



Ústav experimentální botaniky, v.v.i.
Akademie věd ČR

VÝROČNÍ ZPRÁVA

za rok
2006

Praha, leden 2007

1. VĚDECKÁ ČINNOST PRACOVIŠTĚ A UPLATNĚNÍ JEJÍCH VÝSLEDKŮ:

a) stručná charakteristika vědecké činnosti pracoviště:

Ústav experimentální botaniky AV ČR se zabývá základním a cíleným výzkumem v genetice, fyziologii, patofyziologii a biotechnologiích rostlin. ÚEB v roce 2006 pokračoval v řešení výzkumného záměru s názvem *Mechanismy regulace růstu a vývoje rostlin na úrovni buněk, orgánů a celých organismů: fyziologické, genetické a molekulárně biologické základy* (AV0Z50380511, 2005-2010).

Cílem výzkumného záměru je přispět k objasnění základních mechanismů regulace růstu a vývoje rostlin, zejména v následujících oblastech: buněčný cyklus a dělení; diferenciací a morfogeneze buněk; fytohormony a další regulační látky – metabolismus, transport, mechanismus účinku; biologie pylu; buněčný transport váčků – komplex Exocyst; fosfolipidová signální dráha; regulační mechanismy ve fotosyntéze, vodním režimu a při reakcích na stresové podmínky a interakci s patogeny; mapování genomu; třídění chromosomů; lokalizace a funkce některých genů na chromosomech; poškození a reparace DNA; mutagenese. Výzkum zaměřený na aplikace: testování syntetických inhibitorů buněčného cyklu (analogů cytokininů) pro léčení proliferativních onemocnění; exprese heterologních proteinů a jejich produkce (např. požitelné vakcíny) v transgenních rostlinách; příprava haploidních rostlin *in vitro* androgenezí pro šlechtění obilovin; zlepšení kvality obilovin transgenozí.

b) výčet několika nejdůležitějších výsledků vědecké činnosti a jejich aplikací:

- 1 Objevili jsme u rostlin rodinu bílkovin Exo70 - podjednotek komplexu exocyst, který se podílí na regulaci buněčné polarity. Fylogenetická analýza ukázala, že společný předek suchozemských rostlin měl pravděpodobně tři paralogy bílkoviny Exo70, ze kterých se pak vyvinula současná mnohotvarost těchto podjednotek u krytosemenných rostlin (*Arabidopsis* 22, rýže 39 paralogů). Genetická analýza inzerčních mutantů podjednotek Exo70 u *Arabidopsis* vedla k objevu komplexu mutantních fenotypů u mutantu Atexo70a1. U mutantu jsou narušeny některé projevy polarizovaného růstu (kořenové vlášení, stigmatické papily), buněčného dělení (mutant je menší především pro menší počet buněk), architektury nadzemní části (ektopické větvení květenství) a u mutantu je výrazně zpožděn nástup senescence. Výsledky také ukazují na možnou souvislost Exo70 (a pravděpodobně komplexu exocyst) s polárním transportem auxinu. **B**
- 2 Pomocí ¹⁴C byl studován rozdíl účinků mezi TCA přijímanou kořeny a TCA vzniklou v chloroplastech jehličí smrku ztepilého biooxidací z perchlorethylenu. Bylo prokázáno, že při příjmu ¹⁴C-TCA kořenovým systémem nedochází v chloroplastech ke zvýšení koncentrace TCA, zatímco při použití ¹⁴C-perchlorethylenu, který je přijímán z atmosféry, došlo k signifikantnímu zvýšení koncentrace TCA v chloroplastech oproti cytoplasmě. Pomocí ³⁶Cl-chloridu byl potvrzen vznik chloroformu, TCA a DCA chlorací organické hmoty v lesní půdě (fermentačním horizontu). Chlorovány jsou fulvokyseliny, resp. látky frakce velikosti mezi 1 a 10 kDa (ne huminové kyseliny), chlorace má mikrobiální charakter (tj. enzymatický, neprobíhá v půdě sterilizované autoklavováním nebo radiačně), dochází i k zbytkové chloraci abiotické (ca. 20% chlorace nesterilní půdou z FH). Rovněž byl prokázán vznik chloroformu v mechu a kapradí kultivací s ³⁶Cl-chloridem. **B**
- 3 V transgenních rostlinách tabáku byly studovány korelace mezi expresí genů kódujících enzymy zapojené do biosyntézy a metabolismu cytokininů (*IPT*, *CKX*, *ZOG*) a enzymovou aktivitou cytokininoxidázy/dehydrogenázy (*CKX*). U cytokinin-deficitních rostlin tabáku exprimujících gen *AtCKX2* byla nalezena závislost aktivit antioxidantních enzymů na koncentraci endogenních cytokininů a aktivitě *CKX*. Bylo zjištěno, že exprese *ckx* genu vedoucí k podstatnému zvýšení aktivity *CKX*, následně redukci obsahu cytokininů a změnám fenotypu včetně pozdějšího začátku stárnutí je doprovázena vzrůstem aktivit antioxidantních enzymů, což naznačuje, že ke zpomalení senescence transgenních cytokinin-deficitních rostlin může docházet v důsledku existence a uplatnění účinnějšího „ochranného“ antioxidantního systému. Korelace mezi metabolismem endogenních cytokininů, aktivitou *CKX* a možnou adaptací rostlin vůči stresům byla zaznamenána rovněž v *ipt*-transformovaných rostlinách tabáku se zvýšenou produkcí cytokininů a zvýšenou aktivitou *CKX* (indukovanou cytokininou) na základě stanovení aktivit anaplerotických enzymů zapojených do metabolismu glutamátu a glykolátu. **B**
- 4 S využitím indukovatelné exprese genů *PIN* a *PGP19* a kvantitativních měření akumulace auxinů v buňkách *Arabidopsis* a tabáku kultivovaných *in vitro* jsme prokázali, že proteiny *PIN* vymezují rychlost přenosu auxinů z buněk, že je jejich působení specifické vůči auxinům a citlivé vůči inhibitorům transportu auxinu. Funkce proteinů *PIN* se v některých kvalitativních i kvantitativních aspektech liší od působení transportéru *PGP19*. Naše poznatky svědčí pro přímou funkci proteinů *PIN* v katalyzování exportu auxinů z buněk a pro to, že v rostlinách jsou dvě různé, na sobě nezávislé cesty přenosu auxinů z buňky – *PIN*-dependentní a *PGP*-dependentní. Proteiny *PIN* umožňují export molekul auxinů i z kvasinek a savčích buněk, aniž by zde byly třeba další rostlinné faktory. Tyto poznatky svědčí pro funkci proteinů *PIN* jakožto vlastních přenašečů auxinů z buňky. **B**
- 5 Byla úspěšně exprimována rekombinantní monoklonální jednořetězcová scFv protilátka MEM97 proti

CD20. Glykosylační signál v expresním vektoru je funkční a produkt je glykosylován a je výhodný pro připojení protilátky na polymerní kostru cílených léčiv akutních leukémií exprimujících CD20. Monoklonální protilátka proti HPV16-L1h produkovaným v rostlinách a použitým v hrubém extraktu k imunizaci je specifická pouze proti celým VLP a nikoli proti jejich podjednotkám, jak bývá obvykle pozorováno při imunizaci čištěnými VLP z jiných expresních systémů. Protože podobnou specifitu vůči 3D struktuře VLP měla i séra většiny imunizovaných myší, lze předpokládat, že hrubý rostlinný extrakt z tkání produkujících bioaktivní proteiny je vhodný pro presentaci strukturně definovaných antigenů při imunizaci. Do binárního vektoru pGR106 byly vloženy a exprimovány konstrukty obsahující epitopy z proteinů L2 a E7 lidského papilloma viru typu 16 (HPV16) ve fúzi s kapsidovým proteinem A viru bramboru (PVA). **B**

- 6 Pomocí nepřímé imunofluorescence jsme zjistili, že Ran GTPázy a s nimi související faktory (konkrétně Ran GTP, Ran GAP, Ran BP a RCC1) jsou v rostlinných buňkách lokalizovány v cytoplasmě, kolem jádra a v jádře. Kromě toho byla pozorována významná kolokalizace s některými cytoskeletálními uspořádáními. Geny pro vybrané proteiny RanGTPázové dráhy byly vyklonovány, sekvenovány a některé již zaklonovány do vektorů s konečným cílem jejich exprese v GFP či RNAi verzi v *Arabidopsis*. Zjistili jsme, že zvýšená exprese mitotické kinázy v pozdějších fázích mitózy vede k poruchám cytokineze, kdy cyklus jaderný předchází cyklus přestavby mikrotubulárního cytoskeletu. **B**
- 7 Byla vypracována nová metoda fyzického mapování sekvencí DNA na chromozómech rostlin. Metoda zahrnuje izotermální amplifikaci DNA, umožňující získat mikrogramová množství DNA jen z několika desítek tisíc chromozómů. DNA pro amplifikaci je získávána z chromozómů tříděných pomocí laserové průtokové cytometrie. Amplifikovaná DNA je použita pro mapování na čípech Illumina GoldenGate BeadArrays. Výsledky získané mapováním 1524 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markerů u ječmene potvrdily výhodnost metody a vedly k lokalizaci 40 nových SNP markerů na chromozóm 1H.
- 8 Sekvenování konců klonů DNA vybraných z knihovny klonované ve vektoru BAC (Bacterial Artificial Chromosome), která je specifická pro krátké rameno chromozómu 1R žita, přineslo první poznatky o struktuře genomu této plodiny na molekulární úrovni. Obsahem repetitivních sekvencí se struktura genomu žita blíží B genomu hexaploidní pšenice. Na základě analýzy získaných sekvencí bylo navrženo více než 100 potenciálních molekulárních markerů pro saturaci genetické mapy ramene. **B**
- 9 Embryogenní kultura *Picea abies* byla elicitována filtráty medií patogenní houby *Ascochyta blight* a *Sirococcus strobilinus*, a cytoplasmatickou a stěnovou frakcí izolovanou z těchto patogenů. Odpověď embryogenní kultury na uvedené elicitory se lišila jak v intenzitě, tak v rychlosti indukce sledovaných změn. Stěnové frakce měly výraznější elicitaci než cytoplasmatické frakce. Obsah rozpustných (především derivátů kys. benzoové) a v buněčné stěně vázaných (především kys. ferulové) fenolických látek se zvyšoval od 4. hod. elicitace s maximem přibližně v 10. hod. Obdobný časový průběh změn byl zjištěn v obsazích polyaminů (putrescinu a spermidinu). Nárůst obsahu stilbenů, které představují významnou skupinu konstitutivních fungicidních sloučenin v jehličnanech, byl zaznamenán v 10. a 24. hod. kultivace. Po aplikaci elicitorů z obou patogenních hub byl charakter aktivace fenylopropanoidního metabolismu v embryogenní buněčné kultuře smrku obdobný. **B**
- 10 Přispěli jsme k objasnění úlohy MEKK1 kinázy *Arabidopsis* (MAPKKK - první kinázy v MAP kinázové signální kaskádě) v regulaci homeostáze reaktivních forem kyslíku (ROS). Mutantní rostliny s postiženým genem MEKK1 mají deregulovanou celou řadu genů účastnících se ROS signalizace, hromadí ROS a ve stadiu pravých listů hynou. Interakci s auxinovou signalizací naznačuje deregulace genů řízených IAA.
- 11 V oblasti vývoje protinádorově a cytokininově účinných komplexů jsme se zaměřili na přípravu N6,C2,N9-substituovaných derivátů adeninu a jejich komplexů s vybranými přechodnými kovy (hlavně Co a Fe). Sloučeniny byly charakterizovány vhodnými fyzikálními technikami s důrazem na monokrystalovou rentgenovou strukturní analýzu. Byla studována cytotoxicita těchto sloučenin na vybraných lidských nádorových liniích a sledována závislost struktura/biologická aktivita. Vyvinuli jsme novou generaci substituovaných 6-benzylaminopurinů, u kterých jsme popsali nejen základní cytokininové a protinádorové aktivity, ale i afinitu vazby k cytokininovým receptorům a schopnost některých derivátů inhibovat rostlinnou i živočišnou CDK2. **B**
- 12 Byl dokončen fenotypový screen T-DNA inzerčních linií s mutacemi v genech kódujících transkripční faktory exprimované v samčím gametofytu. U dvou genů, jejichž vyřazení vedlo k nejvýraznějším fenotypovým odchylkám, byly získány homozygotní linie, z nichž byla provedena preparativní extrakce pylu. Isolovaný pyl byl odeslán na pracoviště NASC pro transkriptomické analýzy (DNA čip Affymetrix ATH1) s cílem identifikovat geny, jejichž expresní profil se změní v důsledku vyřazení konkrétního transkripčního faktoru. **B**
- 13 Kyselina fosfatidová (50-500 μM), produkt štěpení fosfolipidů fosfolipasou D, indukovala transport vápenatých iontů z vnějšího prostředí, obsahujícího vyšší koncentraci Ca^{2+} , do izolovaných membránových váčků tvořených plasmatickou membránou, tonoplastem či endoplasmatickým retikulem, uvnitř kterých je nižší koncentrace Ca^{2+} . Kyselina fosfatidová tak v těchto experimentech plnila funkci Ca^{2+} ionoforu, což může souviset s její předpokládanou funkcí signální molekuly. **B**
- 14 Byla nalezena úplná sekvence cDNA pro gen *CrFTL2* a částečná sekvence genu *CrFTL1* u *Chenopodium rubrum*. Byl vypracován qRT PCR test pro stanovení exprese genů u *C. rubrum*. Exprese *CrFTL1* je výrazně zvýšena periodou tmy indukující kvetení. Naproti tomu hladina exprese *CrFTL2* se

- za těchto podmínek neměnila, uchovávala si stále stejnou hodnotu, zhruba stokrát vyšší než bazální hladina exprese *CrFTL1* v podmínkách stálého světla. Podrobná fylogenetická analýza částečné kódující sekvence a třetího intronu *FT* u 11 druhů rodu *Chenopodium* prokázala zrychlenou evoluci a změnu funkce genu *CrFTL2*, ke které došlo po oddělení druhů *C. rubrum* a *polyspermum*. **B**
- 15** Snížení vnitrobuněčné koncentrace prekurzorů isoprenoidů (isopentenylidifosfátu [IPP]) a jeho isomeru dimetylalylidifosfátu) zvýšením exprese mitochondriální farnesyldifosfátsyntasy (FPS1L), která využívá uvedených prekurzorů jako substrátu, vedla u *A. thaliana* k navození symptomů chlorózy a buněčné smrti. Byla urychlena senescence oddělených listů a snížena akumulace fyziologicky aktivních cytokininů. Souběžně zvýšená exprese reduktasy 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzymu A, která je klíčová pro biosyntézu IPP, zpomalila senescenci a vrátila hladiny cytokininů na úroveň netransformovaných rostlin. Výsledky ukazují, že hladiny cytokininů a jimi řízené fyziologické projevy mohou být regulovány změnami hladin prekurzorů postranního řetězce isoprenoidních cytokininů. **B**
- 16** *Leptosphaeria maculans*, hemibiotrofní houbový patogen řepky olejky, indukuje v dělohách řepky expresi PR1, PR2 a PR3, což poukazuje na účast signální kaskády řízené kyselinou salicylovou při aktivaci obranné reakce a význam uvedených genů při polygenní resistenci vůči tomuto významnému patogenu. Naproti tomu účast signální dráhy kyseliny jasmonové nelze v této časně fázi infekce předpokládat vzhledem ke skutečnosti, že exprese Pdf1.2 *L. maculans* nebyla zaznamenána. **B**
- 17** Cytokinininy hrají klíčovou úlohu při vývoji plodů *Helleborus niger* a jejich zelenání. Dvě formy konstitutivně overexprimovaného genu 1 pro cytokininoxidasu/dehydrogenasu z kukuřice se významně uplatňují při homeostáze cytokininů v *Arabidopsis thaliana*. Exogenní aplikace glutaminu a cytokininů ke kořenům topolu významně snižuje rychlost příjmu NO₃ a reguluje rovněž endogenní hladinu cytokininů. Jednoduché, dvojitě a trojitě mutanty cytokininových receptorů *A. thaliana*, které výrazně narušují přenos cytokininového signálu, vedou k rychlejšímu klíčení semen z těchto mutantů, snížené potřebě světla a citlivosti k dlouhodobému červenému záření, což naznačuje novou funkci cytokininů při klíčení. Semena trojitých mutantů byla více než dvakrát větší než u divokého *A. thaliana*. **B**
- 18** Úloha cytokininů spočívá ve zvýšení síly sinku horních listů prostřednictvím ustavení gradientu fyziologicky aktivních cytokininů ve prospěch těchto listů. Při deletrajícím suchu je tento gradient zesílen zvýšením aktivity cytokininoxidasu/dehydrogenasy ve spodních listech. Dále bylo prokázáno, že změna morfologie kořenového systému během velmi silného stresu (prodlužování primárních kořenů, inhibice větvení) je doprovázena zvýšením hladiny jak cytokininů, tak auxinu. Zřetelná závislost mezi koncentracemi endogenních cytokininů a dalších fytohormonů (IAA, ABA), aktivitou CKX a reakcí na suchu byla také zjištěna v transgenních rostlinách tabáku exprimujících gen *ZOG1*. Analýza hladin cytokininů v mutantu *Arabidopsis sob5* (který byl získán při hledání mutantů v působení fytochromu B) naznačila, že by se mohlo jednat o mutant se změnou v signální dráze cytokininu. **B**
- 19** Pro přípravu polyklonálních protilátek proti rekombinantním antigenům odvozeným z rostlinných virů infikujících brambory byl vybrán nestrukturní protein (movement proteinu z RNA3 mop-top viru bramboru (TGBp1 PMTV)). Expres antigenu byla provedena v *E. coli* a byla generována protilátka. Získané protilátky nereagovaly v DAS formátu ELISA testu, což ukazuje na to, že antigeny, proti kterým byly protilátky generovány, jsou denaturované. **B**
- 20** Na půdě kontaminované polycyklickými bifenylly (165 - 265 mg PCB na kg půdy) byl u heterozygotního tabáku (*Nicotiana tabacum* var. *xanthi*) silně inhibován růst rostlin a listová plocha. Zvýšení poškození DNA bylo zjištěno jen u silně poškozených rostlin, takže lze předpokládat, že jde o nekrotickou nebo apoptotickou fragmentaci DNA. Zvýšení frekvence somatických mutací nebylo prokázáno. **B**
- 21** Studium kinetiky reparace dvojitých zlomů DNA metodou komet ukázalo, že u mutant *AtKu80* a *AtLig4* není ovlivněna rychlost reparace DSB oproti *AtLig1* a *AtMim*. Reparační dráha nehomologního spojování konců (NHEJ), ve které vystupují geny *Ku70*, *Ku80* a *Lig4*, tedy není hlavní reparační drahou dvojitých zlomů. Metodou komet bylo také ukázáno, že rostlinné mutanty *AtBrca1* a *AtFand1* podobně jako jejich savčí orthology jsou deficientní v reparaci křížových vazeb (CL) DNA. **B**
- 22** V Evropské unii bylo uděleno šlechtitelské osvědčení (Community Plant Variety Right) na 3 odrůdy jabloně s genetickou rezistencí *V_f* ke strupovitosti pod č. EU 16749, EU 16764, EU 16765 a na 1 sloupcovitou odrůdu z mutace McIntosh Wijcik byla přijata přihláška k právní ochraně pod č. EU 2006/2164. Pod č. 06.1863, 06.1923, 06.1924, 06.1925 byly vystaveny certifikáty právní ochrany na 4 odrůdy ve Švýcarsku a v USA byla podána přihláška k udělení rostlinného patentu na 2 odrůdy pod. č. 4194-062260 a 4194-062267 patentové firmy The Webb Law Firm. Pokračovalo licenční množení odrůd ÚEB, nové licenční smlouvy byly uzavřeny s firmami v ČR (8) a v Německu (1). S německou marketingovou firmou Webfruit GmbH byla uzavřena smlouva na komercializaci 4 odrůd ÚEB v Evropě pod ochranou známkou Golden Sunshine Line. **C**
- 23** Byla vyvinuta metoda přípravy stabilních tkáňových kultur u jabloně a slivoně, a to na MS mediu s BAP 1 mg/l, GA 0.2 mg/l a IBA 0.3 mg/l. Důležitým faktorem nutným pro stabilizaci kultury je přítomnost syntetického cytokininu TDZ během prvních pasážování po indukci nových výhonků. Jedna odrůda jabloně byla transformována DNA sekvencí, která je součástí komplexu genu *V_f*. **B**
- 24** Pomocí metody genomové *in situ* hybridizace (GISH) bylo vůbec poprvé určeno složení genomů většiny existujících odrůd *Festulolium*, které jsou odvozovány křížením mezi kostřavami (*Festuca* spp.) a jílky (*Lolium* spp.). Bylo zjištěno, že eliminace chromozómů jednoho z rodičů, která je pro tyto hybridy typická, není náhodná. Podobně je tomu i u rekombinace, která je častější u chromozómů jednoho z

rodičů. **B**

- 25 V rámci optimalizace metodiky qRT PCR byla vypracována originální metoda přímého měření cDNA, vzniklé reverzní transkripcí. Pomocí PCR –RFLP byla prokázána nematernální dědičnost mitochondriální DNA u silenky obecné. Pokračuje stanovení frekvence odchylek od maternální dědičnosti pomocí RFLP prováděné Southernovou hybridizací. Byla prokázána korelace *AtpA* a *coxI* transkripčního profilu s mitochondriálním haplotypem. **B**
- 26 Byl studován vliv abiotických stresů na kvetení *Arabidopsis thaliana* a *Chenopodium rubrum*. U *A. thaliana* je přechod ke kvetení zpomalován zasolením, ovšem tento efekt je výrazný pouze na krátkém dni, který nemá žádný indukční vliv na kvetení. Pro studium vlivu deficitu minerální výživy byl optimalizován systém hydroponické kultivace *A. thaliana*. Šokový deficit výživy silně urychluje kvetení ekotypu *Ler*, nikoli však *Col* a *Sf-2*. Testy vlivu hlavních stresů na *C. rubrum* ukázaly, že kvetení je stimulováno suchem, zasolením a nízkou teplotou a inhibováno vysokou teplotou a deficitem minerální výživy. Odpověď na stres je specifická pro typ stresu, druh rostliny a v případě *A. thaliana* i ekotyp. **B**
- 27 Stáří listů u transgenního tabáku se sníženou hladinou cytokininů nemělo vliv na parametry fluorescence chlorofylu F_v/F_m , F_v/F_0 , a Φ_2 na rozdíl od kontrol, kde byl pozorován výrazný pokles během stárnutí. Parametr F_0 v kontrolách se stářím listu rostl, ale v nejstarších listech značně poklesl. To zřejmě odráží vývoj poškození reakčních center fotosystému 2 s následným odštěpením a degradací chlorofylu. Nefotochemické zhášení se s věkem snižovalo bez ohledu na hladinu cytokininů. Podobně u starých listů obou typů rostlin klesl obsah xantofylů, ale v transgenních rostlinách byla hladina vyšší. V transgenních rostlinách byla tedy lepší ochrana proti fotooxidačnímu poškození. **B**

c) nejvýznamnější popularizační aktivity pracoviště

Den otevřených dveří (6. a 8. listopadu 2006) na pracovišti Lysolaje a Olomouc (celkem asi 140 návštěvníků). Pokračování oficiální spolupráce ÚEB s Prvním obnoveným reálným gymnáziem v Praze, řada studentů pracuje v ÚEB v rámci projektu Otevřená věda. Populárně vědecké články v časopisech (Živa, Vesmír) a denním tisku (MFD, LN), internetových periodikách (blog.respekt.cz, aktualne.cz). Příspěvky pro Český rozhlas (Radiožurnál, Praha, Vltava, Leonardo), ČT (Planeta věda, Česká hlava). Populárně-vědecká kniha Biologické hodiny rostlin (Kolář, Akademia). Spoluřešitelství ESF projektu Věda pro 21. století, četné přednášky pro středoškoláky. Kulatý stůl v rámci Týdne vědy.

d) domácí a zahraniční ocenění zaměstnanců pracoviště:

P. Suchánková – první cena za poster na konferenci “Second Congress of the International Cytogenetics and Genome Society”, 25. – 29. 6. 2006, Canterbury. P. Suchánková – první cena za poster a J. Doležel – druhá cena za přednášku na konferenci “4. metodické dny”, 1. – 4. 10. 2006, Srní.

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

V roce 2006 proběhly v ÚEB pravidelné atestace, atestováno bylo celkem 42 pracovníků.

2. VĚDECKÁ A PEDAGOGICKÁ SPOLUPRÁCE PRACOVIŠTĚ S VYSOKÝMI ŠKOLAMI

Jmenovité zhodnocení všech významných spoluprací pracoviště s tuzemskými vysokými školami:

a) nejvýznamnější vědecké výsledky ústavu vzniklé v další spolupráci s vysokými školami:

Nejvýznamnější výsledky spolupráce s vysokými školami jsou uvedeny v části 1b pod čísly 1, 2, 3, 4, 11, 16, 17, 18, 20, 28.

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

Nejvýznamnější výsledky činnosti výzkumných center jsou uvedeny v části 1b pod čísly 4-8, 12, 15, 19, 21, 24, 25. Nejdůležitější výsledky společného pracoviště ÚEB a University Palackého v Olomouci jsou uvedeny v části 1b pod čísly 11 a 17.

c) informace o spolupráci s VŠ na uskutečňování doktorských studijních programů (DSP) a magisterského a bakalářského studia:

Pracovníci ÚEB jako školitelé vedli v roce 2006 31 diplomových a 85 doktorských prací. 8 doktorandů úspěšně obhájilo, 19 nových bylo do DSP přijato.

ÚEB má společnou akreditaci (1 a 3) či smlouvu (2) o uskutečňování DSP:

1) s PřFUK Praha pro studijní program BIOLOGIE: studijní obory: Molekulární a buněčná biologie, Genetika a virologie, Fyziologie a anatomie rostlin, 2) s VŠCHT v Praze pro studijní program BIOCHEMIE A BIOTECHNOLOGIE: studijní obor Biotechnologie, a studijní program CHEMIE: studijní obor Biochemie, 3) s PřFUP Olomouc pro doktorský studijní program BIOLOGIE: studijní obor Botanika. Mimo to ÚEB spolupracuje s AF ČZU v Praze.

3. SPOLUPRÁCE PRACOVIŠTĚ S DALŠÍMI INSTITUCEMI A S PODNIKATELSKOU SFÉROU

Zhodnocení spolupráce s dalšími mimovysokoškolskými výzkumnými a mimoakademickými pracovišti:

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

V roce 2006 bylo řešeno celkem 13 projektů (seznam uveden v příloze 1). Nejvýznamnější výsledky jsou shrnuty v části 1b pod čísly 2, 5, 9, 19, 24.

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

Výzkum se v roce 2006 opíral o několik desítek uzavřených hospodářských smluv (převážná část z nich se týká šlechtění jablek). Za nejvýznamnější aktivity v této oblasti považujeme šlechtění jablek (výsledek č. 22 a 23 v části 1b), produkci inhibitorů CDK, syntézu radioaktivně značených látek a vydávání vědeckých časopisů *Biologia Plantarum* a *Photosynthetica* (příloha 2). Další hospodářské smlouvy o vědecké spolupráci a společné komercializaci vědeckých výsledků jsou uzavřeny se subjekty Olchemim, s.r.o., C3 Bio, Quinta-Analytica, s.r.o., Cyclacel Ltd., Senetek Ltd. USA, AgroSlužby, s.r.o., Lobodon, Agra CZ, Farmak.

Byla licencována řada látek zejména z oblasti protinádorových léčiv na bázi inhibitorů CDK (Cyclacel Ltd., C3 Bio GmbH.). Roskovitin (obchodní název Seliciclib), chráněný společným česko-francouzským patentem, ukončuje fázi IIb. klinického zkoušení v řadě Evropských zemí, povolení zkoušet i v USA je již získáno. Deriváty s antisenescenční aktivitou na bázi cytokininů byly licencovány firmě Senetek Ltd., USA, která je v současné době zkouší preklinicky. Dva deriváty ukončily klinické zkoušení a jsou připraveny do výroby. Technologie na přípravu protilátek, imunodiagnostik a imunokitů byly licencovány firmě Olchemim, s.r.o. a AgroSlužby, s.r.o. Řada našich produktů se nachází v katalogích největších chemických firem, viz. např. olomoucín, bohemin, roskovitin, iso-olomoucín, isopropyl-olomoucín, olomoucín II, *meta-*, *ortho-*, a *para-*, a methoxy-topoliny, atd. (web: Sigma-Aldrich, Merck, Fluka, Alexis, Olchemim, a další).

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

Žádné.

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

Několik desítek posudků návrhů projektů pro GA ČR, GA AV ČR, MŠMT, GAUK, NAZV, BARD, Agenturu na podporu vedy SK1, Grantová agentura SAV, GA MŠ SR, NATO Science Fellowships Programme, posudky pro MŽP, AVIS, USDA USA, NSF. Více než 150 oponentních posudků publikací v časopisech domácích i zahraničních (hlavně Biol. Plant., Photosynthetica, Plant Production, Physiol. Plant., J. Plant Growth. Regul., Plant Sci., Mikrobiologia, Agr. Ecosyst. Environm., J. of Phytopathol. a další). Oponentní posudky bakalářských, diplomových, doktorských a habilitačních prací (včetně zahraničních), dílčích i závěrečných zpráv nejrůznějších projektů.

4. MEZINÁRODNÍ VĚDECKÁ SPOLUPRÁCE PRACOVIŠTĚ

Informace o významných mezinárodních vědeckých spolupracích pracoviště:

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

Seznam je uveden v příloze 3.

b) nejvýznamnější vědecké výsledky dosažené v rámci mezinárodní spolupráce:

Nejvýznamnější výsledky jsou shrnuty v části 1b pod čísly 1-5, 7, 8, 10-13, 15, 17, 18, 21, 25.

c) akce s mezinárodní účastí, které pracoviště organizovalo nebo v nich vystupovalo jako spolupořadatel:

ÚEB byl pořadatelem konference *Future Trends in Phytochemistry* (červen 2006, Olomouc, 97 účastníků, z toho 66 zahraničních), 4. *Metodických dnů* (Srní, říjen 2006, 145 účastníků, z toho 6 zahraničních). Dále konference COST 858: *Abiotic Stress and Grape Functional Genomics* (Praha, září 2006, 70 účastníků, z toho 61 ze zahraničí), *Annual Meeting of TAGIP project* (26 účastníků, z toho 15 ze zahraničí). Spolupořádali jsme konferenci *Biogeochemical cycles: chlorine in the forest ecosystem* (18 účastníků, z toho 11 ze zahraničí).

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

Výčet jmen významných hostů, kteří navštívili naše pracoviště, je uveden v příloze 4.

e) počet fungujících meziústavních dvoustranných dohod:

Žádné.

VÝROČNÍ ZPRÁVA ÚEB AV ČR ZA ROK 2006

text vlastní zprávy (body 1- 4)

Přílohy:

A. přílohy k textu zprávy

- 1) příloha 1 k bodu 3a (výčet řešených projektů ve spolupráci s mimoakademickými mimoškolskými výzkumnými subjekty)
- 2) příloha 2 k bodu 3 b (vydávané vědecké časopisy)
- 3) příloha 3 k bodu 4a (projekty se zahraničními partnery)
- 4) příloha 4 k bodu 4d (seznam vědeckých návštěv v roce 2006)

B. kvantitativní údaje o pracovišti

- 1) 2A (vědečtí pracovníci)
- 2) 2B (údaje o mezinárodní vědecké spolupráci)
- 3) 2C (přehled o počtech vynálezů, patentů...)

C. text dvou anotací

- 1) Žárský
- 2) Matucha

V Praze dne 19. ledna 2007

RNDr. Ivana Macháčková, CSc.
pověřená řízením ÚEB AV ČR, v.v.i.

RNDr. Martin Vágner, CSc.
předseda rady ÚEB AV ČR, v.v.i.

PŘÍLOHA 1 k bodu 3a Výroční zprávy ÚEB za rok 2006:

(výčet řešených projektů v roce 2006 ve spolupráci s mimoakademickými mimovysokoškolskými výzkumnými subjekty)

GA206/04/0999 Studium obranných mechanismů smrku ztepilého na napadení houbovými patogeny (*Ascocalyx abietina*, *Sirococcus strobilinus*, *Phoma* sp. aj.)

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: **Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady**, Řešitel: RNDr. Jana Malá, CSc., Období řešení projektu: 2004 – 2006

GA206/05/0894 Přístrojová a metodická základna pro ovlivnění a sledování biologických regulací vyšších rostlin, řas a sinic

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Ústav systémové biologie a ekologie AV ČR, Řešitel: Doc. RNDr. Ladislav Nedbal, CSc., Období řešení projektu: 2005 – 2007, **Photon System Instruments, s.r.o.**

GA521/04/0607 Fyzické mapování a funkční analýzy oblastí bohatých na geny krátkého ramene chromozómu 1 žita (1RS)

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Ústav experimentální botaniky AV ČR, Řešitel: Doc. Ing. Jaroslav Doležel, DrSc., Období řešení projektu: 2004 – 2006, **Institute of Agrobiology (Rakousko)**

GA521/05/0257 Genetická, fyziologická a molekulární analýza nového genu pro dobu kvetení u pšenice

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: **Výzkumný ústav rostlinné výroby**, Řešitel: Mgr. Kateřina Pánková, Období řešení projektu: 2005 – 2007, John Innes Centre (Velká Británie)

GA521/06/0973 Expres antigenních papillomových virových epitopů v rostlinách pomocí rostlinného virového vektoru

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Ústav experimentální botaniky AV ČR, Řešitel: RNDr. Noemi Čeřovská, CSc., Období řešení projektu: 2006 – 2008, **Ústav hematologie a krevní transfúze**

GA522/04/1329 Molekulárně biologická charakterizace, detekce a funkční analýza mop-top viru bramboru (PMTV)

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Ústav experimentální botaniky AV ČR, Řešitel: Ing. Marie Filigarová, CSc., Období řešení projektu: 2004 – 2006, **Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.**

GA526/05/0636 Úloha chloru při rozkladu organické hmoty v lesním ekosystému jako sinku uhlíku

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Ústav experimentální botaniky AV ČR, Řešitel: Ing. Miroslav Matucha, CSc., Období řešení projektu: 2005 – 2007, **Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady**,

GD521/05/H013 Pšenice - od genomu ke kvalitě produkce

Poskytovatel: Grantová agentura ČR, Příjemce: Česká zemědělská univerzita v Praze, Řešitel: Prof. Ing. Václav Hosnedl, CSc, Období řešení projektu: 2005 – 2008, **Selgen, a.s.**

QF4133 Tvorba výchozích šlechtitelských materiálů s geny horizontální rezistence k plísni bramborové

Poskytovatel: Ministerstvo zemědělství ČR, Příjemce: (více příjemců: 5), Období řešení projektu: 2004 – 2007, **Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Vesa Velhartice, šlechtění a množení brambor, a.s., Selekt Pacov, a.s., SATIVA Keřkov, a.s.**

QF4176 Omezení negativního vlivu abiotických stresů na příjem a využití živin obilovinami.

Poskytovatel: Ministerstvo zemědělství ČR, Příjemce: (více příjemců: 2), Období řešení projektu: 2004 – 2007, **Výzkumný ústav rostlinné výroby**,

1M0505 Centrum cílených terapeutik

Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR, Příjemce: Ústav jaderného výzkumu Řež a.s., Řešitel: Doc.MUDr Vladimír Viklický, CSc, Období řešení projektu: 2005 - 2009 **Ústav jaderného výzkumu Řež a.s. EXBIO Praha, a.s.**

1M06030 Funkční genomika a proteomika ve šlechtění rostlin

Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR, Příjemce: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Řešitel: Doc. RNDr. Břetislav Brzobohatý, CSc., Období řešení projektu: 2006 – 2009, **AGRA GROUP, a.s. Institute of Applied Biotechnologies a.s., Vesa Velhartice, šlechtění a množení brambor, a.s., AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.**

2B06187 Využití genomiky a genetického inženýrství pro vyhledávání a přípravu genotypů rostlin schopných degradovat kontaminanty životního prostředí

Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR, Příjemce: Výzkumný ústav rostlinné výroby, Řešitel: RNDr. Jaroslava OVESNÁ, CSc., Období řešení projektu: 2006 – 2011, **Výzkumný ústav rostlinné výroby, DEKONTA, a.s., Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady**

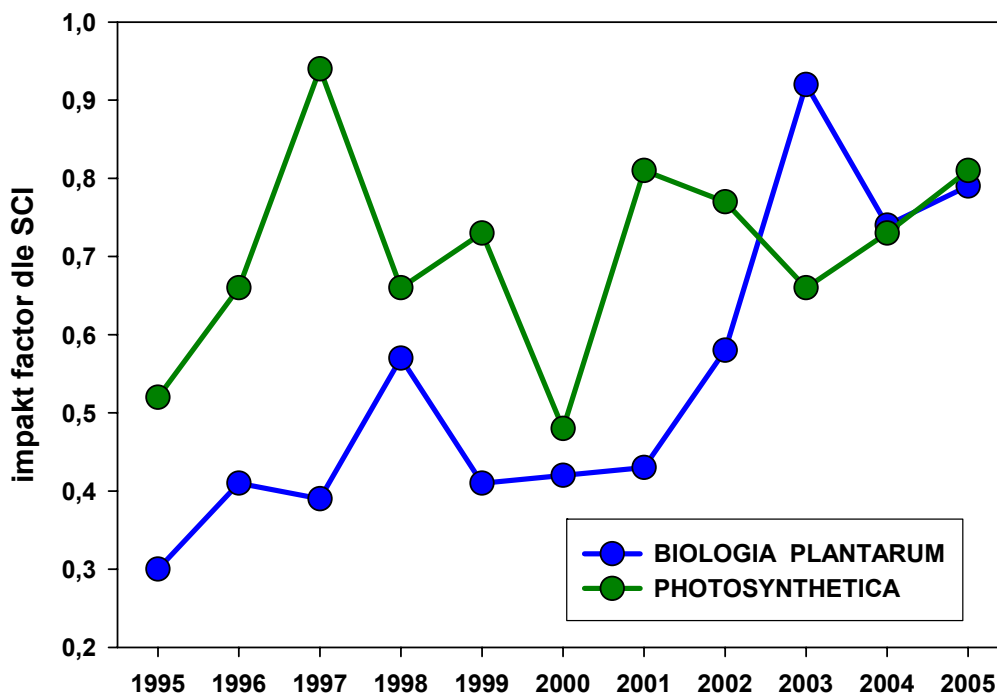
Ediční činnost

Biologia Plantarum

Mezinárodní časopis, který publikuje původní články, přehledné články, krátká sdělení a recenze knih spadajících do všech odvětví experimentální botaniky od molekulární biologie, biotechnologie až po vztahy rostlina – prostředí. Časopis je vydáván ÚEB. Editorem je RNDr. Jiří Čatský, CSc., výkonným editorem RNDr. Jana Pospíšilová, CSc. Časopis je šířen vydavatelem a nakladatelstvím Kluwer Academic Publisher Group, Dordrecht, Nizozemí. Časopis vychází čtvrtletně, články jsou psány v angličtině. Bližší informace a obsah jsou k dispozici na adrese: www.ueb.cas.cz/bp/bp.htm.

Photosynthetica

Mezinárodní časopis zaměřený na výzkum fotosyntézy, který publikuje přehledné články, původní články, krátká sdělení z oboru biofyzika, biochemie, fyziologie a ekologie fotosyntézy. Obsahuje i recenze knih, bibliografie přehledných článků a metodologických prací všech oblastí rostlinné fyziologie. Photosynthetica je nejstarší časopis specializovaný na fotosyntézu. Časopis je vydáván ÚEB. Editorem je RNDr. Zdeněk Šesták, DrSc. Časopis je šířen vydavatelem a nakladatelstvím Kluwer Academic Publisher Group, Dordrecht, Nizozemí. Časopis vychází čtvrtletně, články jsou psány v angličtině. Bližší informace a obsah jsou k dispozici na adrese: www.ueb.cas.cz/ps/ps.htm.



Photosynthesis Bibliography

Bibliografie zahrnuje práce ze všech oblastí fotosyntézy – od studií na modelových biochemických a biofyzikálních systémech fotosyntetických mechanismů až po primární produkci studovanou metodami růstové analýzy. Každý svazek obsahuje 4000 – 5000 citací, a rejstříky autorů, předmětů a vědeckých názvů rostlin. V každém pátém svazku je kumulativní rejstřík. Editory jsou RNDr. Zdeněk Šesták, DrSc. a RNDr. Jiří Čatský, CSc.

PŘÍLOHA 3 k bodu 4a Výroční zprávy ÚEB za rok 2006:

<i>program a číslo projektu</i>	<i>název projektu</i>
6FP TAGIP LSH-2004_1.1.0-1 (STREP)	Targeted gene integration in plants: vectors, mechanisms and applications for protein production Weizmann Institute of Sciences, Rehovot, Israel
6FP COMICS LSHB-CT-2006-037575 (SREP)	Comet assay and cell array for fast and efficient genotoxicity testing Universitetet Oslo, Norsko
Royal Society Joint Project Grant 2004/R3-EU	D. Honys, N. Dupl'áková - Honorary Visiting Fellows (Royal Society) na University of Leicester, UK
Integrated Project EU:	Protein Kinases - Novel Drug Targets of Post Genomic Area, University of Helsinki, 2003-2006
Marie Curie Fellowship – EU	Dr. Moravec
Contract RB 12230 - International Atomic Energy Agency,	Research Coordinated Project: Physical Mapping Technologies for the identification and Characterization of Mutated Genes Contributing to Crop Quality"

Projekty DAAD, COST, KONTAKT a dvoustranné projekty nejsou v přehledu uvedeny.

PŘÍLOHA 4 k bodu 4d Výroční zprávy ÚEB za rok 2006:

Jména významných zahraničních hostů, kteří navštívili v roce 2006 ÚEB:

- Dr. Andrzej Kilian, Diversity Array Technology, Austrálie;
- Prof. Roland Falcké, Hasselt University, Diepenbeek, Belgie;
- Prof. Dominique van der Straeten, Ghent Univ., Ghent, Belgie;
- Prof. H. van Onckelen, Univ. Antwerpen, Belgie;
- Dr. Kalina Ananieva, Ústav fyziologie rostlin, Bulharská akademie věd, Sofia; Bulharsko;
- Dr. Jan-Elo Jørgensen, Senetek Denmark ApS, 8000 Aarhus C, Dánsko;
- Dr. Charles White, CNRS, Aubiere, Francie;
- Dr. Maria Gallego, CNRS, Aubiere, Francie;
- Prof. Dr. A. Mukherjee, Center of Advanced Study, University of Calcutta, India;
- Prof. Charle Jaffe, Hebrew Univ, Izrael;
- Prof. Avi Levy, WIS, Rehovot, Izrael;
- Prof. Gert Krüger, North-West University, Campus Potchefstroom, Jihoafrická republika;
- Prof. Johannes van Staden, Univ. Kwazulu-Natal, Pietermaritzburg, Jihoafrická republika;
- Dr. Josef Forot, Hungarian Academy of Sciences, Plant Protection Institute, Budapešť, Maďarsko;
- Dr. Peter Ott, Hungarian Academy of Sciences, Plant Protection Institute, Budapešť, Maďarsko;
- Prof. Vince Ördög, West Hungarian Univ., Maďarsko;
- Dr. Karoly Boka, Eötvös Lorand University, Budapešť, Maďarsko;
- Dr. Erhard Kranz, Univ. Hamburg, Německo;
- Prof. Benedikt Kost, Univ. Heidelberg, Německo;
- Dr. Frank Hochholdinger, Univ. Tübingen, Německo;
- Prof. Holger Puchta, Universität Karlsruhe, Německo;
- Dr. Martin Müller, DKFZ, Heidelberg, Německo;
- Prof. Dr. Thomas Schmölling, Freie Univ. Berlin, Německo;
- Prof. Peter Schröder, GSF Neuherberg, Německo;
- Prof. Jiří Friml, Univ. Tübingen, Tübingen, Německo;
- Dr. Eva Benková, Univ. Tübingen, Tübingen, Německo;
- Dr. Tijs Ketelaar, Univ. Wageningen, Nizozemí;
- Prof. Zbygniew Zwierzykowski, Institute of Plant Genetics, Polsko;
- Dr. Georg Krupitza, Med. Univ. Vienna, Rakousko;
- Prof. Marie Shishova, St. Petersburg State Univ., Petrohrad, Rusko;
- Dr. Maja Kovač, National Institute of Biology, Ljubljana, Slovinsko;
- Prof. Manuel Sánchez-Díaz, University of Navara, Pamplona, Španělsko;
- Doc. Frank Latus, University Linköping, Švédsko;
- Prof. Jurek Paszkowski, Université de Geneve, Švýcarsko;
- Prof. Skorn Mongkolsuk, Mahidol University, Thajsko;
- Dr. Faik Ahmet Ayaz, Karadeniz Technical Univ., Trabzon, Turecko;
- Dr. Peter Hepler, Univ. of Massach., Amherst, USA;
- Prof. Timothy Hall, Texas A&M University, USA;
- Prof. C. Michael Smith, Kansas State University, USA;
- Dr. Jan Svensson, University of California, USA;
- Dr. David Kudrna, Arizona State Univ, Tuscon, AZ, USA;
- Prof. Mike Blatt, Univ. of Glasgow, Velká Británie;
- Prof. David Twell, University of Leicester, velká Británie;
- Dr. Andrew Cuming, University of Leeds, Velká Británie;
- Dr. Yossuko Kawasugi, Univeristy of Leeds, Velká Británie;
- Dr. Colin Turnbull, Division of Biology, Imperial College London, Velká Británie;
- Prof. Ian Moore, Univ. Oxford, Velká Británie;
- Prof. David Morris., Univ. Southampton, Velká Británie;

EXOCYST U ROSTLIN Viktor Žárský a kol.

Regulace vzniku tvaru u rostlin je do značné míry spojena s otázkami buněčné polarity, orientovaného buněčného dělení a buněčného růstu. Buněčná polarita je u eukaryot řízena mimo jiné specifickými signálními bílkovinami zvanými malé GTPázy a bílkovinami, které s nimi interagují. Patří mezi ně bílkovinný komplex exocyst složený z 8 podjednotek, který byl dosud znám jen u hub a živočichů, a který jsme my popsali u rostlin. Východiskem byla podrobná bioinformatická analýza genomu *Arabidopsis* (huseníčku), která ukázala, že bílkoviny do různé míry homologní podjednotkám exocystu jsou kódovány geny *Arabidopsis* (Cvrčková *et al.* 2001, Eliáš *et al.* 2003). Protilátka proti podjednotce exocystu Sec6 ukázala její silnou expresi v pylových láčkách (které vykazují silně polarizovaný růst) a ukázalo se také, že jedna podjednotka Exo70 fúzovaná se zeleným fluorescenčním proteinem (GFP) při expresi v protoplastech nezůstává jen volná, ale vedle lokalizace v jádře je možno pozorovat její shluky na plasmalemě (Eliáš *et al.* 2003). Překvapením byl objev velké rodiny podjednotek Exo70 u krytosemenných rostlin (např. u rýže přes 30 paralogů) jejichž evoluce doprovází vznik a expansi suchozemských rostlin (Eliáš *et al.* 2003, Synek *et al.* 2006). Pro účast exocystu v řízení polarizovaného růstu rostlinných buněk se nám podařilo přinést už také genetické důkazy – pylová zrna nesoucí mutaci v genu pro podjednotku Sec8 neklíčí (Cole *et al.* 2005) a mutantní rostliny *Arabidopsis* s nefunkční podjednotkou Exo70a1 projevují mnoho různých poruch jak na úrovni buněk (např. poruchy vývoje kořenových vlásků), tak na úrovni celé rostliny (zakrslost, poruchy v regulaci meristémů, poruchy ve vývoji kořene, anti-senescenční fenotyp). Exocyst je tedy důležitým regulátorem rostlinné morfogeneze.

Cvrčková F., Eliáš M., Hála M., Obermeyer G. a Žárský V.: Small GTPases and conserved signalling pathways in plant cell morphogenesis: from exocytosis to the exocyst. In: Geitmann A., Cresti M., Heath I.B. (eds), NATO Science Series: Cell biology of plant and fungal tip growth. IOS Press, Amsterdam p.105-122, 2001.

Eliáš M., Drdová E., Žiak D., Bavlínka B., Hála M., Cvrčková F., Soukupová H., Žárský V.: The exocyst complex in plants. Cell Biol. Internat. 27: 199-201, 2003.

Cole R., Synek L., Žárský V., Fowler J.: SEC8, a subunit of the putative *Arabidopsis* exocyst complex, facilitates pollen germination and competitive pollen tube growth. Plant Physiol. 138:2005-2018, 2005.

Synek L., Schlager N., Eliáš M., Quentin M., Hauser M-T., Žárský V.: AtEXO70A1, a member of a family of putative exocyst subunits specifically expanded in land plants, is important for polar growth and plant development. Plant J. 48:54-72, 2006.

ANNOTATION 1:

EXOCYST IN PLANTS

Viktor Žárský *et al.*

The regulation of morphogenesis in plants is largely connected to processes of cell polarity, oriented cell division and expansion. Cell polarity in eukaryotes is regulated among others also by specific regulatory small GTPases and their interacting proteins. Octameric protein complex called exocyst is one of those; being known until now only in fungi and animals, we found it in plants. Starting point was a detailed bioinformatic analysis of *Arabidopsis* genome which uncovered genes encoding proteins similar to exocyst subunits (Cvrčková *et al.* 2001, Eliáš *et al.* 2003). Antibody against exocyst subunit Sec6 recognized an expression of this protein in strongly polar growing pollen tubes; other exocyst subunit Exo70 fused to GFP reporter was shown to localize not only to cytoplasm and nucleus, but also to the cortical patches at the plasmalemma (Eliáš *et al.* 2003). Discovery of the whole family of Exo70 subunits in Angiosperms was a real surprise (in rice more than 30 paralogues); their evolution seems to accompany emergence and expansion of land plants (Eliáš *et al.* 2003, Synek *et al.* 2006). We have also succeeded in the genetic demonstration of the exocyst involvement in the regulation of polar growth of plant cells; *Arabidopsis* pollen grains harbouring mutation in Sec8 exocyst subunit do not germinate (Cole *et al.* 2005) and *Arabidopsis* plants with non-functional exocyst subunit Exo70a1 display whole array of mutant phenotypes on the cellular level (e.g. defects in root hair development) as well as on the level of the whole plant (dwarfish growth, disturbed regulation of meristems and root development, anti-senescence phenotype). Exocyst is an important regulator of plant morphogenesis.

Cvrčková F., Eliáš M., Hála M., Obermeyer G. a Žárský V.: Small GTPases and conserved signalling pathways in plant cell morphogenesis: from exocytosis to the exocyst. In: Geitmann A., Cresti M., Heath I.B. (eds)., NATO Science Series: Cell biology of plant and fungal tip growth. IOS Press, Amsterdam p.105-122, 2001.

Eliáš M., Drdová E., Žiak D., Bavlínka B., Hála M., Cvrčková F., Soukupová H., Žárský V.: The exocyst complex in plants. *Cell Biol. Internat.* 27: 199-201, 2003.

Cole R., Synek L., Žárský V., Fowler J.: SEC8, a subunit of the putative *Arabidopsis* exocyst complex, facilitates pollen germination and competitive pollen tube growth. *Plant Physiol.* 138:2005-2018, 2005.

Synek L., Schlager N., Eliáš M., Quentin M., Hauser M-T., Žárský V.: AtEXO70A1, a member of a family of putative exocyst subunits specifically expanded in land plants, is important for polar growth and plant development. *Plant J.* 48:54-72, 2006.

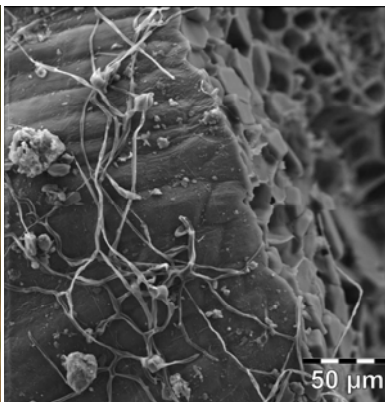
ANOTACE 2:

KYSELINA TRICHLOROCTOVÁ V LESNÍM EKOSYSTÉMU M. Matucha, S.T. Forczek a J. Rohlenová

Kyselina trichloroctová (TCA), používaná desetiletí jako herbicid, byla pro své fyto toxické vlastnosti v oblasti studia poškození lesa považována za jeden z významných stresorů. Její obsah



Chlorotické změny v jehličí způsobené TCA



Hyfy hub ve fylosféře jehlice smrku

v jehličí byl přisuzován atmosférické fotooxidaci chlorovaných C₂-uhlovdíků produkovaných a používaných ve velkých kvantech jako průmyslová rozpouštědla. Pomocí radioizotopových technik a [1,2-¹⁴C]TCA jsme zkoumali nejdříve příjem, translokaci i osud TCA v systému smrku ztepilý/půda /1,2/. Při jednorázové aplikaci byl zjištěn relativně rychlý příjem TCA kořeny a translokace transpiračním proudem spojená s akumulací především v mladém jehličí. Bilancování radioaktivity v daném systému vedlo ke studiu mikrobiální degradace v lesní půdě. Biodegradace až na oxid uhličitý probíhala nejintenzivněji ve fermentačním

horizontu při optimální vlhkosti (30-40%) /1,3/. Její rychlost je v souladu s nálezem nízkých hladin TCA v lesní půdě. Zároveň byla zjištěna i biodegradace v jehličí, zejména ve fylosféře /2/. Při letních teplotách dochází i k eliminaci TCA její pomalou dekarboxylací v jehličí /4/. V izolovaných chloroplastech z jehličí byla pomocí námi vypracované metody (4) zjištěna biooxidace perchlorethylenu na TCA (7). Byl studován rovněž vznik TCA v půdě mikrobiální chlorací půdní organické hmoty. Užitím chloru ³⁶Cl byl prokázán vznik TCA a DCA (kyselina dichloroctová) nejprve chlorací suspenzí huminových látek a pak přímo v půdě za přírodních podmínek /5,6/. Tento výzkum značně přispěl k poznání, že TCA není jen polutant antropogenního původu, ale je jako intermediát i součástí přírodního cyklu chloru v lesním ekosystému; ten se dále studuje[#].

1. Matucha, M., Forczek, S.T., Gryndler, M., Uhlířová, H., Fuksová, K., Schröder, P. (2003) „Trichloroacetic Acid in Norway Spruce/Soil-System. I. Biodegradation in Soil“, *Chemosphere* 50, 303-309
2. Forczek, S.T., Uhlířová, H., Gryndler, M., Albrechtová, J., Fuksová, K., Vágner, M., Schröder, P., Matucha, M. (2004) “Trichloroacetic Acid In Norway Spruce/Soil-System. II. Degradation in the Plant”, *Chemosphere* 56, 327-333
3. Schröder, P., Matucha, M., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Fuksová, K., Albrechtová, J. (2003) “Uptake, Translocation and Fate of Trichloroacetic Acid in Norway Spruce/Soil System“, *Chemosphere*, 52, 437-442
4. Matucha, M., Rohlenová, J., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Gryndler, M., Fuksová, K., Schröder, P. (2005) „Determination of TCA in Environmental Studies Using Carbon 14 and Chlorine 36“, *Chemosphere* 63, 1924-1932
5. Matucha, M., Gryndler, M., Schröder, P., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Fuksová, K., Rohlenová, J. (2007) „Chloroacetic acids - degradation intermediates of organic matter in forest soil“ *Soil Biol. Biochem.*, 39, 382-385
6. Matucha, M., Gryndler, Forczek, S.T., M., Schröder, P., Bastviken, D., Rohlenová, J., Uhlířová, H., Fuksová, K. (2007) „A Chlorine-36 and Carbon-14 Study of the Role of Chlorine in the Forest Ecosystem“, *J. Labelled Cpd. Radioph.*, 50, 1-3
7. Weissflog, L., Krueger, G., Forczek, S.T., Lange, Ch. A., Kotte, K., Pfennigsdorff, A., Rohlenová, J., Fuksová, K., Uhlířová, H., Matucha, M., Schröder, P. (2007) “Oxidative Biodegradation of Tetrachloroethene in Needles of Norway Spruce (*Picea Abies L.*)“ *South Afric. J. Botany*, 73, 89-96

Spolupráce s prof. P. Schröderem* (GSF Neuherberg, Německo) a doc. D. Bastvikenem[#] (University Linköping, Švédsko).

ANNOTATION 2:

TRICHLOROACETIC ACID IN FOREST ECOSYSTEM

M. Matucha, S.T. Forczek a J. Rohlenová

Trichloroacetic acid (TCA), used for decades as herbicide, was considered because of its phytotoxic properties as one of important stressors in the field of studies of forest damages. Its content in needles was attributed to atmospheric photooxidation of C₂-hydrocarbons produced and used in large quantities as industrial solvents. Using radiotracer techniques and [1,2-¹⁴C]TCA uptake, translocation



Chlorotic changes in needles cause by TCA

Fungal hyphae in phyllosphere of spruce needle

and fate in the system Norway spruce/soil was studied (1,2). One-shot TCA application established a relatively fast uptake by roots and translocation by transpiration stream connected with accumulation in young needles. Poor radioactivity budget in the system studied led to the investigation of microbial degradation of TCA in the forest soil (1,3*). Biodegradation into carbon dioxide proceeded most intensively in the fermentation horizon at optimal soil humidity (30-40%). Together with it, biodegradation in the needles (especially in the phyllosphere) was found to take place (2). At summer temperatures elimination of TCA takes

place also by its decarboxylation in the needles. Moreover, using our method (4), biooxidation of tetrachloroethylene to TCA was established in isolated chloroplasts (7). We studied also formation of TCA in the soil by chlorination of soil organic matter. Using chlorine 36 formation of TCA and DCA (dichloroacetic acid) was proved, at first by chlorination of suspensions of humic substance and then directly in the forest soil at natural conditions (5,6). This research contributed to elucidating the TCA origin, which is now considered to be also natural, and TCA as an intermediate in the chlorine cycle in the forest ecosystem[#]. The whole, which is currently continued, has also practical importance with respect to winter-road salting and damage of adjacent woods.

1. **Matucha, M., Forczek, S.T., Gryndler, M., Uhlířová, H., Fuksová, K., Schröder, P.** (2003) „Trichloroacetic Acid in Norway Spruce/Soil-System. I. Biodegradation in Soil“, *Chemosphere* **50**, 303-309
2. **Forczek, S.T., Uhlířová, H., Gryndler, M., Albrechtová, J., Fuksová, K., Vágner, M., Schröder, P., Matucha, M.** (2004) “Trichloroacetic Acid In Norway Spruce/Soil-System. II. Degradation in the Plant”, *Chemosphere* **56**, 327-333
3. **Schröder, P., Matucha, M., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Fuksová, K., Albrechtová, J.** (2003) “Uptake, Translocation and Fate of Trichloroacetic Acid in Norway Spruce/Soil System“, *Chemosphere*, **52**, 437-442
4. **Matucha, M., Rohlenová, J., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Gryndler, M., Fuksová, K., Schröder, P.** (2005) „Determination of Trichloroacetic Acid in Environmental Studies Using Carbon 14 and Chlorine 36“, *Chemosphere* **63**, 1924-1932
5. **Matucha, M., Gryndler, M., Schröder, P., Forczek, S.T., Uhlířová, H., Fuksová, K., Rohlenová, J.** (2007) „Chloroacetic acids - degradation intermediates of organic matter in forest soil“ *Soil Biol. Biochem.*, **39**, 382-385
6. **Matucha, M., Gryndler, Forczek, S.T., M., Schröder, P., Bastviken, D., Rohlenová, J., Uhlířová, H., Fuksová, K.** (2007) „A Chlorine-36 and Carbon-14 Study of the Role of Chlorine in the Forest Ecosystem“, *J. Labelled Cpd. Radioph.*, **50**, 1-3
7. **Weissflog, L., Krueger, G., Forczek, S.T., Lange, Ch. A., Kotte, K., Pfennigsdorff, A., Rohlenová, J., Fuksová, K., Uhlířová, H., Matucha, M., Schröder, P.** (2007) “Oxidative Biodegradation of Tetrachloroethene in Needles of Norway Spruce (*Picea Abies L.*)“ *South Afric. J. Botany*, **73**, 89-96

Cooperation with Prof. P. Schröder* (GSF Neuherberg, Germany) and assoc.Prof.. D. Bastviken[#] (University Linköping, Sweden).