



Akademie věd České republiky
ÚSTAV MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE ROSTLIN
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

VÝROČNÍ ZPRÁVA

2005

1. Vědecká činnost ÚMBR a uplatnění jejích výsledků

a) Stručná charakteristika vědecké činnosti ÚMBR

V ústavu byla v roce 2005 rozvíjena následující témata:

- Studium struktury, molekulární organizace a evoluce genomů rostlin řešené dvěma základními tematickými okruhy: (1) repetitivní sekvence, jejich struktura, evoluce a vliv na uspořádání a evoluci genomu, (2) integrace genetických a fyzikálních map genomů vybraných plodin a vývoj nových metod pro jejich účinnější mapování.
- Produkce proteinů lidského papilomaviru v transgenních rostlinách rajčete a bramboru.
- Vývoj alternativního selekčního systému založeného na manóza-6-fosfátisomeráze (PMI) pro transformaci salátu (*Lactuca sativa*) a na UDP-glukóza:galaktóza-1-fosfát-uridylyl-transferáze (galT) pro transformaci rajčete (*Lycopersicon esculentum*).
- Konstrukce chloroplastového transformačního vektoru z genomové knihovny tabáku a rajčete.
- Konstrukce genomových knihoven lnu obohacených o mikrosatelitní repetice, vývoj STR (simple tandem repeat) markerů z těchto sekvencí.
- Vyhledávání, klonování a sekvenování hypervariabilních regionů genomu *Begonia tuberhybrida*.
- Studium mechanismu viroidní patogeneze, souvisící s indukci posttranskripčního genového silencingu a vedoucí k takzvaným paralyzujícím efektům u citlivých rostlin.
- Studium variability populací viroidních molekul a analýza genomové organizace viru PVS.
- Funkční analýza genomu chmelu spojená s analýzou determinace ozdravných látek chmelu, zejména prenylovaných flavonoidů.
- Studium exprese izolovaných chmelových genů v heterologních systémech, zejména *Arabidopsis thaliana*, a některých fyziologických aspektů morfogeneze u tohoto rostlinného druhu.
- Vývoj molekulárních detekčních metod, detekce, izolace a charakterizace rostlinných virů, fytoplazem a fytopatogenních bakterií; studium molekulární variability těchto patogenů a exprese virových bílkovin.
- Studium primárních procesů fotosyntézy na molekulární úrovni, vztahů mezi strukturou a funkcí proteinů při regulaci fotosyntetických dějů na úrovni pigment-proteinových komplexů thylakoidní membrány.
- Studium CO₂ koncentrujících mechanismů u C₄ rostlin a cytogeneze průduchového aparátu.

b) Výčet nejdůležitějších výsledků vědecké činnosti a jejich aplikací

„B“ Analýza miniaturních transpozónů (MITE) typu *Stowaway* v genomu hrachu ukázala, že jde o sekvencně poměrně homogenní populaci čítající asi 1000-10000 elementů, z nichž se část vyskytuje poblíž genových sekvencí a nebo v jejich intronech. Studium vybraných elementů u různých taxonů (poddruhů a variet) hrachu byl prokázán jejich inserční polymorfismus, kterého může být využito pro design molekulárních markerů. Dále bylo

identifikováno několik mobilních elementů typu *Mariner*, které obsahují sekvence kódující enzym transpozázu, o které se předpokládá, že mj. způsobuje transpozici *Stowaway* MITE. Tuto hypotézu podporuje i zjištění vysoké sekvenční podobnosti terminálních repetit (TIRs) u *Stowaway* a některých z identifikovaných *Mariner* elementů.

(Macas, J., Koblížková, A., Neumann, P.: Characterization of *Stowaway* MITEs in pea (*Pisum sativum* L.) and identification of their potential master elements. *Genome* 48(5): 831-839, 2005. *IF(04)*: 2,100)

„B“ Byly izolovány první Myb faktory typu R2R3 chmelu, které byly nazvány HIMyb1 a HIMyb5. Jedná se o typické rostlinné faktory s doménou charakteristickou pro regulace rostlinných metabolických drah, jakými jsou i dráhy sekundárních ozdravných metabolitů lupulinu. Faktor HIMyb1 má nejvyšší homologii se světlem regulovatelným faktorem AtMyb68 z *A. thaliana*. Izolace prvních kompletních faktorů povede k získání dalších jejich homologů z genomové a expresní knihovny chmelu. Rovněž bylo zjištěno, že z českých chmelů má největší obsah sekundárních metabolitů kultivar Anus.

(Matoušek, J., Vrba, L., Novák, P., Patzak, J., De Keukeleire, J., Škopek, J., Heyerick, A., Roldán-Ruiz, I., De Keukeleire, D.: Cloning and molecular analysis of the regulatory factor HIMyb1 in hop (*Humulus lupulus* L.) and the potential of hop to produce bioactive prenylated flavonoids. - *J. Agric. Food Chem.* 53: 4793-4798, 2005. *IF(04)*: 2,327)

„C“ Prioritně byly získány úplné kopie viru PVS, což umožnilo zmapovat otevřený čtecí rámec kódující replikační protein a porovnat jeho základní domény pro methyltransferázu (MTR), helikázu (HEL) a RNA-závislou RNA polymerázu (RdRp) s příbuznými viry. Byl rozpracován systém založený na tzv. „immunocapture RT PCR“, který umožňuje v rámci celého genomu rychlé a snadné porovnání virů v rámci kolekcí či klonovaných populací tohoto patogenu. Byly zjištěny některé rozdíly mezi standardními a více patogenními kmeny tohoto viru, nově byly popsány tzv. CS izoláty, které mají změny v N terminální oblasti obalového proteinu a schopnost systémové infekce u druhu *Chenopodium quinoa*. Systém probing je uplatňován při diagnostické praxi ve Výzkumném ústavu bramborářském v H. Brodě.

(Matoušek, J., Schubert, J., Ptáček, J., Kozlová, P., Dědič, P.: Complete nucleotide sequence and molecular probing of Potato virus S genome. - *Acta Virologica* 49: 195-205, 2005. *IF(04)*: 0,605)

„B“ Byla provedena charakterizace promotorových oblastí 7SL RNA genů u rostlin a prioritně se též podařilo exprimovat modifikované molekuly rostlinného 7SL RNA genu A63M u druhu *S. tuberosum*.

(Yukawa, Y., Felis, M., Englert, M., Stojanov, M., Matoušek, J., Beier, H., Sugiura, M.: Plant 7SL RNA genes belong to type 4 of RNA polymerase III-dependent genes that are composed of mixed promoters. - *Plant Journal* 43: 97-106, 2005. *IF(04)*: 6,367

Vrba, L., Matoušek, J.: Expression of modified 7SL RNA gene in transgenic *Solanum tuberosum* plants. - *Biol. Plant.* 49: 371-380, 2005. *IF(04)*: 0,744)

„B“ Pomocí kombinace experimentálních světlem indukovaných diferenčních absorpčních spekter a spekter cirkulárního dichroismu s teoretickými výpočty jsme prokázali, že se po rozdělení náboje v reakčním centru fotosystému II akumuluje kation na vedlejším chlorofylu vázaném na bílkovinu D1 v aktivní větvi. Tento výsledek přináší nový pohled na posloupnost dějů při prvotním rozdělení náboje v reakčních centrech fotosystému II při přeměně energie světelného záření na energii chemickou.

(Vácha, F., Pšenčík, P., Kutý, M., Durchan, M., Šiffel, P.: Evidence for localisation of accumulated chlorophyll cation on the D1-accessory chlorophyll in reaction centre of photosystem II. *Photosynth. Res.*, 83: 279-302, 2005. *IF(04)*: 2,614)

„B“ Zjistili jsme, že u sinice *Prochlorothrix hollandica* jsou antény fotosystému I uspořádány do velmi neobvyklých útvarů, tvořících prstence obepínající tento fotosystém. Podobné útvary byly pozorovány pouze u stresovaných organismů. V našem případě jsme prokázali, že k této neobvyklé organizaci světlosběrných antén může docházet i za fyziologických

podmínek. Tvorba prstenců ze světlosběrných komplexů má tak mnohem hlubší význam než pouze reakci na světelný nebo nutriční stress.

(Bumba, L., Prášil, O., Vácha, F.: Antenna ring around trimeric photosystem I in chlorophyll b containing cyanobacterium *Prochlorothrix hollandica*. Biochim. Biophys. Acta, 1708: 1-5, 2005. *IF(04)*: 3,503)

„B“ Zavedli jsme novou metodu značení bílkovin pomocí vazby Ni-NTA aktivovaných zlatých nanočástic na histidinovou kotvu studovaného proteinu. Sinice *Synechocystis* 6803 byla transformována genem pro psbH protein obsahující na svém N-terminálním konci 6 molekul histidinu. Vazbou zlatých nanočástic na histidinovou kotvu jsme pomocí metod elektronové mikroskopie a částicové analýzy určili umístění podjednotky psbH v komplexu fotosystému II a doplnili tak chybějící strukturní údaje o tomto komplexu.

(Bumba, L., Tichý, M., Dobaková, M., Komenda, J., Vácha, F.: Localization of the PsbH subunit in photosystem II from the *Synechocystis* 6803 using the His-tagged Ni-NTA Nanogold labeling. J. Struct. Biol., 152: 28-35, 2005. *IF(04)*: 3,132)

„B“ Pomocí sekvenování byl identifikován virus šarky švestky v rostlinném materiálu čínského původu. Je to první zjištění výskytu tohoto viru v Číně.

(Navrátil, M., Šafářová, D., Karešová, R., Petrzik, K.: First report of Plum Pox Virus on Apricot Trees in China *Plant Disease* 89: 338, 2005. *IF(04)*: 1,497)

„B“ S vysokou četností byla zjištěna přítomnost viru mozaiky jabloně na hrušních, které doposud nebyly považovány za hostitele tohoto viru. Ukazuje se, že tento většinou hostitel může představovat přirozený rezervoár viru v přírodě.

(Petrzik, K.: Capsid protein sequence gene analysis of Apple mosaic virus infecting pears. European Journal of Plant Pathology, 111: 355-360, 2005. *IF(04)*: 1,384)

„B“ Byl nalezen a částečně charakterizován nový virus čeledi *Potyviriidae*: Daphne mosaic virus.

(Fránová, J., Petrzik, K., Navrátil, M., Lesemann, D.E., Nebesářová, J.: Characterisation of a new potyvirus associated with symptoms of leaf mosaic and light green rings of *Daphne mezereum*. Archives of Virology, 150, 2005. *IF(04)*: 1,841)

„B“ Poprvé byl sekvenován úsek genomu viru mozaiky ředkvičky. Získaná sekvence posloužila k analýze fylogenetických vztahů virů v rodu Comovirus.

(Petrzik, K., Holá, M., Špak, J.: Complete nucleotide sequence of Radish mosaic virus RNA polymerase gene and phylogenetic relationships in the genus Comovirus. Acta Virologica 49 271-275, 2005. *IF(04)*: 0,605)

„B“ Bylo provedeno porovnání vhodnosti celkem 9 diagnostických metod (ELISA, IFAS, PCR, BOX-PCR, dot blot hybridizace, BIOLOG aj.) pro rychlou a specifickou determinaci fluidních a nefluidních forem karanténní fytopatogenní bakterie *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (bakteriální kroužkovitost brambor).

(Kokošková, B., Mráz, I., Janse, J.D., Fousek, J., Jeřábková, R.: Reliability of diagnostic techniques for determination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus*. Journal of Plant Disease and Protection, 112: 1-16, 2005. *IF(04)*: 0,833)

„B“ Byl připraven mikročip pro detekci sedmi hlavních virů bramboru: Potato virus A (PVA), Potato virus M (PVM), Potato virus S (PVS), Potato virus X (PVX), Potato virus Y (PVY), Potato mop-top virus (PMTV) a Potato leaf-roll virus (PLRV). Zmíněné viry byly pomocí mikročipu úspěšně detekovány jak v jednotlivých tak i směsných infekcích, mikročip zároveň rozeznává i fytopatologicky významné kmeny virů PVY(PVY-O, PVY-NTN) a PVS (PVS-O, PVS-A).

(Bystřická, D., Lenz, O., Mráz, I., Piherová, L., Kmoch, S., Šíp, M.: Oligonucleotide-based microarray: a new improvement in microarray detection of plant viruses. Journal of Virological Methods, 128: 176-182, 2005. *IF(04)*: 1,729)

„B“ Bylo provedeno testování vhodnosti diagnostických metod – PTA-ELISA, PCR, test hypersensitivity na tabákových listech, test patogenity na nezralých hruškách a systém

BIOLOG pro detekci karanténní fytopatogenní bakterie *Erwinia amylovora*, způsobující spálu růžovitých.

(Kokošková, B., Mráz, I.: Reliability of diagnostic techniques for *Erwinia amylovora*, the causative agent of fire blight disease. *Folia Microbiologica*, 50: 217-221. 2005. *IF(04)*: 1,034)

„B“ Ve starých stromech z nízkoprodukčních sadů jabloní i v nově zakoupených výpěstcích byly identifikovány fytoplazmy zejména podskupiny 16SrI-C, jejímž typovým zástupcem je fytoplazma fylodie jetele.

(Fránová, J.: The occurrence of phytoplasmas in apple trees showing branch twisting. *Journal of Phytopathology*, 153: 384-388, 2005. *IF(04)*: 0,575)

„B“ Onkogen *E7* z lidského papilomaviru typu 16 (HPV 16) fúzaný s genem pro β -glukuronidázu (*gus*) byl použit k transgenozí rajčete a bramboru. Pomocí PCR byl fúzní gen zjištěn ve všech kořenicích regenerovaných rostlinách stejně jako aktivita β -glukuronidázy. Úroveň aktivity GUS v různých konstruktech však byla v rostlinách značně variabilnější než při testování stejných konstruktů na tranzientní expresi v protoplastech.

(Bříza, J., Pavingerová, D., Vlasák, J., Ludvíková, V., Niedermeierová, H.: Production of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein fused with β -glucuronidase in transgenic tomato and potato. *Biol. Plant.*, accepted 2005. *IF(04)*: 0,744)

„B“ Zjistili jsme, že fenotypový projev již dříve popsané mutace *TMM* a *FLP* genů lze vyvolat vnějšími faktory prostředí, hlavně zvýšením difusivity a koncentrace vodní páry v atmosféře. Mutace genů *TMM* a *FLP* způsobuje náhodné dělení a tvorbu shluků (klastrů) po 2 a více průdušic. Jak jsme ukázali, oba tyto faktory zvyšují permeabilitu kutikulární membrány průduchů.

(Schreiber, L., Elshatshat, S., Koch, K., Lin, J., Šantrůček, J.: AgCl precipitates in isolated cuticular membranes reduce rates of cuticular transpiration. - *Planta* 222: xx, 2005. *IF(04)*: 3,113)

„B“ Měřili jsme fotochemickou aktivitu borovice lesní rostoucí v centrální oblasti Sibíře během periody zimní dormance. Jehlice nevykazovaly žádnou variabilní fluorescenci během světelné periody. Během noci se ale kvantový výtěžek fotosystému II zvyšoval na hodnoty 0,05-0,2. Při extrémně malé ozářenosti za svítání opět spadl na nulu. 24-hodinový rytmus byl závislý na teplotě. Denní rytmicita a teplotní závislost kvantového výtěžku PS II měřené v terénu při teplotách nižších než 0 °C zde byly popsány poprvé.

(Šiffel, P., Šantrůček, J.: Diurnal course of photochemical activity of winter-adapted Scots pine at subzero temperatures. - *Photosynthetica* 43: 395-402, 2005. *IF(04)*: 0,734)

c) Nejvýznamnější popularizační aktivity ÚMBR

- Byl zorganizován 5. ročník "*Letních akademických kurzů*" (LAK 2005) pro studenty středních škol v Akademickém a univerzitním centru v Nových Hradech.
- V rámci iniciativy „European Researchers Night“ projektu Evropské komise „Researchers in Europe 2005“ jsme 23. září 2005 organizovali v Českých Budějovicích setkání, jehož cílem bylo představit vědeckou práci širšímu okruhu zájemců především z řad mládeže a potencionálních studentů a neformálním setkáním s vědeckými pracovníky ústavů Akademie věd a Jihočeské univerzity přiblížit život vědecké komunity a zatraktivnit tak vědeckou kariéru potenciálním zájemcům. V rámci této akce se promítal film „Louže“ z dílny FATE s.r.o. a ENTÚ AVČR, proběhla výstava fotografií s vědeckou tematikou a vyvrcholením byl koncert čtyř hudebních skupin, jejichž členové jsou akademickými pracovníky Akademie věd nebo Jihočeské univerzity.
- Den otevřených dveří byl zorganizován 11.11.2005. ÚMBR navštívilo celkem 74 zájemců.

- Přednáška „Ozdravný chmel“ uskutečněná v rámci přednášek pro studenty a veřejnost v Týdnu vědy a techniky, 7.-11. listopad 2005, v Českých Budějovicích a na to navazující článek v populárně odborném časopise: Matoušek, J.: "Ozdravné" látky a molekulární analýza chmelových genů.- Kvasný průmysl, in press.
- Publikace článku o karanténním viru lemování žilek jahodníku v časopise Rostlinolékař.
- Publikace souhrnného článku Biotechnologické využití rostlinných virů“ v časopise Genetické společnosti G.Mendela – Dr. K. Petrzik.
- Sepsání kapitoly „Voda v rostlinách“ jako součást knihy „Velká kniha o vodě“ (J. Kleczek – editor, Academia, v tisku).

d) Domácí a zahraniční ocenění zaměstnanců ÚMBR

Žádné ocenění nebylo uděleno.

e) Další specifické informace o pracovišti, změnách v jeho struktuře a vědecké orientaci, o výsledcích atestací a o překážkách a problémech v činnosti pracoviště.

- Bylo atestováno 19 pracovníků s vysokoškolským vzděláním, kterým končila pracovní smlouva k 31. 12. 2005. Hlavními kritérii při rozhodování o délce nových smluv a zařazení do kvalifikačních stupňů a platových tříd byly publikační aktivita a úspěšnost při získávání grantů.
- Byl přijat nový pracovník na problematiku fytopatogenních bakterií a byl tak položen základ vzniku skupiny orientující se na tuto problematiku.
- Dvěma pracovníkům bylo na základě výborných výsledků atestační komisí navrženo zvýšení kvalifikačního stupně na „Vedoucí vědecký pracovník“. Celoakademická koordinační komise potvrdila toto přeřazení pouze jednomu.

2. Vědecká a pedagogická spolupráce ÚMBR s vysokými školami

a) nejvýznamnější vědecké výsledky ÚMBR vzniklé ve spolupráci s vysokými školami.

- Ve spolupráci s Katedrou fyziologie rostlin Biologické fakulty Jihočeské university jsme dokázali, že zhášení fluorescence v reakčních centrech fotosystému II původně připisované redukovánému feofytinu je spojené s konformační změnou závislou na teple.
(Litvín, R., Bína, D., Šiffel, P., Vácha F.: Conformational changes and their role in non-radiative energy dissipation in photosystem II reaction centres. *Photochem. Photobiol. Sci.* 4, 999 – 1002, 2005. *IF(04): 1,798*).
- Ve spolupráci s Ústavem fyzikální biologie JU jsme provedli výpočet chybějících parametrů nutných pro následné modelování dynamiky procesů v reakčním centru fotosystému II.
(Palenčár, P., Vácha F., Kutý, M.: Force Field Development on Pigments of Photosystem II Reaction Center. *Photosynthetica* 43(3), 417-420, 2005. *IF(04): 0,734*).
- Ve spolupráci s Katedrou fyziologie rostlin PřF UK jsme izolovali a charakterizovali pseudokrystalické struktury vyskytující se v transgenních rostlinách tabáku *Pssu-ipt*. Prokázali jsme, že jsou tvořeny uspořádanými agregáty světlosběrného komplexu fotosystému II.

(Synková, H., Schnablová, R., Husák, M., Šiffel, P., Bumba L., Hunalová, I., Čerovská, N., Vácha, F.: Isolation and characterization of paracrystalline structures from transgenic *Pssu-ipt* tobacco. *Photosynthetica* 43(4), 509-517, 2005. *IF(04): 0,734*

Synková, H., Pechová, R., Polanská, L., Husák, M., Šiffel, P., Vácha, F., Malbeck, J., Macháčková, I., Nebesářová, J.: Three-dimensional reconstruction of anomalous chloroplasts in transgenic *ipt* tobacco. *Planta* - accepted 2005. *IF(04): 3,113*.

- Ve spolupráci s Katedrou fyziologie rostlin Biologické fakulty Jihočeské university jsme provedli frakcionaci stabilních izotopů kyslíku a vodíku ve vodě v listech rostlin. Měření ukázala laterální heterogenitu izotopového složení vody v listu. Teoretický popis tohoto jevu založený na Crieg-Gordonově modelu nadhodnocuje pozorované výsledky. Navrhli a vyzkoušeli jsme jeho úpravu, zavedení tvarově variabilního Pecletova efektu, která zlepšuje popis obohacování listové vody o těžší izotopy. Jev je významný pro odhad podílu terestrické vegetace na globální bilanci uhlíku.
Rukopis práce je v přípravě.

b) **nejvýznamnější výsledky činnosti výzkumných center a dalších společných pracovišť ústavu s vysokými školami;**

Ústav není zapojen do výzkumného centra.

c) **spolupráce s vysokými školami na uskutečňování doktorských studijních programů (DSP) a magisterského a bakalářského studia.**

- ÚMBR je držitelem akreditace doktorského studijního programu „Fyziologie a imunologie“ se studijním oborem „Fyziologie a vývojová biologie“ a akreditace doktorského studijního programu „Molekulární a buněčná biologie“ se studijním oborem „Molekulární a buněčná biologie a genetika“.
- ÚMBR je spolunavrhovatelem doktorského grantu GAČR 521/03/H160 „Molekulární genetika rostlin, genové manipulace a ekologie“. Do grantu jsou zapojeni 3 doktorandi ÚMBR.
- ÚMBR je zapojen do doktorského studijního programu „Fyzika“ se studijním oborem „Biofyzika“, který je uskutečňován Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích a Ústavem fyzikální biologie Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.
- Zaměstnanci ÚMBR jsou garantem magisterského a bakalářského studijního programu „Biofyzika“ na Biologické fakultě JU a programů „Zemědělské biotechnologie“ a „Rostlinné biotechnologie“ na Zemědělské fakultě JU a doktorského programu „Rostlinolékařství“ na Zemědělské fakultě JU.
- Ústav má uzavřeny dlouhodobé smlouvy o spolupráci s Biologickou fakultou, Zemědělskou fakultou a Pedagogickou fakultou JU v Českých Budějovicích.

3. **Spolupráce pracoviště s dalšími institucemi a s podnikatelskou sférou**

a) **společné projekty výzkumu a vývoje podpořené z veřejných prostředků:**

Celkový počet 5

- NAZV GF 3109 „Diferenciace viru S bramboru (PVS) a identifikace karanténně významných izolátů technikami molekulární diagnózy“. Výzkumný a šlechtitelský ústav bramborářský s.r.o., H. Brod. Výsledky. Bylo publikováno klonování úplných sekvencí

viru PVS a prioritně charakterizována 5' oblast geomu tohoto viru.

- GA ČR, GA521/05/2092 „Produkce proteinů lidského papilomaviru v rostlinách a imunogenní vlastnosti tkání transgenních rostlin“, Ústav hematologie a krevní transfúze Praha. Výsledky: Onkogen *E7* z lidského papilomaviru typu 16 (HPV 16) fúzovaný s genem pro β -glukuronidázu (*gus*) byl použit k transgenozí rajčete a bramboru. Pomocí PCR byl fúzní gen zjištěn ve všech kořenicích regenerovaných rostlinách stejně jako aktivita β -glukuronidázy. Úroveň aktivity GUS v různých konstruktech však byla v rostlinách značně variabilnější než při testování stejných konstruktů na tranzientní expresi v protoplastech.
- AV ČR, program Podpora projektů cíleného výzkumu, dílčí program DP3 průřezového programu Integrovaný výzkum (PP2) Národního programu výzkumu, 1QS500510566 „Využití zavedené technologie DNA markerů pro právní ochranu čtyř připravovaných českých odrůd *Begonia* TBH“, Sempra Flora s.r.o. Holice v Čechách. Výsledky: Byly izolovány první hypervariabilní regiony z genomu *Begonia* TBH vhodné pro vývoj DNA markerů, započata příprava genomových knihoven obohacených o mikrosatelitní sekvence za účelem vývoje STR markerů a expertního systému pro identifikaci odrůd *Begonia* TBH na bázi neuronových sítí.
- GA ČR, GA521/03/0072 „Funkční genomika chmelu (*H. lupulus* L.) s ohledem na geny kodeterminující produkci lupulinu“, Chmelařský ústav s.r.o. Žatec. Výsledky: byla provedena analýza exprese a funkční analýza faktorů MYB a charakterizována rodina genů *chs_H1* determinující pravou chalkonsyntázu chmelu a biosyntetické dráhy ozdravných sekundárních metabolitů.
- AV ČR, program Podpora projektů cíleného výzkumu, 1QS500510558, „Studium výskytu fytopatogenů a jejich genetických variant“, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., Výzkumný ústav bramborařský Havlíčkův Brod, s.r.o., Chmelařský ústav s.r.o., Žatec. Výsledky: Byl identifikován, taxonomicky a fylogeneticky zařazen a kompletně sekvenován nově nalezený Virus mozaiky lýkovce - *Daphne mosaic virus* - z čeledi *Potyviridae*. U fytopatogenní bakterie *Erwinia amylovora* byly otestovány citlivější imunochemické (IFA) a molekulární (PCR) metody identifikace patogena. Ve vzorku jetele odebraného ze šlechtitelské stanice byl nalezen komplex patogenů – virus z čeledi *Rhabdoviridae*, směs 4 různých fytoplazem a další vláknitý virus. Biolistická inokulace vysokými dávkami PSTVd viroidu vedla k paralyzujícímu efektu u rostlin rajčete.

b) výsledky výzkumu a vývoje pro ekonomickou sféru na základě hospodářských smluv.

Celkový počet 2

- Plnění funkce autorizované „Referenční fyto-sanitární diagnostické laboratoře pro diagnostiku a monitoring karanténních virů a virům podobných organismů drobného ovoce“ na základě akreditace a smlouvy s MZe ČR.
- Vývoj diagnostických souprav pro imunoenzymatické stanovení rostlinných virů na základě smlouvy s firmou BIOREBA AG, Švýcarsko.

c) nové firmy, které vznikly na základě výsledků činnosti ústavu v oblasti aplikovaného výzkumu:

žádná firma nevznikla

d) odborné expertizy zpracované v písemné formě pro státní orgány a instituce:

Celkem bylo vypracováno 64 odborných expertiz, z toho 34 posudků pro grantové agentury, 31 recenzí publikací v impaktovaných časopisech, 4 posudky doktorských prací, 1 posudek habilitační práce a 1 posudek pro APVT (Slovensko).

- Expertní činnost v rámci působení Virologické komise Ministerstva zemědělství ČR, jejíž činnost byla v roce 2005 ukončena. Nově vznikla „Rostlinolékařská rada“ jako poradní orgán Ministerstva zemědělství ČR, jejímž členem byl jmenován Doc. Ing. J. Špak, DrSc.
- Doc. Ing. J. Špak, DrSc byl jmenován členem nově vzniklé Rady pro podporu účasti AV ČR na evropské integraci výzkumu a vývoje (REI).

4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště**a) přehled mezinárodních projektů, které pracoviště řeší v rámci mezinárodních vědeckých programů**

- EU 6. rámcový program – Projekt RESISTVIR-Co-ordination of research on genetic resistance to control plant pathogenic viruses and their vectors in European crops. Projekt vytváří síť 50 evropských pracovišť pro studium rezistence k virovým chorobám rostlin.
- Projekt MŠMT v rámci dvoustranné spolupráce mezi MŠMT(ČR) a BMVEL (FRG) č. 8/04 "Vývoj metody pro inokulace rostlin virovými nukleovými kyselinami pomocí biolistického přenosu". Spolupráce s Fytopatologickým ústavem BAZ Aschersleben.
- Laboratoř stabilních izotopů oddělení fotosyntézy je zapojena do mezinárodní sítě laboratoří organizované Mezinárodní agenturou pro atomovou energii v rámci programu MIBA (Moisture Isotopes in Biosphere and Atmosphere).
- Byl zahájen nový projekt COST 863 „Euroberry research: from genomics to sustainable production, quality and health“, v rámci něhož se oddělení virologie ÚMBR podílí na výzkumu virových a virům podobných chorob rybízu.
- Ústav je zapojen do projektu EU COST 853 Microarrays in Agriculture - „Development of microarrays based biomarkers for detection of fruit viruses“, jehož cílem je vývoj nových diagnostických postupů rostlinných patogenů.

b) nejvýznamnější vědecké výsledky dosažené v rámci mezinárodní spolupráce;

- Ve spolupráci s laboratoří Prof. J. Jinaga, University of Wisconsin, Madison, USA byla provedena charakterizace centromerických retrotranspozónů rýže, a identifikace a charakterizace nových satelitních sekvencí u rodu *Solanum*.
- V rámci grantu Alexander von Humboldt stiftung, Gz.: 514-516.00SB DVO, V-8121/TRS/1017838 nazvaném: „Analysis of early steps of reversions in domain-defective variants of potato spindle tuber viroid (PSTVd) and characterization of pathogenesis reactions induced after biolistic transfer of viroid RNA.“ se podařilo vysvětlit mechanismus viroidní patogeneze, která souvisí s indukci posttranskripčního genového silencingu a vede

k takzvaným paralyzujícím efektům u citlivých rostlin. Tato patogeneze je spojena s aktivací tzv. bifunkční nukleázy a se zastavením diferenciací svazků cévních u infikovaných rostlin, přitom dochází ke značnému hromadění „si“ RNA.

- Ve spolupráci s laboratoří Prof. A. Bertaccini, Università v Bologni, Itálie byly poprvé charakterizovány fytoplazmy vyvolávající onemocnění lile.

(Bertaccini, A., Fránová, J., Botti, S., Tabanelli, D.: Molecular characterization of phytoplasmas in lilies with fasciation in the Czech Republic. - FEMS Microbiology Letters **249**: 79-85, 2005. *IF(04)*: 1,840)

c) uskutečněné akce s mezinárodní účastí, které pracoviště organizovalo nebo v nich vystupovalo jako spoluorganizátor

- 6th International Symposium in the Series Recent Advances in Plant Biotechnology: „From Laboratory to Business“, mezinárodní sympozium o rostlinných biotechnologiích pořádané v Českých Budějovicích 12.-16. 9. 2005, 151 účastníků, z toho 75 cizinců ze 14 evropských i mimoevropských zemí.

d) výčet jmen nejvýznamnějších zahraničních vědců, kteří navštívili pracoviště ÚMBR AV ČR

Prof. Dr. Y. Y. Gleba, Icon Genetics München
 Dr. J. Maclean, Faculty of Health Science, University of Cape Town, South Africa
 Prof. D. De Keukeleire, Ghent University, Belgium
 Prof. G. Weber, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany
 Prof. L. Wessjohann, Institute of Plant Biochemistry, Halle, Germany
 Prof. I. Roldán-Ruiz, Agricultural Research Centre, Melle, Belgium
 Prof. S. von Arnold, Swedish University of Agriculture, Uppsala, Sweden
 Prof. A. Bertaccini, University of Bologna, Italy
 Prof. J. Györgyey, Biological Research Center, Szeged, Hungary
 Dr. J. Schubert, BAZ Aschersleben, Germany
 Dr. J. Arrelano, Institute of Natural Resources and Agrobiolgy (CSIC), Salamanca, Spain.
 Prof. V. Sarafis, University of Queensland, Australia
 Dr. C. Bagyinka, Institute of Biophysics, Biological Research Centre, Szeged, Hungary
 Prof. G. Kerstiens, University of Lancaster, UK
 Prof. D. Wardle, University of Umea, Sweden
 Dr. S. Paltrinieri, University of Bologna, Italy
 Dr. S. Botti, University of Bologna, Italy

e) počet fungujících meziústavních dvoustranných dohod

- Společný projekt ÚMBR AV ČR-CNR Itálie, Prof. A. Bertaccini, Università v Bologni, 2004- 2006: Výzkum virových a fytoplazmových onemocnění rostlin.
- Smlouva o spolupráci při výchově studentů se Zemědělskou fakultou Univerzity v Pise (ze dne 17. 11. 2005, doba trvání 2 roky)

Přílohy:

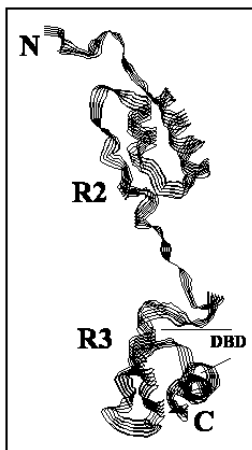
- 1) Anotace nejvýznamnějších vědeckých výsledků
- 2) Knižní publikace vydaná na ÚMBR AV ČR

1) Anotační příloha výroční zprávy ÚMBR AV ČR za rok 2004

KLONOVÁNÍ A MOLEKULÁRNÍ ANALÝZA REGULAČNÍHO FAKTORU HLMYB1 Z CHMELU (*HUMULUS LUPULUS* L.) A POTENCIÁL CHMELU PRODUKOVAT BIOAKTIVNÍ PRENYLOVANÉ FLAVONOIDY.

MATOUŠEK, J., VRBA, L., NOVÁK, P., PATZAK, J., DE KEUKELEIRE, J., ŠKOPEK, J., HEYERICK, A., ROLDÁN-RUIZ, I., DE KEUKELEIRE, D.

V práci jsme analyzovali genetický potenciál českého chmelu produkovat ozdravné látky tzv. prenylflavonoidy, mající mnohočetné protirakovinové, antiosteoporozní a další biologické aktivity. Tyto látky jsou syntetizovány v lupulinových žlázkách chmelových hlávek za účasti enzymu *chs_H1*, který byl českými spoluautory prioritně objeven. Tento potenciál souvisí s expresí regulačních faktorů typu MYB R2R3. V práci jsme popsali první takovýto faktor chmelu HlMyb1 (Obr. 1). Z vybraných českých chmelů, které jsou v současné době komerčně využívány, byla nejvyšší hladina těchto látek pozorována u kultivaru Agnus.



Obr 1. Struktura domény R2R3 faktoru HlMyb1, znázorněná s použitím programu RasWin v. 2.6.4. N a C označují N a C koncovou část polypeptidu. DBD označuje pozici domény jež zprostředkuje vazbu na DNA.

*Matoušek, J., Vrba, L., Novák, P., Patzak, J., De Keukeleire, J., Škopek, J., Heyerick, A., Roldán-Ruiz, I., De Keukeleire, D.: Cloning and molecular analysis of the regulatory factor HlMyb1 in hop (*Humulus lupulus* L.) and the potential of hop to produce bioactive prenylated flavonoids. - J. Agric. Food Chem. 53: 4793-4798 (2005).*

CLONING AND MOLECULAR ANALYSIS OF THE REGULATORY FACTOR HLMYB1 IN HOP (*HUMULUS LUPULUS* L.) AND THE POTENTIAL OF HOP TO PRODUCE BIOACTIVE PRENYLATED FLAVONOIDS.

MATOUŠEK, J., VRBA, L., NOVÁK, P., PATZAK, J., DE KEUKELEIRE, J., ŠKOPEK, J., HEYERICK, A., ROLDÁN-RUIZ, I., DE KEUKELEIRE, D.

In the present work we analyzed genetic potential of Czech hops to produce medicinal compounds so-called prenylflavonoids, having multiple anti-cancerogenic, anti-osteoporotic and other biological activities. These compounds are synthesized in lupulin glands of hop cones by enzyme chs_H1, that has been isolated originally by the Czech co-authors. The potential is connected to the expression of regulatory factors, such as MYB R2R3. In our work we described the first MYB factor of hop HlMyb1 (Fig. 1). From the selected recent commercial Czech hops, the highest levels of these compounds we detected in the cultivar Agnus.

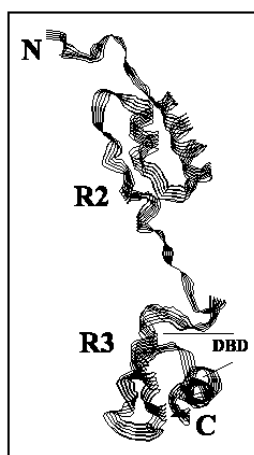


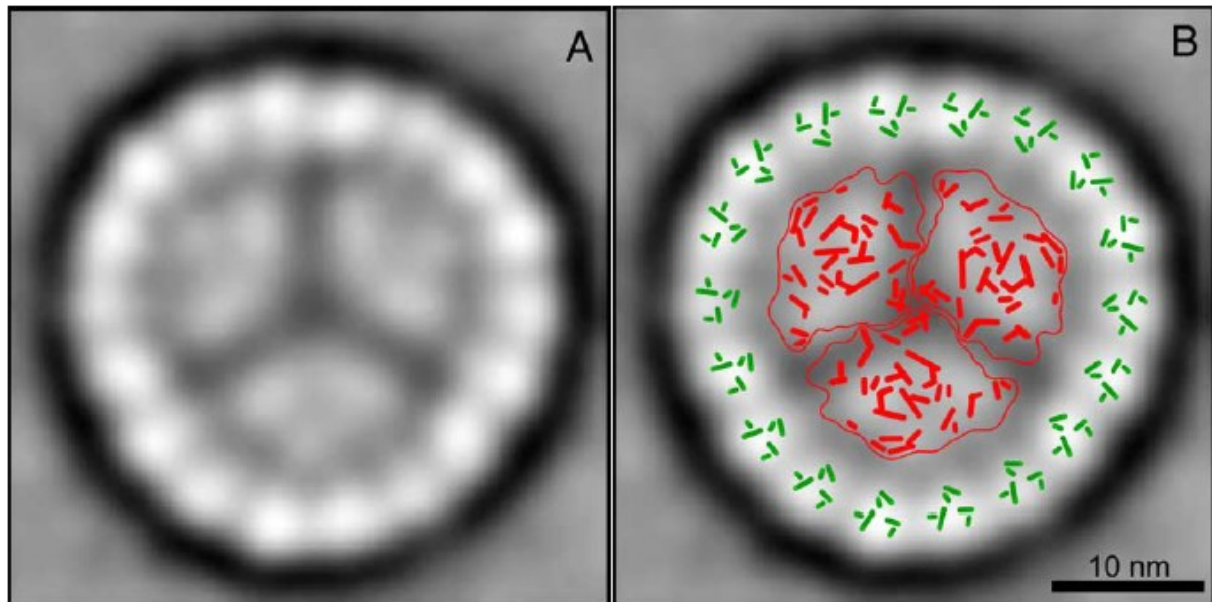
Fig. 1 The *HlMyb1* structure in the R2R3 domain of the protein, viewed using RasWin v. 2.6.4. N and C designate the N and C terminal parts of the polypeptide, respectively. DBD designates position of DNA binding domain.

Matoušek, J., Vrba, L., Novák, P., Patzak, J., De Keukeleire, J., Škopek, J., Heyerick, A., Roldán-Ruiz, I., De Keukeleire, D.: Cloning and molecular analysis of the regulatory factor HlMyb1 in hop (Humulus lupulus L.) and the potential of hop to produce bioactive prenylated flavonoids. - J. Agric. Food Chem. 53: 4793-4798 (2005).

NOVÝ TYP USPOŘÁDÁNÍ SVĚTLOSBĚRNÝCH ANTÉN U FOTOSYSTÉMU I POZOROVANÝ U SINICE *PROCHLOROTHRIX HOLLANDICA*.

BUMBA, L., PRÁŠIL, O., VÁCHA, F.

Studovali jsme strukturu fotosystému I u zvláštního druhu sinice *Prochlorothrix hollandica*. Tento druh je významný tím, že ve svých světloběrných anténách váže chlorofyl *b*, který se jinak vyskytuje jen u mnohem vyspělejších eukaryotních fotosyntetických organismů. Zjistili jsme, že u tohoto druhu jsou antény fotosystému I uspořádány do velmi neobvyklých útvarů, tvořících prstence obepínající tento fotosystém. Podobné útvary byly teprve nedávno pozorovány u sinic stresovaných nedostatkem železa nebo světla. V našem případě jsme prokázali, že k této neobvyklé organizaci světloběrných antén může docházet i za fyziologických podmínek. Zdá se, že tvorba prstenců ze světloběrných komplexů tak má mnohem hlubší význam než pouze reakci na světelný nebo nutriční stress.



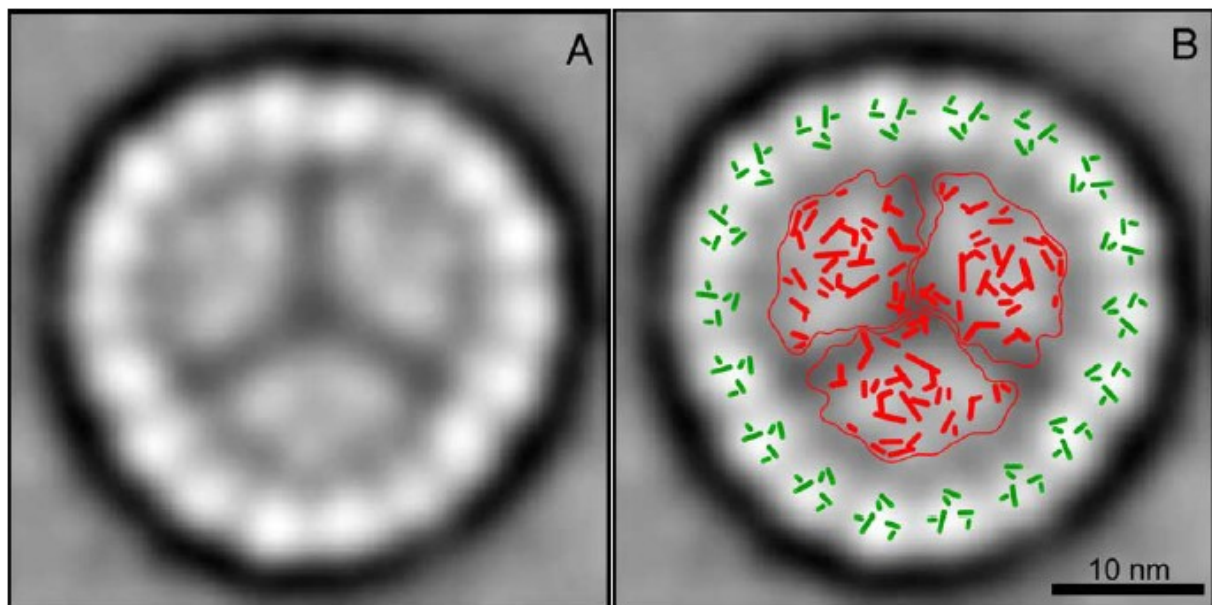
Na obrázku A) je snímek fotosystému I ze sinice *Prochlorothrix hollandica* získaný pomocí elektronového mikroskopu zprůměrováním 850 částic. Ve středu zobrazeného útvaru je vidět trimer fotosystému I, který je obklopený prstencem světloběrných antenních pigment-proteinových komplexů. Na obrázku B) je tento snímek překryt strukturou fotosystému I získanou ze sinice *Synechococcus elongatus* pomocí rentgenové difrakce (značeno červeně) a modelovou strukturou příslušných světloběrných komplexů *pcbC* (značeno zeleně) jejichž přesná struktura není dosud známa.

Bumba L., Prášil O. and Vácha F.: Antenna ring around trimeric photosystem I in chlorophyll b containing cyanobacterium Prochlorothrix hollandica. Biochim. Biophys. Acta 1708, 1-5 (2005)

NEW PHOTOSYSTEM I ANTENNA ORGANISATION IN CHLOROPHYLL *B* CONTAINING CYANOBACTERIUM *PROCHLOROTHRIX HOLLANDICA*

BUMBA, L., PRÁŠIL, O., VÁCHA, F.

Prochlorothrix hollandica is one of the three known species of unusual clade of cyanobacteria (formerly called “prochlorophytes”) that contain chlorophyll *a* and *b* molecules bound to intrinsic light-harvesting antenna proteins. We have characterised supramolecular organisation of complex containing Photosystem I (PSI) associated with the chlorophyll *a/b*-binding Pcb proteins. Electron microscopy and single particle image analysis of negatively stained preparations revealed that the Pcb-PSI supercomplex consists of a central trimeric PSI surrounded by a ring of 18 Pcb subunits. Such antennae organisation was recently observed in stressed cyanobacteria. We conclude that formation of the Pcb ring around trimeric PSI represents a mechanism for increasing the light-harvesting efficiency in chlorophyll *b*-containing cyanobacteria.



(A) The average top view projection map of the Pcb-PSI supercomplex isolated from *Prochlorothrix hollandica* with imposed three-fold rotational symmetry derived from image analysis of 850 negatively stained particles viewed under electron microscopy. (B) Top view projection map of the Pcb-PSI supercomplex overlaid with the cyanobacterial X-ray structure of the PSI trimer (red) and a model of transmembrane helices organisation of pcbC proteins (green).

Bumba L., Prášil O. and Vácha F.: Antenna ring around trimeric photosystem I in chlorophyll *b* containing cyanobacterium *Prochlorothrix hollandica*. *Biochim. Biophys. Acta* 1708, 1-5 (2005)

2) Knižní publikace vydaná na ÚMBR AV ČR

J. Bříza, D. Pavingerová, J. Špak (eds.): Book of Abstracts of 6th International Symposium in the Series Recent Advances in Plant Biotechnology: „From Laboratory to Business“, 153 stran, Attavena o.p.s. České Budějovice, 2005, ISBN 80-86778-16-9.