



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

# VÝROČNÍ ZPRÁVA

## 2004

## 1. Vědecká činnost ÚMBR a uplatnění jejích výsledků

### a) Stručná charakteristika vědecké činnosti ÚMBR

V ústavu byla v roce 2004 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.
- Vývoj alternativního selekčního systému založeného na manóza-6-fosfátisomeráze (PMI) při transformaci rajčete (*Lycopersicon esculentum*) a bramboru (*Solanum tuberosum*).
- Izolace genu pro chalkonsyntázu z rododendronu.
- Izolace markerů na bázi mikrosatelitů z genové knihovny topolu černého a stanovení jejich informativnosti.
- Studium mechanismů působení silencingu prostřednictvím transformace a infekce modifikovanými viry (VIGS) u rostlin, s cílovými molekulami zejména viroidní RNA a genů pro nukleolytické aktivity.
- Studium genomové organizace a variability cílových sekvencí a domén viroidů, virů, a vybraných genů izolovaných z genomové a cDNA knihoven chmelu a z genomu *A. thaliana*. Zjišťování jejich funkce v heterologních systémech v rámci funkční genomiky.
- Rozpracování systému vnesení viroidní RNA, dsRNA, aberantních RNA a mRNA do rostlinných buněk biolistickou metodou a metodou agroinfiltrace.
- Vývoj molekulárních detekčních metod a detekce rostlinných virů, viroidů, fytoplazem a fytopatogenních bakterií; studium molekulární variability těchto patogenů, exprese virových bílkovin.
- Molekulární charakterizace vybrané hypervariabilní mikrosatelitní sekvence vhodné pro identifikaci genomu *Linum* sp. a zástupců čeledi *Linaceae*.
- Provedení počítačové analýzy obrazu morfologických charakteristik mutantů, získaných při inzerční mutagenézi *Linum usitatissimum* L. a charakterizace vybraných vývojových mutací u *Arabidopsis thaliana*.
- Studium struktury a funkce fotosyntetických komplexů a regulačních mechanismů fotosyntézy se zaměřením na studium souvislosti mezi strukturou, funkcí a regulací na úrovni fotosystému II a stomatální regulace.

### b) Výčet nejdůležitějších výsledků vědecké činnosti a jejich aplikací

„B“ Podařilo se aplikovat metodu COD-FISH (chromosome orientation and direction fluorescence in situ hybridization) poprvé na chromozómy rostlin, a to konkrétně na výzkum uspořádání několika typů satelitní DNA u hrachu a vikve seté. Tato metoda umožňuje zjišťovat orientaci DNA sekvencí na chromozómech in situ a doposud byla úspěšně zvládnuta jen pro použití na chromozómech lidí a několika dalších druhů savců. Tento typ repetitivní DNA tvoří významnou součást genomů studovaných druhů, ve kterých se nachází ve formě dlouhých řad až desítek tisíc opakujících se základních jednotek (monomerů). Bylo zjištěno, že většina takovýchto oblastí genomu obsahuje

monomery uspořádané ve stejné orientaci, a že tato orientace je v některých případech v korelaci s orientací telomerických repetitivních sekvencí na koncích chromozómů. Získané výsledky jsou významné především jako první krok k objasnění uspořádání satelitní DNA na chromozómech a tím i k pochopení molekulárních mechanismů působících v genomu na tento typ repetitivních sekvencí.

(Navrátilová, A., Neumann, P., Macas, J.: Long-range organization of plant satellite repeats investigated using strand-specific FISH. *Cytogenetic and Genome Research*, *accepted 2004*)

**„B“** Byl izolován a podrobně charakterizován jeden z rostlinných retroelementů typu Ty3/*gypsy*, které obsahují otevřený čtecí rámec potenciálně kódující *env* protein. Jde o novou rodinu retroelementů nazvanou PIGY, která se mj. odlišuje od ostatních potenciálních endogenních retrovirů rostlin zdvojenou *env*-doménou. Izolované PIGY elementy jsou dále výjimečné tím, že jejich kódující sekvence nejsou téměř zmutované, což umožňuje spolehlivou dedukci odpovídajících proteinových sekvencí. Retrotranspozóny tvoří podstatnou část genomů vyšších rostlin a významně se podílí na jejich formování a evoluci. Dvě hlavní skupiny retrotranspozónů, Ty1/*cop* a Ty3/*gypsy*, se navzájem odlišují pořadím domén kódujících proteiny důležité pro replikační cyklus retrotranspozónu, avšak žádná z nich nezahrnuje elementy obsahující gen pro *env* protein. Tento gen je přítomen u retrovirů a kóduje kapsidový protein potřebný pro tvorbu infekčních částic.

(Neumann, P., Požárková, D., Macas, J., 2004 - PIGY, a new plant *envelope*-class LTR retrotransposon. *Molecular Genetics and Genomics*, *accepted 2004*)

**„B“** Byly analyzovány mikroevoluční změny v populacích viroidních termomutantů PSTVd. U tohoto viroidu se podařilo experimentálně přenést populace termomutantů na nehostitelské druhy čeledi *Brassicaceae*. Bylo zjištěno, že viroid v těchto rostlinných druzích tvoří populace o nízké hladině RNA, kde většina molekul projevuje defekty v doménách důležitých pro processing a replikaci v původním hostiteli. V procesu re-inokulace a následné infekce dochází v původním hostiteli k jejich re-adaptaci.

(Matoušek, J., Orctová, L., Steger, G., Škopek, J., Moors, M., Dědič, P., Riesner, D.: Analysis of thermal stress-mediated PSTVd variation and biolistic inoculation of progeny of viroid "thermomutants" to tomato and Brassica species. - *Virology* 323: 9-23, 2004).

**„B“** Bylo zjištěno, že při biolistickém přenosu viroidní RNA dochází k zesílenému patogennímu efektu a k zastavení vývoje rostlin. Tento mechanismus je nyní analyzován molekulárně genetickými metodami. Uvedená zjištění mohou mít praktický význam z hlediska kontroly šíření viroidních patogenů.

(Matoušek, J., Orctová, L., Steger, G., Riesner, D.: Biolistic inoculation of plants with viroid nucleic acids. - *J. Virol. Methods* 122: 153-164, 2004.)

**„B“** Byly studovány exprese rostlinných chalkonsyntáz participujících na syntéze hořkých kyselin a ozdravných prenylflavonoidů u chmelu. Byla zjištěna prodloužená exprese těchto enzymů u vysokoobsažných genotypů chmelu, což svědčí o významné úloze některých regulačních elementů, které jsou dále zkoumány.

(Novák, P., Krofta, K., Matoušek, J.: Chalcone synthase homologues from *Humulus lupulus* – some enzymatic properties and expression. *Biol. Plant.*, *accepted 2004*),

**„B“** Byl sekvenován segment genomu pro polymerázu Strawberry crinkle rabdoviru. Tato sekvence byla použita pro klasifikaci viru v systému a byl vyvinut detekční systém viru metodami RT-PCR a AmpliDet RNA.

(Klerks, M.M., Lindner, J.L., Vašková, D., Špak, J., Thompson, J.R., Jelkmann, W., Schoen, C.D.: Detection and tentative grouping of Strawberry crinkle virus isolates European. *Journal of Plant Pathology* 110: 45-52, 2004.)

- „B“ Byla zjištěna přítomnost fytoplazem v červeném a bílém rybízu. Molekulárními metodami byly patogeny identifikovány.  
(Špak J., Příbylová, J., Kubelková, D., Špaková, V., Navrátil, M., Válová, P., Fialová, R., Karešová, R.: Present status of research on the etiology of the full blossom disease in red and white currants in the Czech Republic. *Acta Horticulturae* 656: 99-102, 2004.)
- „B“ V rostlinách červeného a bílého rybízu s příznaky plnokvětosti byla prokázána přítomnost viru zvratu černého rybízu.  
(Špak J., Příbylová, J., Kubelková, D., Špaková, V.: The presence of phytoplasma in black currant infected with the blackcurrant reversion disease. *Journal of Phytopathology* 152: 600-605, 2004.)
- „B“ V rostlinách černého rybízu se silnými příznaky zvratu byla amplifikací a pozorováním v elektronovém mikroskopu prokázána přítomnost viru zvratu černého rybízu, současně s tím však byly nalezeny fytoplazmové částice, které byly později identifikovány jako fytoplazma ze skupiny aster yellows (16SrI).  
(Příbylová J., Špak J., Kubelková D., Lemetty A.: The presence of Blackcurrant reversion virus in red and white currants with symptoms of full blossom disease. *Acta Horticulturae* 656: 131-136, 2004.)
- „B“ Byla analyzována světová sbírka izolátů TuMV a byla zjištěna existence dvou odlišně se vyvíjejících populací, které se částečně liší i spektrem hostitelů.  
(Tomimura K., Špak, J., Katis, N., Jenner, C.E., Walsh, J.A., Gibbs, A.J., Ohshima, K.: Comparison of the genetic structure of populations of Turnip mosaic virus in west and east Eurasia. *Virology* 300: 408-423, 2004.)
- „B“ Byla vyvinuta molekulární metoda detekce Strawberry vein banding viru založená na amplifikaci a detekci v reálném čase za použití speciálně konstruované hybridizační sondy. Tato technika byla úspěšně testována na několika stovkách polních vzorků.  
(Vašková, D., Špak, J., Klerks, M.M., Schoen, C.D., Thompson, J.R., Jelkmann, W.: Real-time NASBA for detection of Strawberry vein banding virus. *European Journal of Plant Pathology* 110: 213-221, 2004.)
- „B“ Pomocí kombinace experimentálních a výpočetních metod jsme jako první prokázali lokalizaci kationtu na pomocném chlorofylu v reakčním centru fotosystému II vyšších rostlin po rozdělení náboje. Význam práce spočívá v tom, že dosud se výskyt kationtu předpokládal na jiném tzv. dimerovém chlorofylu.  
(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.*, *accepted 2004*).
- „B“ Objevili jsme ojedinělé uspořádání antén fotosystému I. Antény jsou uspořádány v kruhu tvořeném 18 podjednotkami, který obklopuje trimer fotosystému I. Toto uspořádání je v přírodě velmi neobvyklé a pravděpodobně se vyskytuje pouze u organismů rostoucích v extrémních podmínkách jak světelných tak i např. nutričních.  
(Bumba, L., Prášil, O and Vácha, F.: Antenna ring around trimeric photosystem I in chlorophyll b containing cyanobacterium *Prochlorothrix hollandica*. *Biochim. Biophys. Acta*, *accepted 2004*)
- „B“ Byly nalezeny statisticky významné korelace v rámci dat získaných z „inter-simple-sequence repeat“ (ISSR) spekter, jmenovitě: 1) mezi volnou energií  $\Delta G^0$  ISSR primerů a intenzitou reamplifikace ( $dA_i$ ), 2) mezi volnou energií  $\Delta G^0$  ISSR primerů a PIC koeficientem, 3), resp. 4) mezi volnou energií  $\Delta G^0$  sekvence kotvy primerů a počtem veškerých, resp. polymorfních fragmentů v ISSR spektrech. Na základě těchto korelací byla vyvozena metodická doporučení pro efektivní navrhování primerů pro získávání ISSR markerů z genomu lnu.  
(Wiesner, I. and Wiesnerová, D. : Statistical correlations of primer thermodynamic stability  $\Delta G^0$  for enhanced flax ISSR-PCR cultivar authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 520: 2568-2571, 2004.)

**c) Nejvýznamnější popularizační aktivity ÚMBR**

- Byl zorganizován 4. ročník „*Letních akademických kurzů*“ (LAK 2004) pro studenty středních škol v Akademickém a univerzitním centru v Nových Hradech.
- V rámci Týdne vědy a techniky, pořádaného Akademií věd ČR byla přednesena přednáška: „*Letní akademické kurzy*“ a „*Schola ludus*“: *projekty Akademického a univerzitního centra v Nových Hradech pro nadané studenty středních a vysokých škol*. Praha. 9.11.2004. „*Biologická bezpečnost geneticky modifikovaných plodin, mýty a skutečnost*“ – KAV ČR - 9.11.2004.
- Den otevřených dveří byl zorganizován 12.11.2004. ÚMBR navštívilo celkem 21 zájemců.
- Uskutečnily se 2 popularizační přednášky pro širší veřejnost o problematice GMO:
  1. „*Monitorování řepky olejné (Brassica napus L.) odolné k herbicidům v ČR*“. Sborník ze semináře: *Otázky biologické bezpečnosti, GMO a mezinárodní závazky ČR (implikace pro zemědělství ČR) konaného ve VÚRV (2/2004)*.
  2. „*EU a otázky biologické bezpečnosti*“, seminář a veřejná schůze ČK GMO - 24.11.2004.
- Vyžádaná publikace do časopisu Rostlinolékař, na téma karanténního viru SVBV.

**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 17 VŠ pracovníků, kterým končila pracovní smlouva k 31. 12. 2004. Hlavními kritérii při rozhodování o délce nových smluv a zařazení do kvalifikačních stupňů a platových tříd byly publikační aktivita a úspěšnost při získávání grantů. Dvěma vědeckým pracovníkům nebyla vzhledem k dlouhodobě nízké vědecké produktivitě prodloužena pracovní smlouva, 1 vědecký pracovník byl přeřazen do kvalifikačního stupně odborný pracovník VaV.
- Na základě hodnocení výsledků výzkumné činnosti ÚMBR AV ČR za období 1999-2003 a výzkumného záměru na období 2005-2010, doporučení hodnotící komise a jednání vědecké rady ÚMBR AV ČR, byla vyhlášena k 1.1.2005 reorganizace ústavu. Cílem reorganizace je personální, materiální a prostorové posílení nejlépe hodnocených oddělení ústavu a zlepšení výsledků ústavu v dalším období.
  - 1) Na základě doporučení VR ÚMBR AV ČR k 1.1.2005 bylo zrušeno Oddělení rostlinné genomiky a odvolán Ing. I. Wiesner, CSc. z funkce vedoucího oddělení.
  - 2) S platností od 1.1.2005 byla přeřazena paní J. Látalová na Oddělení molekulární cytogenetiky, dále Ing. T. Kocábek, PhD. na Oddělení molekulární genetiky, pod přímé vedení RNDr. J. Matouška, CSc.
  - 3) S platností od 1.1.2005 byli přeřazeni Ing. I. Wiesner, CSc., Ing. D. Wiesnerová a slečna J. Jehlíková na Oddělení genových manipulací.

- 4) Vedoucím oddělení ÚMBR AV ČR bylo uloženo směřovat oddělení k excelentnímu základnímu výzkumu, trvale sledovat publikační a grantovou aktivitu pracovníků a neprodleně řešit zjištěné nedostatky.

## 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 a anatomie rostlin Biologické fakulty Jihočeské university byla navržena metoda měření difusivity vody přes pevnou fázi porézní kutikulární membrány.  
(Šantrůček, J., Šimaňová, E., Karbulková, J., Šimková, M., Schreiber, L.: A new technique for measurement of water permeability of stomatous cuticular membranes isolated from *Hedera helix* leaves. - *Journal of Experimental Botany* 55: 1411-1422, 2004.)
- Ve spolupráci s MFF UK v Praze byly studovány mechanismy samoorganizace bakteriálních světlosběrných komplexů chlorosomů.  
(Klinger, P., Arellano, J.B., Vácha, F., Hála, J. and Pšenčík, J. (2004) Effect of Carotenoids and Monogalactosyl Diglyceride on Bacteriochlorophyll c Aggregates in Aqueous Buffer: Implications for the Self-Assembly of Chlorosomes. *Photochem. Photobiol. B.*, *accepted 2004*)

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

- V rámci spolupráce na projektu výzkumných center bylo dosaženo důležitých výsledků na poli spektroskopie jednotlivých molekul, výpočetní biochemie a studia ultrastruktury chloroplastů.  
(Valenta, J., Janda, P., Dohnalová, K., Niznansky, D., Vácha, F., Linnros, J.: Colloidal suspensions of silicon nanocrystals: From single nanocrystals to photonic structures. *Optical Materials*, *accepted 2004*.  
Vácha, F., Pšenčík, P., Kutý, M., Durčan, M., Šiffel, P.: Evidence for localisation of accumulated chlorophyll cation on the D1-accessory chlorophyll in reaction centre of photosystem II. *Photosynth. Res.*, *accepted 2004*)
- Ve spolupráci s výzkumným centrem LN001141 „Mechanismy, ekofyziologie a biotechnologie fotosyntézy“ byla vybudována laboratoř stabilních izotopů. Výsledky měření heterogenity izotopového složení vodíku a kyslíku ve vodě v listech rostlin a heterogenity izotopového složení uhlíku napříč listem jsou připravovány pro publikace.
- Ve spolupráci s Univerzitou Palackého Olomouc, byla zjištěna přítomnost fytoplazem v červeném a bílém rybízu. Molekulárními metodami byly fytoplazmy identifikovány.  
(Špak J., Příbylová, J., Kubelková, D., Špaková, V., Navrátil, M., Válová, P., Fialová, R., Karešová, R.: Present status of research on the etiology of the full blossom disease in red and white currants in the Czech Republic. *Acta Horticulturae* 656: 99-102, 2004).

### 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 31 - H160 „Molekulární genetika rostlin, genové manipulace a ekologie“. Do grantu je zatím zapojeno 5 doktorandů ÚMBR.
- Spolupráce ÚMBR na realizaci doktorského studijního programu „Biofyzika“ v Ústavu fyzikální biologie JU
- 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.
- Ústav má uzavřeny dlouhodobé smlouvy o spolupráci s Biologickou fakultou JU a Zemědělskou fakultou JU. Nově byla v roce 2004 uzavřena smlouva o spolupráci s Pedagogickou fakultou JU, na základě žádosti děkana fakulty o pomoc při zajištění výuky biologických předmětů.

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

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

Celkový počet 6

- NAZV QE1123 „Zvyšování konkurenceschopnosti odrůd lnu (*Linum usitatissimum* L.) a diverzifikace jejich užití šlechtěním klasickými a biotechnologickými postupy“. AGRITEC, s.r.o., Šumperk. Výsledky: z ÚMBR do Agritec Šumperk předány transgenní rostliny se začleněným genem bar získané inzerční mutagenezí lnu, realizace společných polních pokusů s geneticky modifikovaným lnem v Agritec Šumperk.
- GA ČR 521/03/0072 „Funkční genomika chmelu (*H. lupulus* L.) s ohledem na geny kodeterminující produkci lupulinu.“ Chmelařský ústav s.r.o., Žatec. Výsledky: byly analyzovány genomové a cDNA knihovny chmelu.
- NAZV QC1183 „Komplexní diagnostika a rozšíření viroidních patogenů chmele, brambor, révy vinné, ovocných a okrasných kultur v ČR“. Chmelařský ústav s.r.o. – nositel, ÚMBR AV ČR, České Budějovice - spolunositel. Výsledky: byla prováděna standardní diagnostika metodou RT PCR.
- 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: byl analyzován genom viru PVS systémem „Immunocapture RT PCR probing“. Byly získány poznatky o nových středoevropských izolátech viru PVS, a byly získány molekulární přístupy pro jejich diagnostiku.
- MŠMT ME 710 „Genetická transformace a molekulární markery ve vývoji kultivarů lnu.“ AGRITEC, s.r.o., Šumperk. Výsledky: byla zvládnuta metodika transformace lnu.
- GA ČR 522/02/0040 „Studium etiologie choroby plnokvětost rybízu“, Univerzita Palackého Olomouc, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský s.r.o., Holovousy. Výsledky: Byla zjištěna přítomnost fytoplazem v červeném a bílém rybízu. Molekulárními metodami byly fytoplazmy identifikovány.

**b) výsledky výzkumu a vývoje pro ekonomickou sféru na základě hospodářských smluv.****Celkový počet 3**

- MŽP/340/1/13/GMO/04 „Monitoring pěstebních ploch, přenos a detekce transgenů geneticky modifikované řepky olejky a identita transgenů GM kukuřice“ (smlouva mezi ÚMBR a MŽP). Anotace: Byla provedena kontrolní stanovení výskytu transgenních rostlin na lokalitách, kde byla v předchozích letech pěstována geneticky modifikovaná řepka a byla zdokonalena metoda kvantitativní PCR pro transgen kódující  $\delta$ -endotoxin v kukuřici. Registrační a předregistrační zkoušky GM řepky probíhaly v ČR až do r. 2001 na 13 lokalitách. Po ukončení zkoušek byly uvedené lokality v letech 2002-2004 namátkově monitorovány a byl zjišťován výskyt rostlin GM řepky vzešlých z výdrolu předcházejících let jakož i případný výskyt transgenů v příbuzných druzích. Rostliny řepky z výdrolu, případně ojedinělé rostliny z předchozího roku schopné dosáhnout reprodukčního stadia, se vyskytly jen na těch z polí, na kterých v době monitoringu dosud nebylo provedeno ošetření vhodným postemergentním herbicidem. Podíl transgenních rostlin přibližně odpovídal podílu plochy (z plochy celkové), na níž byly transgenní rostliny (v poměru k netransgenním) pěstovány. Při detekci transgenů na omezených souborech řepce příbuzných druhů rostlin (ohnice, řepice, hořčice rolní, rukev sp.) rostoucích přímo na pokusné ploše či v její těsné blízkosti (do vzdálenosti 10 m), nebyly nalezeny žádné rostliny s transgenem. U transgenní kukuřice byly porovnávány dva segmenty sekvencí charakteristické pro konstrukci MON810. Segment z 5'-konce konstrukce zahrnoval část promotoru 35S a úsek intronu HSP70. Segment z 3'-konce konstrukce zahrnoval úsek před genem *Cry* a jeho část. Amplifikované úseky byly sekvenovány jako PCR produkty nebo jako klonované fragmenty z plazmidu.
- 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.
- Na základě žádosti odboru karantény Státní rostlinolékařské správy bylo provedeno testování 100 vzorků *Prunus armeniaca* metodou „nested“ PCR na výskyt Evropské žloutenky peckovin (ESFY), která je evropským karanténním patogenem.

**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 69 expertíz, recenzí publikací a posudků, především pro grantové agentury (21).

- Odborné posudky k žádostem o nakládání s geneticky modifikovanými organismy (GMO) pro Ministerstvo životního prostředí ČR.
- Od května 2004 posudky a zprávy k žádostem o registraci GMO z EU.
- Odborná kontrola pracovišť, které nakládají s GMO.
- Expertní činnost v rámci činnosti Virologické komise Ministerstva zemědělství ČR.



#### 4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště

##### a) přehled mezinárodních projektů, které pracoviště řeší v rámci mezinárodních vědeckých programů

- EU COST „Array-Technology in Potato Pathogen Detection“.
- Projekt v rámci programu KONTAKT (CZE 00/032) „Strukturní a funkční analýza viroidních termomutantů“. Partnerská organizace: Institut für Physikalische Biologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Financuje MŠMT.
- OC 853.001 – COST „Development of microarrays based biomarkers for detection of fruit viruses“.
- projekt MŠMT na podporu mobility v rámci dvoustranné spolupráce mezi MŠMT(ČR) a BMVEL (FRG) č. 8/04 "Alternative infections methods".
- 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).

##### b) nejvýznamnější vědecké výsledky dosažené v rámci mezinárodní spolupráce;

- Ve spolupráci s oddělením ekofyziologie Ústavu buněčné a molekulární botaniky Univerzity v Bonnu jsme navrhli metodu měření difuzivity vody přes pevnou fázi porézní kutikulární membrány a výsledky publikovali. Práce byla podporována grantem programu KONTAKT MSMT ME 368: „Heterogenita propustnosti kutikulární membrány“. Tento grant skončil již v r. 2003, ale některé výsledky byly základem dalších experimentů, které vedly k uvedené práci.  
(Šantrůček, J., Šimaňová, E., Karbulková, J., Šimková, M., Schreiber, L.: A new technique for measurement of water permeability of stomatous cuticular membranes isolated from *Hedera helix* leaves. *Journal of Experimental Botany* 55: 1411-1422, 2004.).
- projekt MŠMT na podporu mobility v rámci dvoustranné spolupráce mezi MŠMT(ČR) a BMVEL (FRG) č. 8/04 „Alternative infections methods“. - V rámci spolupráce s Fytopatologickým ústavem BAZ Aschersleben, byly získány poznatky o uplatnění specifických molekul antisense RNA pro navození rezistence bramboru k viru PVS a dále poznatky o variabilitě viru a stabilitě transgenů v polních pokusech  
(Schubert, J., Matoušek, J., Mattern, D.: Pathogen-derived resistance in potato to Potato virus Y: aspects of stability and biosafety under field conditions. - *Virus Research* 100: 41-50, 2004.)
- Ve spolupráci s laboratoří Dr. A. Torres, CIFA Cordoba, Španělsko byly zdokonaleny syntetické mapy genomu bobu (*Vicia faba*) zahrnující fyzikálně lokalizované genetické markery.

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

- Mini-symposium „Chlorophyll fluorescence in life of a man and plants“ (Memorial meeting on the occasion of Pavel Šiffel's 50<sup>th</sup> birthday). ÚMBR AV ČR, České Budějovice, 26.-27.11. 2004. počet účastníků 54, z toho zahraničních 5.

- Mezinárodní blokový kurz pro studenty a doktorandy „Stable isotopes in Plant Physiology and Ecology“ pořádaný ve spolupráci s Technical University of Munich, Dept. Grassland Science, Freising. Počet účastníků: 21, z toho zahraničních 12.

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

- Prof. Dr. Dr.h.c. Hartmut K. Lichtenthaler, Botanisches Institut der Universität Karlsruhe, Karlsruhe, Germany.
- Prof. Dr. Benoît Schoefs, University of Burgundy at Dijon, Dijon, France.
- Dr. Erhard Pfündel, University of Würzburg, Würzburg, Germany.
- Dr. Juan Arrelano, Institute of Natural Resources and Agrobiology (CSIC), Salamanca, Spain.
- Prof. Vassilios Sarafis, University of Queensland, Australia.
- Dan Yakir, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.
- Gert Gleixner, Max Planck Institute, Jena, Německo.
- Hans Schnyder, Technical University of Munich, Freising, Německo.
- Prof. G. Weber, Hohenheim Univ. Stuttgart, Německo.
- Prof. D. Riesner, Dusseldorf Univ., Německo .
- Prof. G. Steger, Dusseldorf Univ., Německo.
- Prof. D.DeKeukeleire, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Univ. Ghent, Belgium.
- Prof. Dr. H.-U. Koop, Botanisches Institut Ludwig-Maximilians-Universität München
- Prof. Dr. Y. Y. Gleba, Icon Genetics München, Německo
- Prof. Dr. G. Adam, Hamburg Univ., Německo
- Dr. Lesley Torrance, SCRI, Dundee, Velká Británie

**e) počet fungujících meziústavních dvoustranných dohod**

Ústav nemá žádnou meziústavní dvoustrannou dohodu

**Přílohy:**

Příloha I (anotace)

Příloha II (tabulková část)

I)

Anotační příloha výroční zprávy ÚMBR AV ČR za rok 2004**ANALÝZA MUTACÍ VIROIDU PSTV VYVOLANÝCH TEPLTNÍM ŠOKEM A BIOLISTICKOU INOKULACÍ U POTOMSTVA VIROIDNÍCH TERMOMUTANTŮ RAJČETE A ŘEPKY.***MATOUŠEK, J., ORCTOVÁ, L., STEGER, G., ŠKOPEK, J., MOORS, M., DĚDIČ, P., RIESNER, D.*

Teplotní stres vede u rostlinných viroidů, významných patogenů parazitujících u rostlin, tvořených krátkou ribonukleovou kyselinou k vysoké frekvenci mutací. Vzniklí termomutanti jsou schopni se adaptovat na nové rostlinné druhy, kde tvoří nové populace. U viroidu vřetenovitosti bramborových hlíz jsme prokázali přizpůsobivost těchto molekul na některé rostliny z čeledi motýlokvětých, kde vznikaly zvláštní nové mutace. Po převodu do původního hostitele došlo k readaptaci. Práce prokazuje zásadní význam termomutací jako substrátu pro evoluční změny u těchto patogenů.

*Matoušek, J., Orctová, L., Steger, G., Škopek, J., Moors, M., Dědič, P., Riesner, D.: Analysis of thermal stress-mediated PSTVd variation and biolistic inoculation of progeny of viroid "thermomutants" to tomato and Brassica species. - Virology 323: 9-23 (2004)*

**ANALYSIS OF THERMAL STRESS-MEDIATED PSTVD VARIATION AND BIOLISTIC INOCULATION OF PROGENY OF VIROID "THERMOMUTANTS" TO TOMATO AND BRASSICA SPECIES.**

*MATOUŠEK, J., ORCTOVÁ, L., STEGER, G., ŠKOPEK, J., MOORS, M., DĚDIČ, P., RIESNER, D.*

A thermal stress leads to mutagenesis of viroids, plant pathogens formed by short ribonucleic acid. Resulting thermomutants are able to adapt to new plant species. We confirmed for potato spindle tuber viroid thermomutants their adaptation to some *Brassica* plant species. Specific nucleotide and domain changes occurred during viroid infection in these species and re-adaptation occurred during re-infection of original host. This work show principal significance of thermomutants for viroid evolution.

*Matoušek, J., Orctová, L., Steger, G., Škopek, J., Moors, M., Dědič, P., Riesner, D.: Analysis of thermal stress-mediated PSTVd variation and biolistic inoculation of progeny of viroid "thermomutants" to tomato and Brassica species. - Virology 323: 9-23 (2004)*

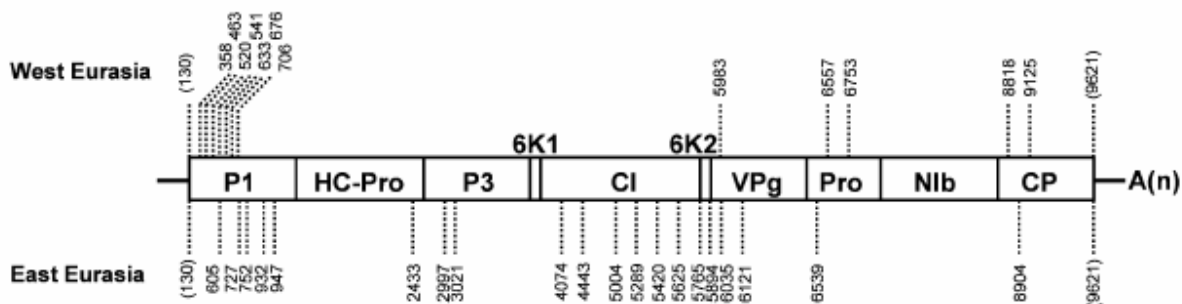
## OBJASNĚNÍ GENETICKÉ DIVERZITY SVĚTOVÉ POPULACE TuMV

TOMIMURA, K., ŠPAK, J., KATIS, N., JENNER, C.E., WALSH, J.A., GIBBS, A.J., OHSHIMA, K.

Virus mozaiky vodnice (Turnip mosaic virus – TuMV) je celosvětově pravděpodobně nejrozšířenější a nejvýznamnější virus infikující brukvovité rostliny. Je to vláknitý virus s RNA genomem dlouhým kolem 10 000 nukleotidů kódujícím 10 různých proteinů. Jeho evropské a západoasijské populace infikují převážně rostliny z rodu brukev (*Brassica*), východoasijské populace pak navíc i rostliny z rodu ředkev (*Raphanus*). Celkem bylo analyzováno 70 evropských a západoasijských izolátů, 72 východoasijských izolátů a 6 izolátů jiného původu. Sekvenování přibližně třetiny délky genomu všech izolátů a následující srovnání dat ukázalo, že východoasijská populace TuMV je mnohem méně divergována než evropská populace. Vyskytuje se v ní však jiný poměr nesynonymních a synonymních substitucí, což naznačuje, že se viry v této populaci vyvíjejí nezávisle na původní evropské populaci. Kromě toho se v obou populacích vyskytují izoláty, které vznikly rekombinací. Tento jev je u virů znám, ale na takovém souboru celosvětových vzorků ho nikdo dosud nezkoumal. Zajímavé je, že u evropských a západoasijských izolátů nejčastěji rekombinoval gen pro protein P1, který má funkci proteázy a ovlivňuje šíření viru v rostlině, zatímco u východoasijských izolátů se rekombinace našly rozložené po celém genomu. Předpokládáme, že přinejmenším některé rekombinace v genu P1 a v genu VPg přináší virům evoluční výhodu, protože takovéto viry v populacích přežívají.

Mapa míst rekombinací na genomu TuMV.

## Recombination sites



Tomimura, K., Špak, J., Katis, N., Jenner, C.E., Walsh, J.A., Gibbs, A.J., Ohshima, K.: Comparison of the genetic structure of populations of Turnip mosaic virus in west and east Eurasia. - *Virology* 300: 408-423 (2004).

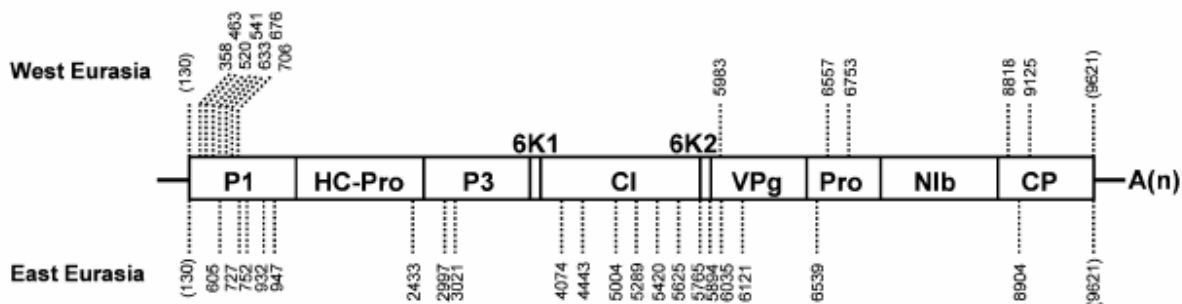
## ELUCIDATION OF THE GENETIC DIVERSITY OF THE WORLD POPULATION OF TuMV

TOMIMURA, K., ŠPAK, J., KATIS, N., JENNER, C.E., WALSH, J.A., GIBBS, A.J., OHSHIMA, K.

The genetic structure of populations of Turnip mosaic virus (TuMV) in Eurasia was assessed by making host range and gene sequence comparisons of 142 isolates. Most isolates collected in West Eurasia infected Brassica plants whereas those from East Eurasia infected both Brassica and Raphanus plants. Analyses of recombination sites (RSs) in five regions of the genome (one third of the full sequence) showed that the protein 1 (P1 gene) had recombined more frequently than the other gene regions in both subpopulations, but that the RSs were located in different parts of the genomes of the subpopulations. Estimates of nucleotide diversity showed that the West Eurasian subpopulation was more diverse than the East Eurasian subpopulation, but the Asian-BR group of the genes from the latter subpopulation had a greater nonsynonymous/synonymous substitution ratio, especially in the P1, viral genome-linked protein (VPg) and nuclear inclusion a proteinase (NIa-Pro) genes. These subpopulations seem to have evolved independently from the ancestral European population, and their genetic structure probably reflects founder effects.

Recombination maps of TuMV genomes: The estimated nt positions of the recombinant sites are shown.

## Recombination sites



Tomimura, K., Špak, J., Katis, N., Jenner, C.E., Walsh, J.A., Gibbs, A.J., Ohshima, K.: Comparison of the genetic structure of populations of Turnip mosaic virus in west and east Eurasia. - *Virology* 300: 408-423 (2004).