

# Problematika geneticky modifikovaného hrachu

Kateřina Moudr

---

Bakalrsk práce  
2013

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologick

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav analýzy a chemie potravin  
akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kateřina MOUDRÁ**  
Osobní číslo: **T10486**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Problematika geneticky modifikovaného hrachu**

Zásady pro vypracování:

1. **Popište chemické složení hrachu.**
2. **Charakterizujte choroby a škůdce hrachu.**
3. **Popište metody transgenozy.**
4. **Popište aplikaci transgenozy u hrachu.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

[1] ONDŘEJ, Miloš a Jaroslav DROBNÍK. Transgenozie rostlin. Vyd. 1. Praha: Academia, c2002, 316 p. ISBN 80-200-0958-2.

[2] Wendy J. Dahl, Lauren M. Foster and Robert T. Tyler (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British Journal of Nutrition*, 108, pp S3-S10. doi:10.1017/S0007114512000852.

[3] STRATILOVÁ, Zuzana. GMO bez obalu. Praha: Ministerstvo zemědělství, odbor bezpečnosti potravin, 2012, 31 s. ISBN 978-80-7434-057-4.

[4] VONDREJS, Vladimír. Otazníky kolem genového inženýrství. Vyd. 1. Praha: Academia, 2010, 134 p. ISBN 978-802-0018-922.

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.**

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

**11. února 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce:

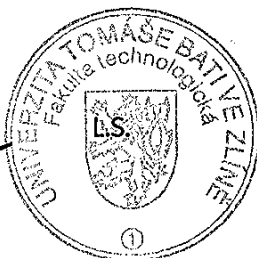
**17. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: .....

Obor: .....

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně .....

.....

---

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výtěžku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Tématem této bakalářské práce je hrách a využití metod transgenozy ke zlepšení jeho vlastností. První část se věnuje obecně hrachu, jeho významu, botanické charakteristice, složení semen, škůdcům a onemocněním. Druhá část práce je pak zaměřena na transgenozu, metody transgenozy, nejčastěji vnášené transgeny a uplatnění transgenozy ve šlechtění hrachu. V závěru jsou stručně popsány pravidla pěstování transgenních plodin, rizika a problémy spjaté s genetickými modifikacemi.

Klíčová slova: hrách setý, výživová hodnota, škůdci hrachu, onemocnění hrachu, transgenozy, transgen

## **ABSTRACT**

The theme of this bachelor thesis is the pea and the use of transgenesis to improve its properties. The first part deals with the pea generally, its importance, botanical characteristics, seed composition, pests and diseases. The second part is focused on transgenesis, methods of transgenesis, most often inserted transgenes and application of transgenesis in breeding the pea. The rules of transgenic crops cultivation, the risks and problems associated with genetic modifications are briefly described in conclusion.

Keywords: Pea, nutritional value, pea pests, pea diseases, transgenesis, transgene

Ráda bych zde poděkovala Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D., vedoucí mé bakalářské práce, za pomoc a cenný čas, který mi věnovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

|  |           |
|--|-----------|
| ÚVOD .....   | 11        |
| <b>1 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>                         | <b>12</b> |
| <b>1 HISTORIE PĚSTOVÁNÍ HRACHU .....</b>               | <b>13</b> |
| <b>2 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA .....</b>               | <b>14</b> |
| <b>3 SLOŽENÍ ZRNA .....</b>                            | <b>15</b> |
| 3.1 ŠKROB .....  | 15        |
| 3.1.1 Amylóza .....                                    | 15        |
| 3.1.2 Amylopektin .....                                | 15        |
| 3.2 DUSÍKATÉ LÁTKY .....                               | 16        |
| 3.2.1 Bílkoviny .....                                  | 16        |
| 3.2.2 Alkaloidy .....                                  | 16        |
| 3.2.3 Antinutriční látky bílkovinné povahy .....       | 17        |
| 3.2.3.1 Inhibitory proteáz.....                        | 17        |
| 3.2.3.2 Lektiny .....                                  | 17        |
| 3.2.3.3 Antigenní bílkoviny .....                      | 17        |
| 3.3 VLÁKNINA .....                                     | 17        |
| 3.4 TUKY.....  | 18        |
| 3.5 OLIGOSACHARIDY .....                               | 18        |
| 3.6 TRÍSLOVINY .....                                   | 18        |
| 3.7 MINERÁLNÍ PRVKY .....                              | 19        |
| 3.8 VITAMINY .....                                     | 19        |
| <b>4 VÝZNAM HRACHU .....</b>                           | <b>20</b> |
| 4.1 HRÁCH V LIDSKÉ VÝŽIVĚ.....                         | 20        |
| 4.2 HRÁCH JAKO KRMIVO.....                             | 20        |
| 4.3 DALŠÍ VÝZNAM HRACHU .....                          | 21        |
| <b>5 CHOROBY A ŠKŮDCI HRACHU.....</b>                  | <b>23</b> |
| 5.1 VIROVÉ CHOROBY .....                               | 23        |
| 5.1.1 Výrůstková mozaika hrachu .....                  | 23        |
| 5.1.2 Virus mozaiky svinování listů hrachu.....        | 23        |
| 5.1.3 Virus obecné mozaiky hrachu.....                 | 24        |
| 5.2 CHOROBY ZPŮSOBENÉ OOMYCETY .....                   | 24        |
| 5.3 BAKTERIÁLNÍ CHOROBY .....                          | 24        |
| 5.3.1 Bakteriová spála hrachu .....                    | 24        |
| 5.4 HOUBOVÉ CHOROBY .....                              | 25        |
| 5.4.1 Hnědá skvrnitost hrachu (antraknóza hrachu)..... | 25        |
| 5.4.2 Strupovitost hrachu.....                         | 25        |
| 5.4.3 Padlí .....                                      | 25        |



|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 5.5      | ŠKŮDCI.....  | 26        |
| 5.5.1    | Listopas čárkovaný ( <i>Sitona lineatus</i> ).....                       | 26        |
| 5.5.2    | Kyjatka hrachová ( <i>Acyrtosiphon pisum</i> ).....                      | 26        |
| 5.5.3    | Třásněnka hrachová ( <i>Kakothrips robustus</i> ).....                   | 26        |
| 5.5.4    | Obaleč hrachový ( <i>Cydia nigricana</i> ).....                          | 26        |
| 5.5.5    | Zrnokaz hrachový ( <i>Bruchus pisorum</i> ).....                         | 27        |
| <b>6</b> | <b>VYUŽITÍ METOD GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ VE ŠLECHTĚNÍ HRACHU.....</b>       | <b>28</b> |
| 6.1      | GENETICKY MODIFIKOVANÉ ORGANISMY (GMO).....                              | 28        |
| 6.2      | TRANSGENOZE.....   | 28        |
| 6.2.1    | Transgenoze pomocí bakterií <i>Agrobacterium</i> .....                   | 28        |
| 6.2.2    | Transgenoze pomocí virového vektoru.....                                 | 30        |
| 6.2.3    | Transgenoze přímá.....   | 30        |
| 6.2.3.1  | Mikroinjekce do buněčných jader.....                                     | 31        |
| 6.2.3.2  | Narušení cytoplazmatické membrány.....                                   | 31        |
| 6.2.3.3  | Mikroprojektily.....   | 31        |
| 6.3      | PORUCHY TRANSGENOZE.....   | 31        |
| 6.3.1    | Transkripční inaktivace transgenů.....                                   | 32        |
| 6.3.2    | Posttranskripční inaktivace transgenů.....                               | 32        |
| 6.4      | CHARAKTERISTIKA VYUŽÍVANÝCH TRANSGENŮ.....                               | 32        |
| 6.4.1    | Transgeny pro toleranci k herbicidům.....                                | 32        |
| 6.4.2    | Transgeny pro rezistenci vůči hmyzím škůdcům.....                        | 33        |
| 6.4.3    | Transgeny pro rezistenci k virům.....                                    | 34        |
| 6.4.4    | Transgeny pro změnu obsahu lipidů v semenech.....                        | 34        |
| 6.4.5    | Transgeny pro změnu složení proteinové skladby.....                      | 34        |
| 6.4.6    | Transgeny ovlivňující zrání plodů.....                                   | 34        |
| <b>7</b> | <b>TRANSGENNÍ ODRŮDY HRACHU.....</b>                                     | <b>36</b> |
| 7.1      | POVOLENÉ TRANSGENNÍ ODRŮDY.....  | 36        |
| 7.1.1    | Rezistence k virózám.....  | 36        |
| 7.1.2    | Rezistence k houbovým chorobám a škůdcům.....                            | 37        |
| 7.1.3    | Ovlivnění ukládání zásobních proteinů do semen.....                      | 37        |
| 7.1.4    | Ovlivnění vývoje embrya.....   | 37        |
| 7.2      | DALŠÍ MOŽNOSTI UPLATNĚNÍ TRANSGENOZE U HRACHU.....                       | 38        |
| 7.2.1    | Ovlivnění tvorby hrachového škrobu.....                                  | 38        |
| <b>8</b> | <b>PROBLEMATIKA KOEXISTENCE GMO A KONVENČNÍHO PĚSTOVÁNÍ ROSTLIN.....</b> | <b>40</b> |
| 8.1      | LEGISLATIVA.....   | 40        |
| 8.2      | IZOLACE TRANSGENNÍCH ROSTLIN OD PROSTŘEDÍ.....                           | 41        |
| 8.3      | RIZIKA GMO.....  | 42        |
| 8.3.1    | Rozšíření transgenní rostliny.....                                       | 43        |
| 8.3.2    | Začlenění transgenů do genomu plevelů.....                               | 43        |
| 8.3.3    | Přenos rezistence k antibiotikům.....                                    | 43        |
| 8.3.4    | Rizika rezistence k herbicidům.....                                      | 44        |

|   |                                 |           |
|---|---------------------------------|-----------|
| 8.4   | OSTATNÍ SLABÉ STRÁNKY GMO ..... | 44        |
| <b>ZÁVĚR</b> .....                              |                                 | <b>46</b> |
| <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....          |                                 | <b>48</b> |
| <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> ..... |                                 | <b>55</b> |
| <b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....                     |                                 | <b>57</b> |
| <b>SEZNAM TABULEK</b> .....                     |                                 | <b>58</b> |
| <b>SEZNAM PŘÍLOH</b> .....                      |                                 | <b>59</b> |

## ÚVOD

Přestože je význam luskovin nezpochybnitelný a mimořádně vysoký, jejich osevní plochy neustále klesají. Pokles je způsoben především kolísáním výnosů, potřebou zvýšené agrotechnické péče a nutností ochrany rostlin před řadou onemocnění a škůdců. Navíc není tuzemská produkce luskovin schopna konkurovat dovozu velmi levné sóji z Ameriky a Asie [1].

Luskoviny mají význam nejen ve výživě lidí pro svůj vysoký obsah kvalitních bílkovin, minerálních látek, vitaminů a vlákniny, ale jsou i cennou bílkovinnou složkou krmiv hospodářských zvířat. Zcela nenahraditelné jsou pro zvyšování úrodnosti půdy obohacováním o dusík.

V České republice je dominantní luskovinou hrách, který si přes pokles osevních ploch drží své první místo a tvoří zhruba polovinu spotřeby luštěnin na osobu a rok. Přestože je hrách hlavní pěstovanou luskovinou, pěstuje se na pouhém 1 % orné půdy. Možností, jak zvýšit jeho pěstování a celkovou produkci by mohla být transgenoze, která umožnila v minulosti prudký nárůst produkce sóji.

Česká republika povolila v roce 2010 uvádění GM hrachu do životního prostředí pro účely polních pokusů. Tento GM hrách by měl řešit nejen problémy s četnými virózami, houbovými chorobami či škůdci. Měl by být také schopen ukládat do semen vyšší množství bílkovin a taktéž vývoj embrya by mohl být touto cestou urychlen.

Blízká budoucnost by měla ukázat, zda se genetickou modifikací podaří vyřešit komplikace spjaté s pěstováním hrachu a zda neskýtá umělé zasahování do genomu nedozírné následky.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 HISTORIE PĚSTOVÁNÍ HRACHU

Hrách je jednou z nejstarších kulturních plodin. Nejstarší doklady o pěstování luskovin pocházejí z Předního východu. Byl rozšířen už v mladší době kamenné a bronzové v Malé Asii. V Evropě, v oblasti dnešní Itálie, se vyskytoval v období neolitu. Kolem počátku našeho letopočtu byl při vojenských výpravách Římanů šířen i do oblastí ležících severně od Alp. Původní hrách obsahoval drobná zrna, až následně byl vyšlechtěn hrách velkozrný. Luskoviny se pěstovaly podobně jako obiloviny a konzumovaly se syrové nebo vařené. Sladká nezralá semena se nejprve naučili jíst Holanďané, tento zvyk se následně rozšířil po celé Evropě. Hrách byl pěstován ve dvou formách, s kulatými semeny a o něco více se svažujícími semeny. V 17. a 18. století byl hrách konzumován pouze vyššími vrstvami obyvatel jako lahůdka. Až v 19. století se z hrachu stává rozšířená luštěnina a zelenina. V českých zemích byla oblíbena pučálka, což je naklíčený opražený hrách [2–4].

O původních odrůdách se vedou spory. Govorov se například domníval, že původními druhy byly *Pisum elatius* a *Pisum fulvum*, ze kterých křížením a mutacemi vznikly nynější formy hrachu. Jiný názor zastával Vavilov, podle kterého druhy *P. elatius* Stev., *P. humile* Boiss. a *P. fulvum* Sibth. et Sm. pocházejí z Přední Asie a velkosemenné formy *Pisum sativum* L. z oblasti Středozemního moře. Proto také systematika rodu *Pisum* L. nebyla dlouho jednotná [2–4].



Obr. 1. Hrách setý (*Pisum sativum* subsp. *sativum*) [5]

## 2 BOTANICKÁ CHARAKTERISTIKA

Hrách je jednoletá bobovitá rostlina, která se vysévá obvykle na jaře. Existují však i ozimé formy. Semena klíčí při teplotách kolem 4 °C. Tato luskovina se pěstuje v celém mírném pásmu převážně kvůli svým semenům bohatým na proteiny. Hrách není příliš náročný na půdu, největší výnosy však poskytuje v půdách hlinitých, hlinitopísčitých a písčitohlinitých. Vhodné jsou vápnité půdy s neutrálním nebo mírně kyselým pH. Půdy písčité, těžké, kyselé, kamenité a zamokřené nejsou vhodné. V osevním postupu by neměl být řazen brzy po sobě kvůli možnému přenosu škůdců a chorob. Nejlepší je mírné klima se středními srážkami. Problémem mohou být nároky na vláhu, které jsou zvláště v některých vývojových fázích vyšší než u obilovin. Jeho kořeny se v horní části bohatě větví a mají kulovitý tvar. Rostou středně hluboko. Luskoviny obsahují kořenové hlízky, ve kterých sídlí symbiotické nitrogenní bakterie (rhizobia). Tyto bakterie jsou velmi důležité, protože díky nim je rostlina schopná využít pro svůj metabolismus i molekulární dusík ze vzduchu. Lodyha je různě vysoká (20 až 220 cm) a dutá. Obvykle je lepší pěstovat odrůdy s nižší lodyhou, protože nejsou tak náchylné k poléhání a následnému hnití spodních lusků. Vyšší odrůdy se však doporučuje pěstovat tam, kde je málo vláhy. Vyšší rostlinky dříve zastíní půdu a nedochází tak k jejímu vysychání. Lísky jsou přisedlé, vejčité, oválné s úponky. Květy tvoří zpravidla párové květenství a často mají bílou barvu, existují však i odrůdy s květy barevnými. Hrách se rozmnožuje převážně samosprašením. Semena jsou kulatá nebo svraskalá, žlutá nebo zelená a jsou uložena v rovných, nebo prohnutých luscích, v kterých jsou po třech až jedenácti kusech. Hmotnost semen je podmíněna geneticky, svůj vliv má i prostředí. Vegetační doba je v rozmezí 70 až 140 dní. Hrách má mnoho odrůd. Avšak dominantní odrůdou je hrách setý (*Pisum sativum*). V daleko menším měřítku je pěstován hrách dřeňový, který je oblíbenou zeleninou a využívá se pro chladírenský a konzervářský průmysl [2, 6–8].

### 3 SLOŽENÍ ZRNA

Hrachové zrno je složeno především ze škrobu (46 – 56 %), dusíkatých látek (22 – 28 %), vlákniny (5 – 7 %), tuků (3 %), enzymů, oligosacharidů, tříslovin, minerálních prvků a vitamínů. Složení semen se však liší v závislosti na pěstovaných odrůdách [2].

**Tab. 1. Chemické složení semen hrachu [2]**

| Sušina [%] | Dusíkaté látky [%] | Tuk [%] | Vláknina [%] | Bezdušíkaté látky výtažkové [%] | Popel [%] |
|------------|--------------------|---------|--------------|---------------------------------|-----------|
| 86,6       | 22,7               | 1,9     | 6,0          | 53,5                            | 3,0       |

#### 3.1 Škrob

Škrob je zásobní polysacharid, který se vyskytuje ve formě škrobových zrn. Kulatá semena mají obsah škrobu v rozmezí 31 – 51,5 %, u svařtělých semen je to méně, kolem 18 až 42 %. Základní stavební jednotkou je maltóza, což je disacharid, složený ze dvou glukózových jednotek. Maltóza se spojuje do delších řetězců – amylozy a amylopektinu. Též obsah amylozy a amylopektinu je u kulatých a svařtělých semen různý. V prvním případě je to kolem 40 %, ve druhém případě 85 % amylozy ve škrobu [9].

##### 3.1.1 Amylóza

Amylóza je spirálovitý řetězec D-glukózy, který je rozpustný ve vodě. Řetězec je propojen  $\alpha(1,4)$ -glykozidovými vazbami. Právě amylóza je podobná petrochemickým polymerům a je možné ji vázat se syntetickými vlákny. Proto se lidé snaží vyšlechtit odrůdu s maximálním podílem škrobu a konkrétně amylozy, která by sloužila k získávání biopolymerů ve formě amylozových vláken. Takto by bylo možné získávat ekologičtější polymerní materiály [9].

##### 3.1.2 Amylopektin

Amylopektin je větvený polymer D-glukózy, který se ve vodě nerozpouští, ale bobtná. Bobtnání amylopektinu způsobuje, že škrob gelovatí. Přímé řetězce amylopektinu jsou tvo-

řeny maltózou a uplatňuje se v nich  $\alpha(1,4)$ -glykozidová vazba. Boční větvení je tvořeno izomaltózou a je propojeno  $\alpha(1,6)$ -glykozidovou vazbou [9].

### 3.2 Dusíkaté látky

Většina dusíkatých látek obsažených v hrachovém zrně je zastoupena bílkovinami. Dusíkaté látky nebílkovinné povahy tvoří většinou zanedbatelnou část [2].

#### 3.2.1 Bílkoviny

Bílkoviny obsažené v semenech luskovin jsou rostlinné globuliny. Obsah jednotlivých aminokyselin v bílkovinném řetězci je podmíněn geneticky, a tudíž se může u jednotlivých druhů lišit. Obecně však platí, že v největším množství jsou obsaženy arginin, leucin, lyzin, kyseliny asparagová a glutamová. Naopak obsah histidinu, metioninu, treoninu, tryptofanu a cysteinu bývá nízký [1–2, 10–11].

**Tab. 2. Obsah aminokyselin v proteinovém izolátu hrachu [12]**

| Aminokyselina | Obsah [%]   | Aminokyselina | Obsah [%] |
|---------------|-------------|---------------|-----------|
| Arg           | 8,60        | Val           | 5,19      |
| His           | 1,74        | Asn, Asp      | 11,81     |
| Ile           | 4,73        | Ser           | 5,72      |
| Leu           | 8,79        | Glu, Gln      | 16,54     |
| Lys           | 7,35        | Pro           | 5,49      |
| <b>Met</b>    | <b>1,12</b> | Gly           | 4,09      |
| Phe           | 5,49        | Ala           | 4,34      |
| Thr           | 3,48        | Tyr           | 3,78      |
| <b>Trp</b>    | <b>0,83</b> | Cys           | 0,87      |

#### 3.2.2 Alkaloidy

Alkaloidy jsou dusíkaté látky odvozené od aminokyselin. Nejsou příliš žádoucí kvůli jejich trpké nebo hořké chuti. Alkaloidy jsou v luštěninách obsaženy ve stopových množstvích a značná část se ztrácí úpravou (máčení) [13].



### 3.2.3 Antinutriční látky bílkovinné povahy

Tyto látky jsou nežádoucí, protože brzdí funkce trávicích enzymů. Patří sem např. inhibitory proteáz, lektiny, antigenní bílkoviny [1, 4].

#### 3.2.3.1 Inhibitory proteáz

Inhibitory proteáz jsou polypeptidy či proteiny vytvářející komplexy s proteolytickými enzymy. Enzymy tím ztratí svou aktivitu. Důsledkem je snížení využitelnosti bílkovin [2].

#### 3.2.3.2 Lektiny

Lektiny jsou bílkoviny složené ze dvou až čtyř podjednotek. Na každé této podjednotce je vazebné místo pro sacharid. Lektiny se v trávicím traktu váží na sacharidy přítomné na epitelu tenkého střeva. Velké množství lektinů v potravě způsobuje hypertrofii tenkého střeva, narušení dusíkové bilance, snížení zásob tuků a glykogenu až úbytky hmotnosti u pokusných zvířat. Lektiny tvoří až 20 % bílkovin obsažených v semenech luskovin. Toxické lektiny je možné úspěšně zničit varem [2, 10, 14].

#### 3.2.3.3 Antigenní bílkoviny

Semena luskovin obsahují zásobní bílkoviny s antigenními účinky – leguminy a viciliny. Antigenní bílkoviny jsou bílkoviny odolávající trávicím enzymům, které je nejsou schopny štěpit. Mohou projít střevem v nerozštěpené podobě a vyvolat imunitní reakci. Způsobují zhoršení trávicí a absorpční funkce střev. Dochází k rychlejšímu pohybu tráveniny a průjmům. Tyto komplikace se vyskytují především u mláďat. V nejtěžších případech může dojít ke zpomalení růstu a úhynu mláďat [2, 14].

## 3.3 Vlákna

Vlákna je nestravitelná část rostlinných pletiv, která prochází trávicím ústrojím člověka v nezměněné podobě. Hlavními složkami vlákniny jsou celulóza, hemicelulóza, pektiny, lignin a rostlinné slizy. Vlákna je nezbytnou součástí zdravé výživy, protože reguluje hladinu cukru v krvi, snižuje hladinu cholesterolu v krvi, pomáhá při zácpách, snižuje nadváhu, slouží jako prevence rakoviny tlustého střeva a konečníku. Z důvodu velmi nízkého příjmu

vlákniny v ČR je doporučená denní dávka vlákniny pro dospělého člověka 30 g, takový příjem mají však pouze 2 % české populace [16–17].

### 3.4 Tuky

Obsah tuku je v luštěninách malý, ale cenný, protože tento rostlinný tuk obsahuje 55 – 85 % nenasycených mastných kyselin. Nejvyšší podíl z nenasycených mastných kyselin tvoří kyselina linolová. Obsah kyseliny  $\alpha$ -linolenové je značně nižší. Obsah tuků však velmi závisí na druhu luštěnin, klimatu, půdě a místu pěstování. Tuk může žluknout, a tím způsobit nepříjemnou chuť [1–2, 13].

### 3.5 Oligosacharidy

Semena hrachu obsahují asi 4 % oligosacharidů v sušině – stachyózy, verbaskózy a rafinózy. Obsah oligosacharidů je v luštěninách nežádoucí, přestože slouží jako prebiotika. Lidské trávicí enzymy tyto látky netráví. Ty se následně dostávají až do tlustého střeva, kde jsou štěpeny pomocí střevních bakterií. Tyto bakterie při jejich štěpení produkují značné množství plynů, což způsobuje nadýmání. Obsah oligosacharidů je možné snížit máčením semen ve vodě nebo naklícením. Šlechtěním nových odrůd se obsah oligosacharidů snížit nedaří. Oligosacharidy jsou totiž zdrojem energie pro klíčení nové rostliny, tudíž jsou nepostradatelné. Způsobem jak redukovat jejich množství by mohlo být jejich štěpení pomocí enzymů [1, 16].

Tab. 3. Obsah některých sacharidů v semenech hrachu [% sušiny] [1]

| Rafinóza | Stachyóza | Verbaskóza | Sacharóza |
|----------|-----------|------------|-----------|
| 0,9      | 2,0       | 1,8        | 2,1       |

### 3.6 Třísloviny

Třísloviny jsou látky fenolické povahy, které se vyznačují nepříjemnou svíravou chutí. Třísloviny mohou reagovat s bílkovinami a enzymy, a tím snižovat využitelnost živin potravy. Obsah tříslovin však může být i žádoucí. Taniny obsažené v luštěninách patřící do skupiny tříslovin vykazují vysokou antioxidační aktivitu [2, 18].

### **3.7 Minerální prvky**

Semena hrachu mají 2 až 3 % minerálních prvků, jsou to především draslík, fosfor, vápník a hořčík [2].

### **3.8 Vitaminy**

Hojněji jsou zastoupeny především vitaminy skupiny B (tiamin, riboflavin, niacin, pyridoxal a kys. listová). V čerstvém zeleném hrachu je obsažen též vitamin C a karoteny [1–2, 4, 19].

## 4 VÝZNAM HRACHU

V České republice je hrách dominantní luskovinou, která si i přes pokles osevních ploch drží své první místo. Hrách představuje asi  $\frac{3}{4}$  celkové výměry luštěnin na zrno. Slouží především jako součást výživy lidí a zvířat, má však i jiné využití, které nemusí být pro širokou populaci tak patrné [6].

### 4.1 Hrách v lidské výživě

Semena luštěnin jsou hlavním zdrojem rostlinných bílkovin pro lidi i zvířata. V zemích, kde mají luštěniny svůj původ a v mnoha zemích Afriky je spotřeba luštěnin i v současnosti vysoká, činí až 50 kg na osobu a rok. Ve vyspělých zemích se však luštěniny netěší velké oblibě, výjimkou bývají vegetariáni a lidé preferující podobné alternativní způsoby výživy. Spotřeba luštěnin je v České republice velmi nízká, pohybuje se kolem 2,5 kg/os/rok, z toho 1,2 kg/os/rok tvoří hrách. Podle Společnosti pro výživu je žádoucí spotřebu zvýšit. Luštěniny jsou totiž důležitým zdrojem rostlinných bílkovin, které by ve správné výživě měly tvořit polovinu konzumovaných bílkovin. Dále je většina luštěnin vhodná pro svůj nízký obsah tuku, který má vysokou nutriční hodnotu z důvodu obsahu nenasycených mastných kyselin. Příznivý je také nízký glykemický index, vysoký obsah vlákniny a výskyt některých vitaminů a minerálních prvků. Někteří lidé se konzumací luštěnin vyhýbají kvůli jejich nadýmavosti, tu je však možno velmi snadno omezit. Obsah nadýmavých oligosacharidů se redukuje při klíčení semen. Druhou možností je nechat luštěniny máčet ve vodě. Oligosacharidy tak přechází do vody. Dalším důvodem nižší spotřeby luštěnin je delší doba jejich přípravy. Možností, jak zvýšit konzumaci luštěnin, tedy i hrachu, je několik. Např. zvýšit senzoryckou jakost luštěninových pokrmů, omezení trávicích obtíží, přidavek menších množství luštěnin do jiných pokrmů, výroba luštěninových polotovarů, využití luštěninových mouk k obohacení jiných potravinářských výrobků apod. [1–2, 15, 19–21].

### 4.2 Hrách jako krmivo

Hrách je významnou součástí krmiv pro všechny druhy hospodářských zvířat. Používá se většinou jako zdroj bílkovin v krmných směsích. Šlechtěním nových odrůd bylo možné jeho nutriční vlastnosti zlepšit, a tím také rozšířit jeho uplatnění. Přesto je před použitím důležité optimalizovat obsah limitujících aminokyselin, především sirných [1].

U skotu je možné hrachem zvyšovat obsah dusíkatých látek v krmivu téměř bez omezení. Dusíkaté látky hrachu, a to především po tepelné úpravě, jsou vhodné hlavně pro dojnice. Hrách zvyšuje kvalitu a chuť mléčného tuku, tím samozřejmě i z něj připraveného másla. Ve výkrmu prasat hrách pozitivně ovlivňuje kvalitu špeku i masa. Hrách je vhodný i pro výživu drůbeže, může tvořit až 30 % krmných směsí. V posledních letech se velmi rozšířilo využívání hrachové siláže. Zvířata tak nejsou krmena pouze semeny, nýbrž celou rostlinnou masou [22–23].

Nutriční hodnota hrachu je limitována obsahem antinutričních látek jako jsou lektiny, kyselina fytová, inhibitory trypsinu a taniny. Negativní účinky těchto látek lze podstatně snížit tepelnou úpravou – například extruzí [2, 24].

### 4.3 Další význam hrachu

Význam hrachu nespočívá pouze ve výživě lidí a zvířat, ale existují i mnohá další využití. Luskoviny mají obecně velký agronomický význam. Hrách je důležité pravidelně zařazovat do osevních plánů hlavně tam, kde převládá pěstování obilovin. Hrách má totiž velmi pozitivní vliv na stav a úrodnost půdy. Hrách roste v symbióze s hlízkovými bakteriemi (rhizobiemi), které váží vzdušný dusík. Část vázaného dusíku je vyloučena do půdy, čímž dochází k obohacování půdy o dusík, což má zásadní vliv na úrodnost půdy. Mohutný kořenový systém napomáhá zlepšovat strukturu půdy. Posklizňové zbytky po pěstování hrachu dodávají do půdy další množství uhlíku a dusíku. Hrách svou bohatou listovou plochou zastíňuje plevele, a tím také přirozeným způsobem inhibuje jejich růst. Hrách je schopen získávat špatně přístupné živiny z hlubších vrstev půdy. Protože část takto získaných živin se uvolní do půdy, dochází k jejímu dalšímu zkvalitnění. Hrachová biomasa se také používá jako zelené hnojení, při kterém jsou celé rostliny zaorávány do půdy taktéž s cílem obohacování půdy o důležité živiny [1, 4, 25].

Semena hrachu jsou významným zdrojem škrobu. Přestože se hrachový škrob do pokrmů běžně přidává, častější je použití bramborového, pšeničného či kukuřičného škrobu. Hrachový škrob má však potenciál i jinde než v potravinářství. Je totiž výjimečný pro vysoký obsah amylózy, která tvoří u některých genotypů hrachu 80 – 90 % škrobu. Právě amylóza je velmi cennou surovinou pro výrobu biopolymerů, které mohou mít podobné vlastnosti

jako polyetylen. Jejich nespornou výhodou proti syntetickým polymerům je schopnost přirozeného rozkladu [1, 26].

## 5 CHOROBY A ŠKŮDCI HRACHU

Hrách je nutné chránit před řadou chorob a škůdců, jež mohou způsobit velké ekonomické ztráty pěstitelům. Závažná jsou především virová onemocnění, kořenové a krčkové hniloby. Také mnozí škůdci napadají hrách pro jeho vysokou výživovou hodnotu.

### 5.1 Virové choroby

Rostliny napadené viry jsou oslabené a náchylnější ke kořenovým a krčkovým chorobám. Největší ztráty výnosů nastanou, pokud je rostlina napadena virózou před nebo v období květu [2].

#### 5.1.1 Výrůstková mozaika hrachu

Výrůstková mozaika hrachu je způsobena virem PEMV (Pea enation mosaic virus) ze skupiny RNA virů. Viry PEMV 1 a PEMV 2 se vyskytují ve striktní symbióze a společně způsobují toto onemocnění. Projevuje se světle zelenými až průsvitnými skvrnami na listech a deformací vegetativních vrcholů. Lusky se tvoří zřídka a jsou také deformované. Tento virus se přenáší pomocí mšic [2, 27].



Obr. 2., Obr. 3. Rostliny hrachu napadené virem PEMV [28]

#### 5.1.2 Virus mozaiky svinování listů hrachu

PSbMV (Pea Seed-borne Mosaic Virus) je virus napadající hrách. Projevuje se svinováním listů. Je šířený mšicemi a osivem [2, 29–30].

### 5.1.3 Virus obecné mozaiky hrachu

Virus obecné mozaiky hrachu je označován zkratkou PMV (Panicum mosaic virus) a patří do skupiny RNA virů. Na napadených listech se tvoří žlutě zelená mozaika. Virus šíří mšice [2].

## 5.2 Choroby způsobené oomycety

Původci kořenových hnilob jsou půdní oomycety, které napadají kořenovou kůru. Napadené kořeny postupně odumírají, což se projevuje zastavením růstu rostliny a poklesem výnosů. Půda zůstává zamořena oomycety dalších 6 až 9 let, což je problém, pokud je hrách pěstován opakovaně na stejném místě. Jinými původci kořenových hnilob jsou plísňe rodu *Fusarium*. Cévní svazky jsou ucpany vlákny plísňe a jejími toxiny, což vede k vadnutí a usychání celé rostliny [2].

## 5.3 Bakteriální choroby

### 5.3.1 Bakteriová spála hrachu

Bakteriová spála je způsobena gramnegativními bakteriemi *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*. Projevuje se světle zelenými vodnatými, později tmavými skvrnami na nadzemních orgánech rostliny. Rostliny odumírají, přestože kořeny zůstávají zdravé. Spála se šíří osivem. Výnos se může snížit až o 30 % [2, 31–32].



Obr. 4. Lusky hrachu napadené *Pseudomonas syringae* pv. *pisii* [33]



## 5.4 Houbové choroby

### 5.4.1 Hnědá skvrnitost hrachu (antraknóza hrachu)

Patogenů způsobujících toto onemocnění je více, jedním z nich je patogenní houba *Mycosphaerella pinodes*. Hrách napadený tímto patogenem se projevuje hnědými až černými skvrnami na různých částech rostlin. Zdroji infekce jsou osivo a půda. Výnosy mohou být sníženy až o 50 % [1–2].



Obr. 5. Rostlina hrachu napadená hnědou strupovitostí [34]

### 5.4.2 Strupovitost hrachu

Původcem strupovitosti hrachu je houba *Ascochyta pisi*. Taktéž dochází k antraknóze (skvrnitosti) semen. K přenosu dochází pouze osivem [2].

### 5.4.3 Padlí

V posledních pěti letech se tato choroba značně rozšířila. V chladnějších oblastech se padlí (*Erysiphe pisi*) projevuje bílými povlaky na nadzemních částech rostliny, doba dozrávání je delší a výnosy jsou o 30 až 50 % nižší. V teplejších podmínkách způsobuje hynutí již klíčících rostlin [1–2, 25, 35].

Dalšími houbovými chorobami je např. rez hrachová či plíseň hrachová.

## 5.5 Škůdci

Vedle chorob mohou vážné škody na hospodářském výnosu hrachu způsobit i škůdci, kteří napadají rostliny v různém vegetačním období.

### 5.5.1 Listopas čárkovaný (*Sitona lineatus*)

Listopas je brouk, který se živí okusováním listů hrachu. Snižování listové plochy vede k poklesu výnosnosti semen, a tím k ekonomickým ztrátám. Velmi nežádoucí jsou také larvy tohoto brouka, které vyžírají kořeny a kořenové hlízky. Právě kořenové hlízky jsou domovem symbiotických nitrogenních bakterií, bez kterých rostliny trpí nedostatkem dusíku [1–2].



Obr. 6. Listopas čárkovaný (*Sitona lineatus*) [36]

### 5.5.2 Kyjatka hrachová (*Acyrtosiphon pisum*)

Mšice kyjatka se dá považovat za nejzávažnějšího škůdce hrachu. Napadá vegetační vrcholy, ze kterých saje. Tyto vrcholy následně zasychají. Tato mšice je také nebezpečná tím, že přenáší mnohé virózy [1–2].

### 5.5.3 Třásněnka hrachová (*Kakothrips robustus*)

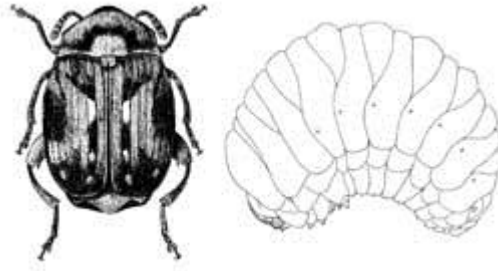
Stejně jako mšice saje na vegetačních vrcholech, květech, poupatech a mladých luscích, čímž se snižuje hmotnost a počet semen [1–2].

### 5.5.4 Obaleč hrachový (*Cydia nigricana*)

Jeho housenky škodí na semenech hrachu. Klíčivost napadených semen se může snížit až o 48 % [1–2].

### 5.5.5 Zrnokaz hrachový (*Bruchus pisorum*)

Larvy napadají semena, což způsobuje nižší klíčivost a výnosové ztráty. Dospělí zrnokazi se živí pyllem, tyčinkami a okvětními lístky. V současnosti se hojně pomnožil a z jižní Moravy se rozšířil do oblasti Hané a Polabí [1–2, 25].



Obr. 7. Zrnokaz hrachový a jeho larva  
(Pea Weevil – *Bruchus pisorum*) [37]

## 6 VYUŽITÍ METOD GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ VE ŠLECHTĚNÍ HRACHU

### 6.1 Geneticky modifikované organismy (GMO)

Dle zákona je geneticky modifikovaný organismus takový organismus, jehož genetická informace byla změněna genetickou modifikací. Tyto genetické modifikace neprobíhají samovolně, ale jsou výsledkem činnosti člověka. Jsou to úmyslně vnesené geny, které dávají organismu vlastnosti, které přirozeně postrádá. Nepotřebné geny jsou naopak cíleně inaktivovány. Pomocí biotechnologií je možné získat organismy odolné vůči škůdcům, chorobám, nepříznivým podmínkám a také organismy s velmi užitečnými vlastnostmi [38–39].

### 6.2 Transgenoze

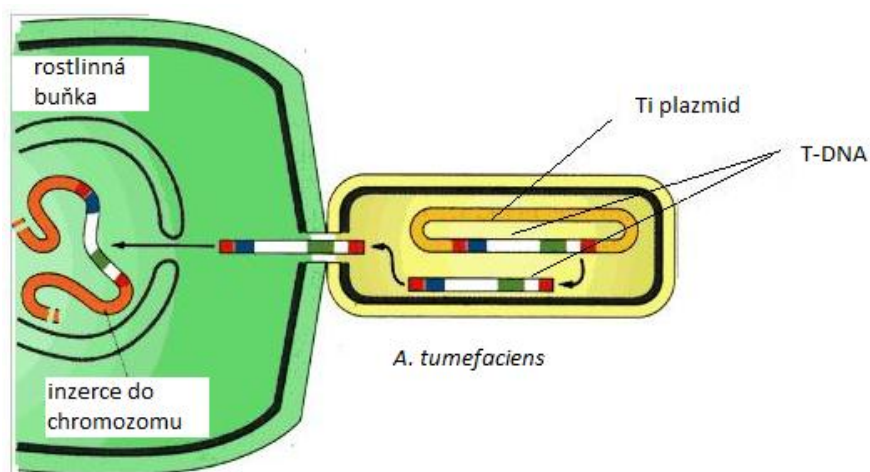
Transgenoze rostlin je metoda genového inženýrství, při které se do rostlinného genomu vnášejí klonované geny obvykle ze vzdálených organismů. Transgenoze má proti klasickému šlechtění mnoho výhod. První z nich je to, že při klasickém křížení dochází i k přenosu nežádoucích genů. Naopak při transgenozí je možné vybrat a následně začlenit pouze konkrétní potřebné části genetické informace s potřebnými geny, které nepodmiňují žádné negativní vlastnosti. Přenášené geny navíc nemusí pocházet ze stejného rostlinného druhu, dokonce mohou být izolovány z bakterií nebo zvířat, čímž se rozsah přenášených znaků velmi rozšiřuje. Metoda transgenoze je také rychlejší než tradiční křížení po několik generací. Křížení blízce příbuzných rostlin má také tu nevýhodu, že potomstvo se oslabuje (podobně jako u živočichů a člověka). Transgenozí vznikají tzv. transgenní organismy. Legislativa však nepoužívá označení transgenní organismy, nýbrž geneticky modifikované organismy (GMO) [38–39].

Transgenoze může být provedena dvěma způsoby. První způsob je pomocí plazmidového nebo virového vektoru. Druhou možností je přímá transgenoze prostřednictvím DNA [38–39].

#### 6.2.1 Transgenoze pomocí bakterií *Agrobacterium*

Fytopatogenní bakterie *Agrobacterium tumefaciens* kmene C58 obsahují dva plazmidy, což jsou útvary v bakteriálních buňkách, které nesou doplňkovou genetickou informaci. Jeden z

plazmidů je označován jako pTiC58 (tumor-inducing), tedy plazmid, který způsobuje v hostitelské rostlině nádor. Na Ti-plazmidu je lokalizována T-DNA (úsek DNA na Ti-plazmidu, jež se integruje do jaderné DNA rostlinných buněk). Kromě T-DNA jsou na Ti-plazmidu umístěny úseky podílející se na přenosu T-DNA z bakteriální do rostlinné buňky. Role druhého plazmidu, označovaného jako pAtC58 není dosud zcela jasná. Pravděpodobně se podílí na dosažení maximální virulence bakterie. Po jeho odstranění jsou bakterie stále patogenní, jimi způsobené nádory jsou však menší nebo se neobjeví vůbec [38–42].



Obr. 8. Transgenoze pomocí *A. tumefaciens* – přenos T-DNA z plazmidu bakterie do rostlinného chromozomu [43]

Schopnost T-DNA začlenit se do buněk rostlin je hojně využívána v procesu transgenoze. Nejprve je zapotřebí odstranit z T-DNA původní onkogeny, které jsou následně nahrazeny zvolenými novými geny. Z původní T-DNA tak zůstanou zachovány pouze krátké hraniční úseky, mezi nimiž se nachází nově vložená T-DNA. Takto upravený plazmid se pomocí enzymů ligáz opět uzavře a následně se včlení zpět do bakteriální buňky. Modifikovaná bakterie se pomnoží a poté se kultivuje společně s rostlinnými buňkami [38–39].

Rostlinné buňky používané pro vnesení transgenů se vyznačují vysokou regenerativní schopností, jsou to pletiva listové čepele nebo kousky stonků. T-DNA z bakterie se integruje do rostlinných buněk (Obr. 8.). Následně se bakterie pomocí antibiotik usmrtí. Rostlinné buňky se přenesou na medium, které je upravené tak, aby na něm byly schopny přežít pouze transgenní buňky. Toto medium současně obsahuje růstové látky, které způsobí, že transgenní rostlinné buňky vytvoří výhony, které se nechají zakořenit [38–39].

Pro izolaci transgenních rostlinných buněk se používají selektovatelné transgeny, které kódují rezistenci k toxickým látkám (např. antibiotikům). Tyto toxické látky se přidávají do živného média, na kterém se kultivují transgenní rostlinné buňky. Toxická látka tak zničí všechny buňky, do kterých nebyly integrovány transgeny. Kultivací izolovaných transgenních buněk se získá nová rostlina, jejíž všechny buňky jsou geneticky modifikovány. Tato metoda však u některých rostlinných druhů není možná. *Agrobacterium* totiž napadá většinou dvouděložné rostliny. S největšími úspěchy byla aplikována na pletiva tabáku *Nicotiana tabacum*. Tímto způsobem je možné integrovat i velké úseky DNA [38–40, 44–46].

### 6.2.2 Transgenoze pomocí virového vektoru

Viry jsou schopny replikace své vlastní DNA v napadeném organismu a právě tato vlastnost je pro vnesení transgenů potřebná. Pro konstrukci vektoru virového typu je nejprve nutné získat virovou DNA. Protože cílem transgenoze není pomnožení viru, ale vnesení transgenů, jsou z virové DNA odstraněny části sloužící k syntéze nových virových částic. Vyjmuté části jsou nahrazeny cizorodou DNA, která kóduje přenášené transgeny. Tato rekombinantní DNA následně vnikne do buňky hostitele. I některé velké virové vektory, které jsou uměle vneseny do virového obalu, vnikají do buněk celkem snadno, protože jsou schopny infikovat organismus stejně jako vir přirozený. Vkládané modifikační geny nejčastěji pocházejí z živých organismů. Mohou však být také uměle syntetizovány podle vzoru přírodních genů [39, 44].

### 6.2.3 Transgenoze přímá

Přímá transgenoze je pro svou univerzálnost nejrozšířenější metodou přenosu genů. Její úspěšnost téměř nezávisí na genotypu akceptoru. Přímá transgenoze znamená, že je přenášena cizorodá DNA přímo bez použití plazmidů nebo virů. Jsou známy různé techniky přímé transgenoze:

- mikroinjekce do buněčných jader,
- narušení cytoplazmatické membrány,
- mikroprojektily [39, 47].

### 6.2.3.1 Mikroinjekce do buněčných jader

Mikroinjekce do buněčných jader jsou formou přímé transgenózy, při níž se aplikují mikroinjekce cizorodé DNA do buněk ve stádiu embryogeneze. Je možné také aplikovat makroinjekce do celých pletiv [39].

### 6.2.3.2 Narušení cytoplazmatické membrány

Pro přímý přenos genů je nejprve nutné odstranit, nebo alespoň narušit cytoplazmatické membrány rostlinných buněk. Plazmatickou membránu je možné destabilizovat pomocí chemických látek, nejčastěji se využívá polyethylenglykol. Je možné ji také narušit použitím elektrických pulsů o vysokém napětí. Při vystavení rostlinných buněk elektrickým impulzům vznikají v plazmatické membráně póry, kterými může DNA vniknout do buňky. Do roztoku s narušenými rostlinnými buňkami se přidá DNA, která pronikne do buněk a inkorporuje se do jaderné DNA rostlinné buňky. U luskovin není tato metoda zatím úspěšná. Další nevýhodou je obtížná regenerace protoplastů [46–47].

### 6.2.3.3 Mikroprojektily

Jiná metoda přímé transgenózy využívá zlaté nebo wolframové mikroprojektily, jejichž velikost je přibližně 2  $\mu\text{m}$ . Tyto mikroprojektily se smísí s roztokem cizorodé DNA. Roztok se nechá odpařovat, až DNA ulpí na mikroprojektilech, které jsou vstřelovány do buněk rostlinného pletiva. Ošetřené pletivo se následně přeneso na médium vhodné pro kalogenezi a selekci transgenních buněk. Pokud bylo zasaženo jádro buňky a tato buňka zásah přežila, pak je možná integrace transgenní DNA do genomu. Vzniklé transgenní buňky začnou na médiu tvořit novou transgenní rostlinu. Použitím vstřelovaných mikroprojektilů se dají přenášet pouze krátké úseky DNA. Tyto krátké úseky často přenáší jen jeden gen [38–39].

## 6.3 Poruchy transgenózy

Při využívání transgenózy může docházet ke ztrátě aktivity transgenů. V tomto případě genom plodin transgeny obsahuje, přesto plodiny nejeví jimi kódované vlastnosti. Vnesený transgen může být inaktivován ihned nebo svou aktivitu ztrácí postupně. Vyskytují se také situace, při kterých neztratí aktivitu pouze transgen, ale i rostlinný gen s ním homologní. Ztráta aktivity genů se však netýká pouze vnesených transgenů, podobné jevy se vyskytují

téměř u všech organismů. Průměrně je v pletivech aktivní přibližně čtvrtina genů, ostatní jsou označeny jako „spící geny (silent genes)“ [39].

### **6.3.1 Transkripční inaktivace transgenů**

Při transkripční inaktivaci transgenů vůbec nedochází k jejich transkripci. Což je značnou komplikací, protože i když se podařilo do plodiny transgeny vpravit, nejsou vůbec přepisovány do struktury mRNA, a z toho důvodu plodina nedisponuje žádnými novými vlastnostmi. Tato inaktivace může být důsledkem integrace mnohonásobných a přeskupených kopií do jednoho místa genomu. Vyskytuje se také v případech, kdy je jeden lokus transgenů natolik dominantní, že potlačuje ostatní lokusy [39].

### **6.3.2 Posttranskripční inaktivace transgenů**

Posttranskripční inaktivace způsobují většinu inaktivací transgenů. Pravděpodobně je posttranskripční inaktivace spojena s překročením určité maximální tolerované hladiny odpovídajícího typu mRNA v buňkách. Pokud je odpovídajícího typu mRNA příliš, začne se tvořit aberantní RNA. Aberantní RNA je tvořena krátkými úseky RNA, které jsou homologní k umlčované mRNA. Fragmenty aberantní RNA se naváží na mRNA, následně dojde ke spojení s proteiny a degradaci RNA. Tato regulace je u rostlin nejspíš příčinou odolnosti k virovým onemocněním [39].

## **6.4 Charakteristika využívaných transgenů**

Existuje široká škála transgenů, které by se daly potenciálně využít pro genetickou modifikaci. Dosud se však do praxe podařilo uvést jen některé z nich. Těmi nejdůležitějšími transgeny, které již našly své uplatnění, jsou geny pro rezistenci k herbicidům, hmyzím škůdcům a virům. V menší míře se vnášejí transgeny, které jsou schopny měnit obsah lipidů v semenech, zastoupení aminokyselin v proteinech či ovlivnit zrání plodů. U různých plodin je však záměr genetické modifikace odlišný, a tudíž se liší i uplatňované transgeny [39].

### **6.4.1 Transgeny pro toleranci k herbicidům**

Na polích rostou běžně vedle kulturních plodin různé plevely, vůči kterým je nutno se bránit. Nejčastější ochranou proti plevelům jsou pesticidy, konkrétně herbicidy. Pěstování transgenních plodin tolerantních k herbicidům umožňuje snížení dávek herbicidů, které se



aplikují preventivně do půdy. Pole transgenních rostlin je totiž možno stříkat vůči plevelům až „na list“, což je výhodné, protože se dávky herbicidů přizpůsobí skutečnému počtu a druhu plevelů. Pesticidy jsou tedy používány jen tehdy, když je jich třeba. U transgenních rostlin se také aplikují nové šetrnější pesticidy, jež jsou snadněji odbouratelné, a tudíž šetrnější pro životní prostředí, zemědělce i konzumenty [39, 46].

V zemědělství se používá mnoho různých druhů herbicidů. Příkladem může být tzv. Roundup (účinná látka – glyfosát), jehož účinek spočívá v inhibici enzymu 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát (EPSP) syntázy. Při pěstování transgenních plodin je možné ošetřit celou pěstivatelskou plochu tímto herbicidem, a zatímco herbicid zničí všechny plevele, transgení rezistentní plodina zůstane nedotčena. Pro rezistenci k tomuto herbicidu existují tři typy transgenů. První typ transgenů podmiňuje nadprodukcí tohoto enzymu. I po navázání glyfosátu na enzym tak zůstane dostatečné množství tohoto enzymu pro katalytickou aktivitu. Druhý typ transgenů kóduje syntézu modifikovaného EPSP enzymu, který je ke glyfosátu tolerantní. Třetí typ transgenů podmiňuje syntézu enzymu, jež je schopen metabolizovat daný herbicid, a tím ho degradovat [39, 46].

Tato transgenoze byla použita u řepky olejky, sóji, kukuřice a bavlníku [38].

#### **6.4.2 Transgeny pro rezistenci vůči hmyzím škůdcům**

Hmyz je schopen zničit značnou část výnosů kulturních plodin. Často se proti němu bojuje insekticidy, jež mohou být jedovaté jak pro živočichy, tak i člověka. Transgenoze nabízí způsob jak ochránit plodiny i bez použití těchto jedů [39, 46].

Bakterie *Bacillus thuringiensis* produkuje různé druhy toxinů, které mají insekticidní účinek na nejrůznější druhy hmyzu. Geny pro syntézu Bt-toxinů se naklonují a začlení do genetické informace rostlin, čímž vznikne transgení rostlina jedovatá pro daný druh hmyzu. Lidem a ostatním organismům Bt-toxiny neškodí, tudíž je transgení rostlina požitelná [39, 46].

Bakterie však nejsou jediné organismy s obranným mechanismem vůči hmyzu. Například některé rostliny jsou schopny produkovat antimetabolické proteiny, které narušují trávení hmyzu. Těmito antimetabolickými proteiny mohou být inhibitory proteáz a amyláz, jež naruší trávení hmyzu natolik, že dochází k jeho úhynu [39, 46].

Insekticidní geny, které je možné využít jako transgeny pro modifikaci kulturních rostlin, se vyskytují u mnoha druhů rostlin a bakterií [39].

Tento typ genetické modifikace byl doposud uplatněn u brambor, kukuřice a bavlníku [38].

### 6.4.3 Transgeny pro rezistenci k virům

Rostliny mohou trpět různými virovými chorobami, které zničí asi 15 % sklizně. Kromě toho, že jsou oslabovány virem, jsou navíc náchylnější k různým bakteriálním a houbovým infekcím. Produkty z napadených rostlin tak mohou být zdrojem karcinogenů, které produkuje některé plísňe [39, 46].

U současných transgenních odrůd je hlavním mechanismem obrany proti virům vnesení genu pro plášťový protein viru do rostlin. Vnesením tohoto genu je rostlina chráněna až proti 80 % fytopatogenních virů. Pokud je totiž rostlina napadena málo virulentním virem, je chráněna před virulentnějšími příbuznými kmeny daného viru. Plášťový protein chrání buňku různými mechanismy. Jedním z mechanismů je vazba plášťového proteinu na specifický faktor nutný k rozbalení plášťového proteinu viru. Tato vazba má za důsledek menší rozbalování virových částic. Jiným mechanismem rezistence je interakce transgenu plášťového proteinu s jaderným inkluzním proteinem b, který je replikačním proteinem [39, 46].

Rezistentní proti virům jsou transgenní odrůdy brambor, tykve či papáji [38].

### 6.4.4 Transgeny pro změnu obsahu lipidů v semenech

Pomocí transgenozy je možné ovlivnit spektrum mastných kyselin v rostlinných olejích. Obsah jednotlivých mastných kyselin je měněn především u řepky. Pro průmysl má velký význam transgenní řepka se zvýšeným obsahem kyseliny erukové, která se využívá pro výrobu mazadel. Pro potravinářský průmysl je výhodný zvýšený obsah kyseliny palmitové pro produkci emulgovaných tuků [39].

### 6.4.5 Transgeny pro změnu složení proteinové skladby

Cílem těchto transgenů je zvýšit syntézu nedostatkových (limitujících) aminokyselin a proteinů, které tyto nedostatkové aminokyseliny ve větší míře obsahují [39].

### 6.4.6 Transgeny ovlivňující zrání plodů

Tento způsob transgenozy umožňuje pozitivně ovlivnit kvalitu ovoce a zeleniny během transportu a skladování. Rajčata byla první transgenní plodinou dostupnou na trhu.

Transgenozí bylo u nich dosaženo zvýšené trvanlivosti plodů. Vnesený transgen vede ke snížení exprese původního genu pro polygalakturonázu, což je enzym, který hydrolyzuje pektiny. Tímto způsobem se docílí toho, že se rajčata pro transport nemusí předčasně sklízet, protože si svou pevnou strukturu udrží i ve stádiu zralosti. Transgenní odrůdy rajčat jsou méně napadány bakteriálními a houbovými chorobami [39, 46].

## 7 TRANSGENNÍ ODRŮDY HRACHU

V případě hrachu se transgenozе uplatňuje především jako účinná ochrana před virózami, houbovými chorobami a škůdci. Dále se vnášenými transgeny upravuje ukládání zásobních proteinů do semen hrachu a vývoj embrya. Transgenozе však nabízí širokou škálu uplatnění, a proto se do budoucna uvažuje např. o možnosti ovlivnění poměru amylozy a amylopektinu v hrachovém škrobu [51–52].

### 7.1 Povolené transgenní odrůdy

Doposud povolené odrůdy jsou modifikovány s cílem zvýšit odolnost vůči virózám, chorobám a škůdcům. Dále slouží ke zvýšení obsahu proteinů v semenech a urychlení vývoje embrya. Ke zmíněným genetickým modifikacím bylo vybráno devět kultivarů hrachu – Adept, Herold, Komet, Menhir, Frisson, Caméor, Merkur, Raman a Zekon. Transgenozе je schváleno provádět pomocí bakterií *Agrobacterium tumefaciens*. Účelem uvádění transgenního hrachu do životního prostředí je prozatím posoudit prostřednictvím polních pokusů jeho biologické a šlechtitelské charakteristiky. Zkoumání je zaměřeno především na přenos transgenů na potomstvo, expresi transgenů v polních podmínkách, odolnost rostlin vůči stresům, stabilitu fenotypových projevů a bezpečnost vůči životnímu prostředí. U linií s transgeny *cpPEMV* a *cpPSbMV* je sledována rezistence vůči virózám, linie s transgeny *gmSPI-2* jsou posuzovány z hlediska náchylnosti k houbovým chorobám a škůdcům, u linií *Dof*, *LIL* se pak zhodnotí především výnosové parametry [51–52].

#### 7.1.1 Rezistence k virózám

Virová onemocnění způsobují u hrachu četné škody, proto jsou do hrachu vnášeny transgeny s úkolem bránit rostliny před těmito onemocněními. V současné době jsou prováděny pokusy s odrůdami rezistentními k viru výrůstkové mozaiky hrachu a viru svinování listů hrachu. Rezistence se dosahuje vnášením genů plášťových proteinů jednotlivých virů. Rostlina obsahující ve svém genomu transgen pro plášťový protein viru vytváří tento virový protein po většinu svého vegetačního období, na rozdíl od klasické rostliny, která začne tento protein syntetizovat až po napadení virem a pomnožení jeho nukleové kyseliny, tedy v okamžiku, kdy má dojít k obalení virové NK kapsidou. V důsledku popsaného jevu dochází u GM hrachu k předčasnému uzavírání neúplné nukleové kyseliny viru do kapsidy a tedy ke

tvorbě nefunkčních virových částic. Pro ochranu rostliny před výrůstkovou mozaikou hrachu (PEMV) je do T-DNA na Ti-plazmidu *Agrobacterium tumefaciens* včleněn gen pro plášťový protein viru výrůstkové mozaiky hrachu (*cpPEMV*). Takto upravená T-DNA s plášťovým proteinem viru se včlení do genomu rostlinné buňky. Pro rezistenci ke svinování listů hrachu (PSbMV) je tímto způsobem vnesen gen pro plášťový protein viru svinování listů hrachu (*cpPSbMV*) [51–53].

### 7.1.2 Rezistence k houbovým chorobám a škůdcům

Princip zvýšení rezistence transgenního hrachu k houbovým chorobám a škůdcům spočívá ve vnesení transgenů pro inhibitor proteáz (*gmSPI-2*). Transgenní hrách následně syntetizuje tyto látky, které se v trávicím traktu požíravého hmyzu naváží na jeho proteolytické enzymy, a tím způsobí jejich inaktivaci. Inaktivace proteáz vede ke hladovění až úhynu těchto škůdců. Přenášené geny pocházejí ze zavíječe voskového. Pomocí experimentů byly prokázány také fungistatické a bakteriostatické účinky těchto genů. Jako zdroj genů pro inhibitory proteáz je využíván také tabák. Do transgenního hrachu jsou úspěšně začleňovány také geny, které kódují inhibitory  $\alpha$ -amylázy. Tyto geny pocházejí z fazolí (*Phaseolus vulgaris*) a jsou účinným nástrojem ochrany hrachu před hmyzími škůdci, jako jsou zrnokaz hrachový, skvrnitý či čínský [51, 54–55].

### 7.1.3 Ovlivnění ukládání zásobních proteinů do semen

Do genomu hrachu je možné vnášet také genové sekvence *Dof* pocházející z různých rostlinných druhů pro ovlivnění množství ukládaných zásobních proteinů. Tímto způsobem je tedy možné zvyšovat nutriční hodnotu a výnos transgenních linií hrachu [51, 56].

### 7.1.4 Ovlivnění vývoje embrya

Další uplatňovaná genetická modifikace se týká urychlování vývoje embrya. Vnášené genové sekvence *LIL* podílející se na vývoji embrya mohou pocházet z různých rostlinných druhů. Pomocí této transgenózy je možné dosáhnout rychlejší zralosti (ranosti) transgenního hrachu [51].

## 7.2 Další možnosti uplatnění transgenozy u hrachu

### 7.2.1 Ovlivnění tvorby hrachového škrobu

Metody transgenozy umožňují také ovlivnit chemické složení hrachu, a tím ovlivnit jeho technologické vlastnosti.

Cílem ovlivňování tvorby hrachového škrobu je vyšlechtit hrách, který bude mít vysoký obsah škrobu s vysokým podílem amylozy a nízkým podílem amylopektinu. Hrách s co možná nejvyšším obsahem amylozy je šlechtěn pro výrobu biopolymerů, které by byly šetrnější k životnímu prostředí pro jejich odbouratelnost. K tomuto šlechtění je jednoznačně vhodnější hrách se svařtělými semeny, jehož některé genotypy mají podíl amylozy ve škrobu kolem 80 - 90 %. Komplikací však je jeho poměrně nízký obsah škrobu v semenech [57].

Gen podmiňující tvar semene je značen R. RR jsou kulatá semena (hrách zrnový) a rr jsou svařtělá semena (hrách dřeňový). Bylo zjištěno, že tento gen neovlivňuje pouze tvar semen, ale i tvar škrobových zrn, obsah škrobu v semenech a podíl amylozy ve škrobu. Expresí genu r má za následek nízký obsah škrobu (pouhých 35 %), nárůst obsahu bílkovin (26 %) a tuku (3,5 %). Gen rb způsobuje sekundární svařtění semen a mění podíl škrobu v suchých semenech. Obsah škrobu je redukován až na 36 %, kdežto podíl bílkovin a tuku roste. Mutace rb lokusu zapříčiňují přírůstek podílu amylopektinu (77 %) na úkor podílu amylozy (pouze 23 %). Pokud dojde k mutaci obou lokusů (r a rb) současně, výsledkem jsou svařtělá semena s obsahem škrobu pouhých 24 % [57].

Podle Kooistry se na syntéze hrachového škrobu podílí dva geny Ra a Rb. Dominantní geny (Ra, Rb) kódují kulatá semena s vysokým podílem škrobu (45 až 55 %). Genotypy raraRb či Rarbrb mají svařtělá semena a střední obsah škrobu (30 až 35 %). U recesivních homozygotů (rararbrb) je obsah škrobu ve svařtělých semenech redukován na minimum (20 až 25 %). Zatímco gen Ra snižuje podíl amylozy (o koeficient 0,57), gen Rb má za následek nárůst podílu amylozy (o koeficient 1,53). Podle těchto předpokladů by genotyp raraRbRb obsahoval až 91,8 % amylozy ve škrobu. Avšak obsah škrobu u tohoto genotypu by nepřekročil 35 %. Za těchto předpokladů by bylo získání hrachu s kulatými semeny, vysokým obsahem škrobu a amylozy nedosažitelné [57].

U Mendelem studovaných genotypů hrachu byla zjištěna mutace genové lokalizace pro alelu RR (kulatá semena), případně pro alelu rr (svařtělá semena), která způsobila výpadek párů

bází, které kódují větvicí enzym SBEI (Starch–Branching Enzyme Isoform). Tato spontánní mutace, jež je předpokladem pro zvýšenou syntézu amylozy u svraštělých semen, je poměrně stabilní. Avšak syntéza amylopektinu je pro tvorbu škrobu mnohem účinnější než syntéza amylozy. Z toho důvodu hrách s převahou amylozy (svraštělá semena) nemůže dosahovat takový podíl škrobu jako hrách s převahou amylopektinu (kulatá semena) [46, 57].

## 8 PROBLEMATIKA KOEXISTENCE GMO A KONVENČNÍHO PĚSTOVÁNÍ ROSTLIN

Pěstování transgenních plodin podléhá specifickým pravidlům, která se označují jako pravidla koexistence.

Základními pravidly jsou:

- informovat sousední pěstitele o záměru vysetí transgenní plodiny,
- informovat sousední pěstitele, Ministerstvo zemědělství a Ministerstvo životního prostředí o skutečném vysetí transgenní plodiny,
- dodržovat izolační vzdálenost mezi transgenními plodinami a netransgenními plodinami stejného druhu,
- označit produkt jako geneticky modifikovaný organismus,
- zaznamenávat údaje o GMO a uchovávat je alespoň 5 let [48].

### 8.1 Legislativa

Pěstování transgenních plodin je na území Evropské unie ošetřeno mnoha bezpečnostními opatřeními ukotvenými v právních předpisech. Veškeré transgenní odrůdy jsou podrobeny důkladné analýze rizika, a poté schváleny Ministerstvem životního prostředí po projednání s ČK GMO (Česká komise pro nakládání s GMO a genetickými produkty, poradní orgán ministerstva). S vydáním povolení musí souhlasit také Ministerstvo zdravotnictví a Ministerstvo zemědělství. Bohužel ani nejdůslednější analýzy rizik nestačí k odhalení vlivů transgenního zemědělství v budoucnosti [48–49].

Legislativa týkající se pěstování GM plodin na území ČR podléhá těmto právním předpisům:

- Zákon č. 78/2004 Sb. o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady 1830/2003 o zpětné sledovatelnosti a označování geneticky modifikovaných organismů a zpětné sledovatelnosti potravin a krmiv vyrobených z geneticky modifikovaných organismů



- Vyhláška 89/2006 Sb. o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy
- Zákon č. 252/1997 o zemědělství [48–49]

## 8.2 Izolace transgenních rostlin od prostředí

Při práci s transgenními organismy je nutné dbát některých bezpečnostních opatření. Jedním z nich je izolace nových transgenních rostlin od vnějšího prostředí a následné zavádění do vnějšího prostředí za současného pozorování. Nejzásadnější význam má zabránění šíření pylu a semen. Proto se vždy před transportem transgenních rostlin odstraňují reprodukční orgány (např. květy, plody, hlízy) [39, 50].

Izolace se zabezpečuje pomocí tří typů bariér:

- fyzikální – stěny, oplocení,
- chemické – dezinfekce, sterilizační chemické prostředky (hubení transgenních mikroorganismů),
- biologické – pylová sterilita, terminátorový systém (zabránění klíčivosti semen v následující generaci) [39, 50].

Pokud je transgen určen pro šlechtění rostlin, musí projít čtyřmi fázemi:

- 1) v laboratoři, kultivační místnosti,
- 2) v izolačním skleníku,
- 3) malý polní pokus,
- 4) polní podmínky [39, 50].

Při první fázi se pracuje v prostorách, které splňují požadavky bezpečné práce s geneticky modifikovanými mikroorganismy první skupiny rizika a transgenními rostlinami. Předpokládá se vyloučení úniku biologického materiálu s rekombinantní DNA. Proto se autoklávuje veškeré sklo a nástroje, které byly ve styku s tímto materiálem. Bezpečnostní opatření pro první stupeň rizika jsou podobná jako pro laboratoře lékařské mikrobiologie. Požadavky na přísnější bezpečnostní opatření jsou nutná při vyšších stupních rizika (druhý až čtvrtý stupeň). Třída rizika se zvýší například, když vektorový plazmid obsahuje sekvenci rostlinného viru nebo patogenní bakterie [39, 50].

Při práci v izolačním skleníku je opět nutné splňovat bezpečnostní opatření podle stupně rizika. Stupeň rizika se odvíjí podle charakteru transgenních rostlin a vlastních transgenů. Obecně by však izolační skleník měl sloužit jako účinná ochrana před únikem transgenních rostlin a jejich částí. Nutné je znemožnění úniku semen a pylu. Je třeba zabránit přístupu hmyzu, který by mohl transgenní pyl rozšířit [39, 50].

České zákony od sebe neodlišují malé a větší polní pokusy, obojí je označeno jako uvolnění do prostředí. V zahraničí se však obě fáze od sebe oddělují a existují mezi nimi některé rozdíly. Na rozdíl od předešlých fází pokusů v laboratoři a ve skleníku, kde bylo možné transgenní rostliny velmi dobře izolovat, zde již případnému riziku úniku není možno zcela zabránit. Z toho důvodu i malé polní pokusy schvaluje Ministerstvo životního prostředí. Při malém polním pokusu je pečlivě sledováno uvolnění transgenních rostlin do prostředí, a zároveň je možné případné negativní vlivy eliminovat. Většinou se za malý polní pokus považuje pěstování méně než 200 rostlin. Rostliny jsou ošetřovány spíše ručně a zbytky jsou zneškodněny spálením. Přenosu pylu se zabráňuje izolačními vzdálenostmi od nejbližších rostlin stejného druhu, které závisejí na křížitelnosti příslušné plodiny (pro cizosprašné plodiny jsou požadovány větší vzdálenosti). Nejméně následující rok po ukončení pokusu se sleduje případné přežívání transgenních rostlin. Pozemek je oddělen od prostředí plotem a označen. Je vhodné, aby bylo kolem transgenních rostlin pásmo netransgenních rostlin téhož druhu (pufrová zóna), s kterými je nakládáno, jako by byly transgenní [39, 50].

Aby byla transgenní rostlina schválena pro pěstování ve velkém polním pokusu, musí být vydáno povolení Ministerstva životního prostředí. Povolení se vydává na základě vyhodnocení předchozích pokusů s transgenní odrůdou v malém polním pokusu. Pokud však dojde k nepříznivým vlivům transgenních rostlin, je pěstitel povinen tuto událost hlásit státním orgánům. Cílem předběžných polních pokusů je ubezpečit se o funkci transgenů za daných podmínek. Objevují se totiž odlišnosti v expresi transgenů v různých letech a zemích [39, 50].

### 8.3 Rizika GMO

S přenosem genů mezi organismy souvisí celá řada potenciálních rizik. Všechna potenciální rizika je třeba posoudit, a pokud se zhodnotí jako reálná, je třeba navrhnout řádná bezpečnostní opatření.

### 8.3.1 Rozšíření transgenní rostliny

Transgenní rostlina by se na základě své nové vlastnosti a jejích výhod mohla stát invazivní a rozšířit se jako plevel. Tato nová invazivní rostlina by byla schopna utlačovat ostatní rostliny, což by také mohlo mít velmi negativní vliv na biocenózu [38, 49].

### 8.3.2 Začlenění transgenu do genomu plevelů

Pyl z transgenní rostliny by mohl opylovat planou rostlinu příbuzného druhu nebo systematicky příbuzný plevel. Potomstvo opylované rostliny by pak neslo vlastnost transgenní rostliny. Při začlenění genu pro odolnost k určitému herbicidu by pak nebylo možné plané rostliny tímto herbicidem zničit a při použití jiného herbicidu by byly zahubeny i kulturní rostliny. Riziko se dá eliminovat, pokud je transgen vložen do DNA plastidu, nikoliv do jaderné DNA. Včlenění transgenu do plastidů má dvě výhody. Transgen není obsažen v pylu transgenní rostliny a požadovaného proteinu se syntetizuje větší množství, protože buňky obsahují plastidů velké množství [38, 46, 49, 59].

### 8.3.3 Přenos rezistence k antibiotikům

Pro selekci buněk, do kterých byl transgen úspěšně včleněn, jsou často využívány geny pro rezistenci k antibiotikům (selektovatelné geny). Transgenozí ošetřená pletiva jsou kultivována na živných půdách s obsahem příslušného antibiotika, což zajistí růst a množení pouze transgenních buněk. Vkládané transgeny kódují enzym, který je schopen příslušná antibiotika inaktivovat. Používání těchto selektovatelných genů má však mnoho odpůrců. Toxicita kódovaného enzymu nebyla zaznamenána. K inaktivaci perorálně podaných antibiotik je kromě příslušného enzymu potřebná také energie ve formě ATP (adenosintrifosfát), která se v trávicím traktu vyskytuje v nízké koncentraci. Inaktivující enzym je navíc v trávicím traktu rychle rozštěpen. Při pokusech nebyly zjištěny nepříznivé vlivy. Další obavou je začlenění transgenu do genomu bakterií v trávicím traktu, a tedy vznik bakteriálních kmenů rezistentních k určitému antibiotiku (ATB). S potravou však člověk běžně přijímá i bakterie rezistentní k některým ATB. Navíc střevní bakterie nejvíce osídlují tlusté střevo a DNA s geny je většinou štěpena již v žaludku a tenkém střevě. Vznik nových rezistentních kmenů bakterií touto cestou je tedy velmi nepravděpodobný. Taktéž přenos genů mezi rostlinným a bakteriálním genomem nebyl dosud dokázán [46, 49, 60].

### 8.3.4 Rizika rezistence k herbicidům

Výhodou pěstování transgenních odrůd rezistentních k herbicidům je možnost náhrady klasických herbicidů za nové šetrnější druhy. První potenciální hrozbou jsou negativní účinky herbicidu a jeho metabolitů. Aby nedocházelo k negativnímu ovlivňování zdraví lidí či zvířat, je každý herbicid před uvedením na trh pečlivě testován. Dalším rizikem mohou být toxické nebo alergenní účinky transgenem kódovaného proteinu či vedlejších produktů aktivity tohoto proteinu (enzymu) [46, 49, 59].

## 8.4 Ostatní slabé stránky GMO

Vzhledem k rizikům spjatým s pěstováním GMO jsou jejich pěstitelé nuceni řídit se celou řadou pravidel, která pro ně bohužel často znamenají zvýšené náklady. Bezpečnostní opatření jim mnohdy komplikují práci a celou situaci ještě zhoršuje odpor spotřebitelů ke GMO [58].

Prvotním problémem je osivo. Ceny transgenního osiva jsou v porovnání s cenami tradičního osiva relativně vysoké a navíc je nutné transgenní osivo nakupovat opakovaně při každém dalším výsevu. Transgenní plodiny jsou totiž ošetřeny tak, aby bylo zamezeno jejich přirozenému rozmnožování. Kdežto u konvenčních odrůd si zemědělci ponechají osivo z předešlé úrody [58].

Začínají se také vyskytovat komplikace s nesprávnou zemědělskou praxí. V některých oblastech USA se objevila rezistence určitých řádů hmyzu vůči transgenním odrůdám odolných k hmyzím škůdcům. Příčinou však nejsou biotechnologie, ale chování pěstitelů. Zemědělci si zvykli pěstovat GM kukuřici i v oblastech, kde se zavíječ kukuřičný obvykle nevyskytuje, a to z důvodu vyšších výnosů. Také se identické transgenní rostliny často pěstují každoročně na stejných místech, což indukuje vývoj rezistentního hmyzu [58].

Velmi omezující je také v Evropě platná legislativa, která povoluje pěstování jen několika GM odrůd. Tento fakt výrazně ovlivňuje především mezinárodní trh s krmivem, který je zužován velmi dlouhým procesem schvalování nových transgenních odrůd v Evropě. Z toho důvodu je na našem kontinentě dosud povolena pouze část transgenních krmiv, která se používají za hranicemi Evropské unie. Dodávky krmiv jsou často vráceny do zemí původu z důvodu v Evropě dosud neschválených příměsí. Chovatelé dobytka trpí zvýšenými nákla-

dy na nákup schválených krmiv a také zvýšenou administrativou vyplývající z právních předpisů [58].

Trh s GMO je v současné době ovládán jen několika málo velkými podniky, které se na toto odvětví specializují již dlouhou dobu a mají finanční zázemí. Malým a středním firmám vstup do odvětví znemožňují především velmi vysoké vstupní náklady, patentový systém, licence a zajištění kvalifikovaných pracovníků. Kvůli nízké konkurenci v tomto odvětví se velkým podnikům daří držet ceny potravin a krmiv relativně vysoké [58–59].

Zásadní význam pro rozvoj oblasti genového inženýrství má široká veřejnost. Většinový negativní postoj ke konzumaci potravin obsahujících GMO je významnou překážkou pěstování transgenních odrůd ke komerčnímu využití. Odpor spotřebitelů je často spjat s neznalostí problematiky genového inženýrství. Zvýšit vzdělanost široké populace v tomto složitém odvětví vědy však není vůbec jednoduchým úkolem [59].

## ZÁVĚR

Hrách je velmi kvalitní potravinou dodávající lidem cenné rostlinné bílkoviny, nenasycené mastné kyseliny, minerální látky, vitaminy a nepostradatelnou vlákninu. O blahodárném vlivu vlákniny jako prevenci některých civilizačních chorob není pochyb. Dále je velmi příznivý nízký glykemický index hrachu, který udává, že tato potravina zvyšuje hladinu glukózy v krvi pomalu a postupně, proto je vhodná i pro zařazení do redukčních diet. Z těchto důvodů je hrách důležitou součástí zdravého jídelníčku, na který je v současnosti kladen velký důraz. Především v ČR, kde je výskyt rakoviny tlustého střeva a jiných civilizačních onemocnění velmi častý, by lidé měli zvážit zvýšení konzumace kvalitních rostlinných bílkovin na úkor především uzenin a jiných tučných masných výrobků. Přestože rostlinné bílkoviny nejsou zcela plnohodnotné, jejich vhodnou kombinací mohou i lidé vyhýbající se konzumaci masa dosáhnout optimálního zastoupení všech esenciálních aminokyselin ve stravě.

Pěstitele hrachu se však musejí potýkat s četnými virovými chorobami, jako jsou výrůstková mozaika hrachu, mozaika svinování listů hrachu či obecná mozaika hrachu. Kromě virů způsobují choroby také bakterie a plísně. Závažná jsou především bakteriová spála hrachu, antraknóza hrachu či padlí.

Pokles výnosů však nemusí být způsoben pouze chorobami. Další komplikací při pěstování hrachu znamenají škůdci, jakými jsou listopas čárkovaný, kyjatka hrachová nebo zrnokaz hrachový.

Způsobem jak zajistit stabilní výnosy hrachu může být kromě klasického šlechtění genetická modifikace. GM hrách byl vyšlechtěn především pro rezistenci k virózám, houbovým chorobám a škůdcům.

Genetická modifikace je prováděna pomocí plazmidů bakterií *Agrobacterium tumefaciens*. Do plazmidu jsou začleněny přenášené geny a po napadení plodiny touto bakterií se geny z jejího plazmidu začlení do genomu rostliny.

Metody zvyšování rezistence transgenních plodin jsou různé. Často se používá vnášení genů pro plášťový protein viru či geny pro inhibitory proteáz. Vnesením genů pro plášťový protein viru se zvyšuje rezistence vůči virózám a syntéza inhibitorů proteáz potlačuje škůdce.

Genetická modifikace však nemusí sloužit pouze ke zvyšování odolnosti hrachu. Může být také účinným nástrojem jak zvýšit nutriční hodnotu hrachu. Proteiny hrachu mají bohužel

nedostatek některých aminokyselin, především sirných, a tudíž nejsou zcela plnohodnotné. Právě genetickou modifikací je možné ovlivnit nejen množství proteinů ukládaných do semen, ale i jejich aminokyselinovou skladbu. Plnohodnotná hrachová bílkovina, které by navíc bylo vyšší množství, by se mohla stát velmi perspektivní pro potravinářství vzhledem k nižší ceně proti živočišným proteinům masa.

Genetické modifikace se však v Evropě nesetkávají s velkou důvěrou spotřebitelů, proto je pěstování GM plodin velmi omezeno a větší uplatnění na trhu našla snad jen sója a kukuřice. Možným způsobem jak posílit důvěru spotřebitele by byla zvýšená odpovědnost pěstitelů GMO k životnímu prostředí a ke zdraví konzumentů. V zemědělství by se totiž nemělo jednat jen o zisk, ale také o tolik opomíjenou společenskou odpovědnost.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] HOUBA, M., HOCHMAN, M. a V. HOSNEDL. Luskoviny: pěstování a užití. 1. vyd. České Budějovice: Kurent, 2009, 133 s. ISBN 978-80-87111-19-2.
- [2] LAHOLA, Josef. Luskoviny: Pěstování a využití. 1. vyd. Praha: státní zemědělské nakladatelství, 1990. ISBN 0705990.
- [3] Agritec Šumperk: Historie pěstování hrachu [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW:  
<[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [4] TICHÁ, M., VYZÍNOVÁ, P. Polní plodiny [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW: <[vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/Polni\\_plodiny.doc](http://vfu-www.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/Polni_plodiny.doc)>.
- [5] Pois: Pisum sativum subsp. sativum var. sativum [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW: <<http://jeantosti.com/fleurs4/pois.htm>>.
- [6] Situační a výhledová zpráva: Luskoviny. Těšnov: Ministerstvo zemědělství, 2011. ISBN ISBN 978-80-7084-897-5. Dostupné z WWW:  
<[agri.cz/public/web/file/138821/SVZ\\_LUSKOVINY\\_11\\_2011.pdf](http://agri.cz/public/web/file/138821/SVZ_LUSKOVINY_11_2011.pdf)>.
- [7] ŠROT, Radoslav. 1000 dobrých rad zahrádkářům. 5., dopl. vyd. Praha: Brázda, 1992, 638 s. ISBN 80-209-0206-6.
- [8] Agritec Šumperk: Botanická charakteristika [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW:<[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [9] Agritec Šumperk: Obecná charakteristika škrobu [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW: <[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [10] HOVE, E. L., KING, S., HILL, G. D. Composition, protein quality, and toxins of seeds of the grain legumes Glycine max, Lupinus spp., Phaseolus spp., Pisum sativum, and Vicia faba. Journal of Agricultural Research [online]. 1978, no. 21 [cit. 17-3-2013]. Dostupné z WWW: <<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00288233.1978.10427434>>.



- [11] HOLT, N. W., SOSULSKI, F. W. Amino acid composition and protein quality of field peas. *Can. J. Plant Sci.* [online]. 1979, no. 59 [cit. 17-3-2013]. Dostupné z WWW: <<http://pubs.aic.ca/doi/pdf/10.4141/cjps79-103>>.
- [12] POWNALL, T. L., UDENIGWE, CH. C., ALUKO, R. E. Amino Acid Composition and Antioxidant Properties of Pea Seed (*Pisum sativum L.*) Enzymatic Protein Hydrolysate Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2010, no. 58 [cit. 17-3-2013]. Dostupné z WWW: <<http://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf904456r>>.
- [13] SUCHÁNKOVÁ, Michaela. Luštěniny - nutriční a zdravotní aspekty. Brno, 2012. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/259109/lf\\_m/DP\\_Lusteniny\\_-\\_nutricni\\_a\\_zdravotni\\_aspekty.txt](http://is.muni.cz/th/259109/lf_m/DP_Lusteniny_-_nutricni_a_zdravotni_aspekty.txt). Diplomová práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce Věra Bulková.
- [14] PIPALOVÁ, S., PROCHÁZKOVÁ, J., ZEMAN, L. Vliv zkrmování lupiny a hrachu na reprodukční parametry laboratorních potkanů [online]. [cit. 17-3-2013]. Dostupné z WWW: <<http://mnet.mendelu.cz/mendelnet2004/obsahy/zoo/pipalova.pdf>>.
- [15] Výživová doporučení pro obyvatelstvo České republiky. Společnost pro výživu [online]. 16.4.2012 [cit. 2013-03-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.vyzivaspol.cz/rubrika-dokumenty/konecne-zneni-vyzivovych-doporuceni.html>>.
- [16] DAHL, W.J., FOSTER, L.M., TYLER, R.T. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum L.*). *The British journal of nutrition* [online]. 2012, no. 108 [cit. 17-3-2013]. Dostupné z WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22916813>>.
- [17] HAVLÍKOVÁ, Petra. Nejčastější příčiny malnutrice a možnosti jejich ovlivnění u seniorů. Brno, 2008. Dostupné z: [http://is.muni.cz/th/223305/lf\\_m/Bc.txt](http://is.muni.cz/th/223305/lf_m/Bc.txt). DIPLOMOVÁ PRÁCE. MASARYKOVA UNIVERZITA V BRNĚ.
- [18] POSPÍŠILOVÁ, Marta. Taniny v luštěninách. Informační centrum bezpečnosti potravin [online]. 2007 [cit. 2013-03-18]. Dostupné z WWW: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/taniny-v-lusteninach.aspx>>.
- [19] PRUGAR, Jaroslav. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2008, 327 s., ISBN 978-808-6576-282.

- [20] Spotřeba potravin 1950-2010: Luštěniny a brambory. Český statistický úřad [online]. 2012 [cit. 2013-03-18]. Dostupné z WWW: <<http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/p/2138-12>>.
- [21] BOURGEOIS, M., JACQUIN, F., CASSECUELLE, F., SAVOIS, V., BELGHAZI, M., AUBERT, G., QUILLIEN, L., HUART, M., MARGET, P. a J. BURSTIN. A PQL (protein quantity loci) analysis of mature pea seed proteins identifies loci determining seed protein composition. *PROTEOMICS*. 2011, roč. 11, č. 9, s. 1581-1594. ISSN 16159853. DOI: 10.1002/pmic.201000687. Dostupné z WWW: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.201000687>>.
- [22] SUCHÝ, P., E. STRAKOVÁ, HERZIG, I. Nutriční a dietetická hodnota tuzemských proteinových krmiv jako alternativa sóji a sójových produktů: Část III – hrách. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2009. Dostupné z WWW: <[www.vuzv.cz/sites/Hrach.pdf](http://www.vuzv.cz/sites/Hrach.pdf)>.
- [23] Hrachová siláž - řešení bílkovinné výživy dojnic. Selgen a.s. [online]. 2008 [cit. 2013-03-19]. Dostupné z WWW: <[selgen.cz/sprava/.../3-file-File-hrachová\\_siláž\\_konečný\\_9.2.\\_08.pdf](http://selgen.cz/sprava/.../3-file-File-hrachová_siláž_konečný_9.2._08.pdf)>.
- [24] ADAMIDOU, S., I. NENGAS, K. GRIGORAKIS, D. NIKOLOPOULOU a K. JAUNCEY. Chemical Composition and Antinutritional Factors of Field Peas (*Pisum sativum*), Chickpeas (*Cicer arietinum*), and Faba Beans (*Vicia faba*) as Affected by Extrusion Preconditioning and Drying Temperatures. *Cereal Chemistry* [online]. 2011, roč. 88, č. 1, s. 80-86 [cit. 2013-03-28]. ISSN 0009-0352. DOI: 10.1094/CCHEM-05-10-0077. Dostupné z WWW: <<http://cerealchemistry.aaccnet.org/doi/abs/10.1094/CCHEM-05-10-0077>>.
- [25] Hrách. Agromanual.cz [online]. [cit. 2013-03-19]. Dostupné z WWW: <<http://www.agromanual.cz/cz/atlas/plodiny/plodina/hrach.html>>.
- [26] Agritec Šumperk: Hrachový škrob [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW: <[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [27] SIKOROVÁ, Urszula. Vliv stresových faktorů na fyziologii rostlin. Olomouc, 2010. Dostupné z WWW: <[theses.cz/id/6o3q1t/82373-711963275.pdf](http://theses.cz/id/6o3q1t/82373-711963275.pdf)>. Diplomová práce. Univerzita Palackého Olomouc. Vedoucí práce Martin Kubala.
- [28] OREGON STATE UNIVERSITY. Pea (*Pisum sativum*) with pea enation mosaic virus [online]. 2009 [cit. 2013-03-19]. Dostupné z WWW: <[http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Plant\\_Clinic/images/pea\\_enation\\_mosaic.htm](http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Plant_Clinic/images/pea_enation_mosaic.htm)>.

- [29] BARKLEY, Shelley. Diseases of Field Peas. Alberta: Agriculture and Rural Development [online]. December 21, 2003. January 2, 2013 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <[http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/prm7819](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/prm7819)>.
- [30] SMRŽ, J., M. MUSIL, VACEK, V. Viruses Found in Selected Plant Species of the Family Viciaceae. Zentralblatt für Mikrobiologie [online]. 1987, č. 142 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0232439387800537>>.
- [31] Diseases: Pseudomonas syringae pv.pisi (Sackett) Young et al. - Bacterial Blight of Peas. AgroAtlas [online]. [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <[http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Fabacee/Fabacee\\_Pseudomonas\\_syringae\\_pv\\_pisi/](http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Fabacee/Fabacee_Pseudomonas_syringae_pv_pisi/)>.
- [32] KÚDELA, Václav, A NOVACKY a Leopoldo FUCIKOVSKY ZAK. Rostlinolékařská bakteriologie. Vyd. 1. Praha: Academia, 2002, 347 p. ISBN 80-200-0899-3.
- [33] Bacterial pea blight (Pseudomonas syringae pv. pisi). Plantwise Knowledge Bank [online]. [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <<http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsID=44988>>.
- [34] PGRO pulse crop report - 15th June 2012. In: Farminguk [online]. 15-06-2012 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <[http://www.farminguk.com/news/PGRO-pulse-crop-report-15th-June-2012\\_23727.html](http://www.farminguk.com/news/PGRO-pulse-crop-report-15th-June-2012_23727.html)>.
- [35] Agritec Šumperk: Choroby hrachu [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW: <[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [36] Sitona lineatus [online]. 31 Jul 1999 [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <[http://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I\\_MWS14558&res=640](http://www.discoverlife.org/mp/20p?see=I_MWS14558&res=640)>.
- [37] Seed Weevils [online]. [cit. 2013-03-20]. Dostupné z WWW: <<http://www.pestcontrolsydney.com.au/insects/Seed%20Weevils,%20HYG-2085-97.htm>>.
- [38] CUSTERS, René. Průvodce biotechnologiemi: biotechnologie v zemědělství a potravinářství. Vyd. 1. Praha: Academia, 2006, 104 s. ISBN 80-200-1350-4.
- [39] ONDŘEJ, Miloš a Jaroslav DROBNÍK. Transgenoze rostlin. Vyd. 1. Praha: Academia, 2002, 316 p. ISBN 80-200-0958-2.

- [40] DE LA RIVA, G. A., GONZÁLEZ-CABRERA, J., VÁZQUEZ-PADRÓN, R. a C. AYRA-PARDO. *Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for plant transformation. *EJB Electronic Journal of Biotechnology* [online]. 1998, č. 3 [cit. 2013-03-21]. ISSN 0717-3458. Dostupné z WWW: <<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol1/issue3/full/1/1.PDF>>.
- [41] HOOYKAAS, P. J. J., P. M. KLAPWIJK, M. P. NUTI, R. A. SCHILPEROORT a A. RORSCH. Transfer of the *Agrobacterium tumefaciens* TI Plasmid to Avirulent *Agrobacteria* and to *Rhizobium ex planta*. *Journal of General Microbiology* [online]. roč. 1977, č. 98 [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://mic.sgmjournals.org/content/98/2/477.full.pdf+html>>.
- [42] NAIR, G. R., Z. LIU, A. N. BINNS a A. RORSCH. Reexamining the Role of the Accessory Plasmid pAtC58 in the Virulence of *Agrobacterium tumefaciens* Strain C58. [online]. [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.plantphysiology.org/content/133/3/989.full.pdf+html>>.
- [43] Plant Transformation Using *Agrobacterium tumefaciens*. African Biosafety Network of Expertise [online]. [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.nepadbiosafety.net/subjects/biotechnology/plant-transformation-agro>>.
- [44] VONDREJS, Vladimír. Otazníky kolem genového inženýrství. Vyd. 1. Praha: Academia, 2010, 134 p. ISBN 978-802-0018-922.
- [45] KŮDELA, V., A. NOVACKY a L. FUCIKOVSKY ZAK. Rostlinolékařská bakteriologie. Vyd. 1. Praha: Academia, 2002, 347 p. ISBN 80-200-0899-3.
- [46] CHLOUPEK, Oldřich. Genetická diverzita, šlechtění a semenářství. vyd. 3., upravené. Praha: Academia ČMT, 2008, 307 p. ISBN 978-802-0015-662.
- [47] Pokročilé biochemické a biotechnologické metody: GENETICKÁ TRANSFORMACE OBILOVIN. Molbio.upol [online]. [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <[www.molbio.upol.cz/stranky/vyuka/BAM/10.%20Obiloviny.pdf](http://www.molbio.upol.cz/stranky/vyuka/BAM/10.%20Obiloviny.pdf)>.
- [48] Pravidla pro pěstitele geneticky modifikovaných plodin v ČR. Eagri [online]. 11.1.2010 [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/gmo-geneticky-modifikovane-organismy/pravidla-pro-pestitele-geneticky.html>>.

- [49] Genetické zdroje - biologická bezpečnost a rizika genetické eroze: Genetic Resources - Biosafety Principals and Risks of Genetic Erosion : workshop proceedings : sborník ze semináře uspořádaného 10. června 2010, Ministerstvo životního prostředí, Praha. Vyd. 1. Editor Milena Roudná. Praha: Ministerstvo životního prostředí, 2010, 36 s. ISBN 978-80-7212-541-8.
- [50] PĚSTOVÁNÍ GENETICKY MODIFIKOVANÝCH PLODIN V ČR: koexistence různých forem zemědělství. Praha: JPM tisk s.r.o., 2005. ISBN 80-7084-408-6. Dostupné z WWW: <[eagri.cz/public/web/file/17398/GMO\\_text.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/17398/GMO_text.pdf)>.
- [51] Registr povolených GMO. Ministerstvo životního prostředí [online]. [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <<http://www.mzp.cz/www/env-gmo.nsf/gmo-all?OpenView&Count=30&ResortAscending=1>>.
- [52] Biosafety Clearing-House. Ministerstvo životního prostředí [online]. 2008 [cit. 2013-03-21]. Dostupné z WWW: <[http://www.mzp.cz/www/webdav\\_biosafety.nsf\\$files/Biosafety/index.htm](http://www.mzp.cz/www/webdav_biosafety.nsf$files/Biosafety/index.htm)>.
- [53] ROUDNÁ M. ET AL., GENETICKÉ MODIFIKACE V ČESKÉ REPUBLICĚ A OPATŘENÍ K ZAJIŠTĚNÍ BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI. Praha: Ministerstvo životního prostředí, 2011. ISBN 978-80-7212-566-1.
- [54] HABIB, H. a K. M. FAZILI. Plant protease inhibitors: a defense strategy in plants. *Biotechnology and Molecular Biology* [online]. 2007 [cit. 2013-03-21]. ISSN 1538-2273. Dostupné z WWW: <<http://www.academicjournals.org/bmbr/PDF/pdf2007/Aug/Habeeb%20and%20Khalid.pdf>>.
- [55] USSUF, K. K., N H. LAXMI a R. MITRA. Proteinase inhibitors: Plant-derived genes of insecticidal protein for developing insect-resistant transgenic plants. *CURRENT SCIENCE* [online]. 2001, roč. 2001, č. 7 [cit. 2013-03-22]. Dostupné z WWW: <<http://www.iisc.ernet.in/currsci/apr102001/847.pdf>>.
- [56] SUN, Samuel S. M. a Qiaoquan LIU. Transgenic approaches to improve the nutritional quality of plant proteins. *In Vitro Cellular* [online]. 2004, roč. 40, č. 2, s. 155-162 [cit. 2013-03-22]. ISSN 1054-5476. DOI: 10.1079/IVP2003517. Dostupné z WWW: <<http://link.springer.com/10.1079/IVP2003517>>.

- [57] Agritec Šumperk: Genetické řízení tvorby hrachového škrobu [online]. [cit. 16-3-2013]. Dostupný z WWW:  
<[http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com\\_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs](http://www.agritec.cz/new/index.php?option=com_content&view=category&id=15&Itemid=23&lang=cs)>.
- [58] STRATILOVÁ, Zuzana. GMO bez obalu. Praha: Ministerstvo zemědělství, odbor bezpečnosti potravin, 2012, 31 s. ISBN 978-80-7434-057-4.
- [59] Ekologické dopady: Společné zemědělské politiky a vstupu do EU v českém zemědělství. Brno: AZ Color Print Brno, 2004. ISBN 8086834077.
- [60] Oblasti potenciálních rizik geneticky modifikovaných plodin [online]. Praha, 2003[cit. 2013-03-22]. Dostupné z WWW:  
<[www.phytosanitary.org/old/projekty/2002/vvf-07-02.pdf](http://www.phytosanitary.org/old/projekty/2002/vvf-07-02.pdf)>.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|      |   |
|------|---|
| Ala  | alanin                                      |
| Arg  | arginin                                     |
| Asn  | asparagin                                   |
| Asp  | kyselina asparagová                         |
| ATB  | antibiotikum                                |
| Bt   | <i>Bacillus thuringiensis</i>               |
| Cys  | cystein                                     |
| DNA  | kyselina deoxyribonukleová                  |
| EPSP | enzym 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát syntáza |
| Gln  | glutamin                                    |
| Glu  | kyselina glutamová                          |
| Gly  | glycin                                      |
| GM   | geneticky modifikovaný (-ná)                |
| GMO  | geneticky modifikovaný organismus           |
| His  | histidin                                    |
| Ile  | isoleucin                                   |
| Leu  | leucin                                      |
| Lys  | lysin                                       |
| Met  | metionin                                    |
| mRNA | mediátorová RNA                             |
| NK   | nukleová kyselina                           |
| PEMV | Pea Enation Mosaic Virus                    |
| Phe  | fenylalanin                                 |
| Pro  | prolin                                      |

|       |                                 |
|-------|---------------------------------|
| PSbMV | Pea Seed-borne Mosaic Virus     |
| PMV   | Panicum Mosaic Virus            |
| RNA   | kyselina ribonukleová           |
| SBEI  | Starch–Branching Enzyme Isoform |
| Ser   | serin                           |
| T-DNA | transferová DNA                 |
| Thr   | treonin                         |
| Ti    | Tumor-inducing                  |
| Trp   | tryptofan                       |
| Tyr   | tyrozin                         |
| Val   | valin                           |



**SEZNAM OBRÁZKŮ**

|   |         |
|---|---------|
| Obr. 1. Hrách setý ( <i>Pisum sativum</i> subsp. <i>sativum</i> )   | Str. 13 |
| Obr. 2., Obr. 3. Rostliny hrachu napadené virem PEMV  | Str. 23 |
| Obr. 4. Lusky hrachu napadené <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i>                                     | Str. 24 |
| Obr. 5. Rostlina hrachu napadená hnědou strupovitostí   | Str. 25 |
| Obr. 6. Listopas čárkovaný ( <i>Sitona lineatus</i> )   | Str. 26 |
| Obr. 7. Zrnokaz hrachový a jeho larva (Pea Weevil – <i>Bruchus pisorum</i> )                                  | Str. 27 |
| Obr. 8. Transgenoze pomocí <i>A. tumefaciens</i> – přenos T-DNA z plazmidu bakterie do rostlinného chromozomu | Str. 29 |

**SEZNAM TABULEK**

|   |         |
|---|---------|
| Tab. 1. Chemické složení semen hrachu                   | Str. 15 |
| Tab. 2. Obsah aminokyselin v proteinovém izolátu hrachu | Str. 16 |
| Tab. 3. Obsah některých sacharidů v semenech hrachu     | Str. 18 |

## SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: SLOVNÍČEK

str. 60

## PŘÍLOHA P I: SLOVNÍČEK

- **organismus** – biologická jednotka, včetně jednotky mikrobiologické, schopná rozmnožování nebo přenosu dědičného materiálu
- **dědičný materiál** - deoxyribonukleová nebo ribonukleová kyselina
- **genetická modifikace** – cílená změna dědičného materiálu spočívající ve vnesení cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo vynětí části dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozenou rekombinací
- **geneticky modifikovaný organismus** – organismus, kromě člověka, jehož dědičný materiál byl změněn genetickou modifikací
- **genetický produkt** – jakákoli věc obsahující jeden nebo více geneticky modifikovaných organismů, která byla vyrobena nebo jinak získána bez ohledu na stupeň jejího zpracování a je určena k uvedení do oběhu
- **transgen** – gen přenesený do organismu (příjemce) z jiného organismu (dárce)
- **transgenní organismus** – organismus, do kterého byl metodou genového inženýrství přenesen gen z jiného organismu (transgen)
- **kalogeneze** – technika, při níž dochází k indukci kalusu
- **kalus** – nediferenciované rostlinné hojivé pletivo, z kterého lze při použití vhodných fytohormonů vypěstovat celou rostlinu
- **limitující aminokyselina** – esenciální aminokyselina, která není v potravě vůbec přítomna nebo je její obsah z hlediska potřeby proteosyntézy velmi nízký
- **protoplast** – buňka zbavená buněčné stěny