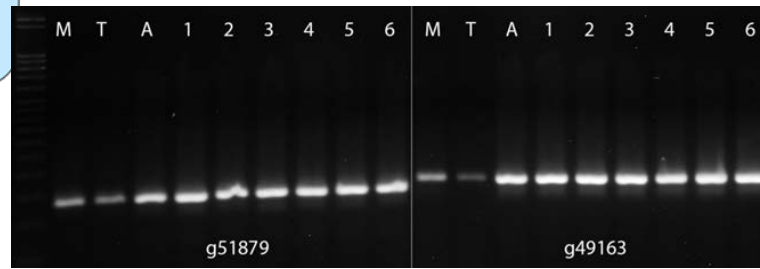
- Formononetin, biochanin A, daidzein, genistein



# Fytoestrogeny



## Expresní analýzy qPCR



Ukázka expresní analýzy dvou genů kódujících enzym EC2.3.1.74.

M – *T. medium*, T – odrůda Tatra, A – odrůda Amos, 1-3 – odrůda Pramedi rostliny s vysokým obsahem FE, 4-6 - odrůda Pramedi rostliny s nízkým obsahem FE.

# Cíle studia genů

1. Studium jednotlivých genů odolnosti a kvality, geny pro fixaci dusíku:  
expresní analýzy, hledání funkčních polymorfismů a identifikace DNA markerů v genech
2. Využití perspektivních šlechtitelských materiálů s účinnými geny, vývoj těsně vázaných markerů, využití ve šlechtění při genotypování rostlin = diagnostika

# Aplikace poznatků ve šlechtění rostlin

## Matrice pro diagnostiku Čipové technologie

