

Následující text je výběrem z materiálů, které Ústav experimentální botaniky AV ČR předkládal k mezinárodnímu hodnocení vědeckého záměru v listopadu roku 2003. Vlastní hodnocení probíhalo v průběhu následujícího roku, jeho výsledky byly známy na podzim 2004.

Výsledková část i publikace se vztahují k hodnocenému období, tedy k rokům 1999-2003.

A1.

Orgány uchazeče a jejich jmenovité složení

ŘEDITELKA: Rozvojová 135 Lysolaje 165 00 Prague 6	RNDr. Ivana Macháčková, CSc. ☎ (4202) 220 390 453 ☎ - sekretariát (4202) 220 390 455 fax: (4202) 220 390 456 e-mail: machackova@ueb.cas.cz
ZÁSTUPKYNĚ ŘEDITELKY: Rozvojová 135 Lysolaje 165 00 Prague 6	RNDr. Eva Zažimalová, CSc. ☎ (4202) 220 390 429 fax: (4202) 220 390 446 e-mail: zazimalova@ueb.cas.cz
VĚDECKÝ TAJEMNÍK: Rozvojová 135 Lysolaje 165 00 Prague 6	RNDr. Martin Vágner, CSc. ☎ (4202) 220 390 414 fax: (4202) 220 390 419 e-mail: vagner@ueb.cas.cz
PŘEDSEDA VĚDECKÉ RADY: Rozvojová 135 Lysolaje 165 00 Prague 6	RNDr. Jan Martinec, CSc. ☎ (4202) 220 390 416 fax: (4202) 220 390 419 e-mail: martinec@ueb.cas.cz
INTERNÍ ČLENOVÉ VĚDECKÉ RADY:	RNDr. Lenka Burketová, CSc. RNDr. Věra Cenková, PhD. RNDr. Věra Čapková, CSc. RNDr. Noemi Čeřovská, CSc. Mgr. Lucie Perry, PhD. RNDr. Radomíra Vaňková, CSc.
VEDOUcí THS: Rozvojová 135 Lysolaje 165 00 Prague 6	Naděžda Pulcová ☎ (4202) 220 390 475 fax: (4202) 220 390 474 e-mail: pulcova@ueb.cas.cz

B Informace o výzkumné a vývojové činnosti uchazeče/vykonavatele

B1. Specifikace hlavní výzkumné a vývojové činnosti uchazeče/vykonavatele

Zřizovací listina stanoví následující účel a předmět hlavní činnosti:

(1) Účelem zřízení pracoviště je uskutečňování vědeckého výzkumu v oblasti experimentální botaniky a vyhledávání možností využití jeho výsledků.

(2) Předmětem hlavní činnosti ÚEB je vědecký výzkum v oblastech rostlinné fyziologie, genetiky, rostlinných biotechnologií, biochemie a molekulární biologie se zaměřením zejména na regulaci růstu a vývoje, fyziologii fotosyntézy, adaptační mechanismy ke stresům vyvolaným prostředím a patogenními činiteli, na molekulární genetiku pylové a somatické buňky a mechanismy mutagenese a syntézu značených bioaktivních látek. Ústav se dále podílí na programech rozvoje rostlinné fyziologie, genetiky a biotechnologií zaměřených na tvorbu nových genetických zdrojů, šlechtění nových genotypů odolných k biotickým a abiotickým faktorům, na množení rostlinného materiálu *in vitro* a na jeho využití ve šlechtění, jakož i na vývoji nových pěstebních technologií v zemědělství a zahradnictví. Ústav přispívá ke zvyšování úrovně poznání a vzdělanosti a využití výsledků vědeckého výzkumu v praxi. Získává, zpracovává a rozšiřuje vědecké informace, vydává vědecké publikace, časopisy, sborníky apod., poskytuje vědecké posudky, stanoviska a doporučení a provádí konzultační a poradenskou činnost. Ve spolupráci s vysokými školami uskutečňuje doktorské studium a vychovává vědecké pracovníky. V rámci předmětu své činnosti rozvíjí mezinárodní spolupráci, včetně organizování společných výzkumů se zahraničními partnery, přijímání a vysílání stážistů, výměny vědeckých poznatků a přípravy společných publikací. Ústav pořádá vědecká setkání, konference a semináře, včetně mezinárodních. Úkoly realizuje samostatně i ve spolupráci s vysokými školami a dalšími vědeckými a odbornými institucemi veřejného i soukromého sektoru. Ústav dále vykonává správu práv ke svým patentům a licencím.

Ze srovnání znění tohoto dokumentu a zprávy za činnost ÚEB v létech 1999-2003, a návrhu výzkumného záměru na léta 2005-2010 jasně vyplývá, že ÚEB plní zadané úkoly výzkumu i dalších činností. Provádí základní výzkum v oblastech rostlinné fyziologie, genetiky, biochemie a molekulární biologie, který se zaměřuje především na regulaci růstu a vývoje (metabolismus, transport a mechanismus účinku fytohormonů a dalších regulačních látek), regulaci buněčného cyklu, přenos signálů, stresovou fyziologii, fyziologii fotosyntézy, interakci rostlin s patogeny, poškození a reparaci DNA a mutagenezi, mapování genomu a funkční genomiku; třídění chromosomů a jejich využití v moderní genomice. ÚEB se podílí na programech připravujících nový materiál pro šlechtění obilovin, zejména haploidní rostliny získané manipulacemi *in vitro* či rostliny se změněnými vlastnostmi transgenozí, šlechtí nové odrůdy jablek odolné proti strupovitosti. ÚEB také rozvinul studium možné výroby farmaceuticky významných proteinů v transgenních rostlinách a vyvinul řadu látek na bázi struktury fytohormonů cytokininů, které inhibují buněčné dělení a jsou testovány jako léky proti proliferativním onemocněním. Izotopová Laboratoř ÚEB syntetizuje řadu látek pro výzkum, o které je zájem i v zahraničí.

Ústav své výsledky publikuje ve vědeckých časopisech (viz seznam publikací v části D4), přispívá i k popularizaci svých výsledků a vědy vůbec (oddíl 4.3 materiálů k hodnocení), a vydává dva mezinárodní vědecké časopisy - *Biologia Plantarum* a *Photosynthetica* (oddíl 4.5). Pracovníci ÚEB jsou také autory či spoluautory některých učebnic a skript a aktivně se účastní na výuce na několika univerzitách a také vedou řadu diplomových a doktorských prací (oddíl 4.1).

Ústav rozvinul řadu mezinárodních vědeckých spoluprací, jak je patrné z výčtu pracovníků ze zahraničí, kteří pracovali delší dobu v ÚEB (viz část B4) a ze seznamu publikací (mnohé vznikly ve spolupráci) (část D4) a grantových projektů. Ústav organizoval a podílel se na organizaci několika mezinárodních konferencí (část B4). ÚEB je zástupcem českých rostlinných biologů ve stavovské evropské organizaci EPSO (European Plant Science Organization).

ÚEB má řadu patentů a licencí, jejichž výčet je uveden v části 4.2 a D4.

B2. Přínos uchazeče/vykonavatele k rozvoji poznání v oblastech uvedených v bodě B1 v národním a mezinárodním kontextu

Ústav experimentální botaniky (ÚEB) je jediným pracovištěm v ČR, jehož výzkum pokrývá širokou oblast rostlinné fyziologie i genetiky a tyto dvě oblasti studia rostlin propojuje. Podobně je zaměřen i Ústav molekulární biologie rostlin (ÚMBR) AV ČR v Českých Budějovicích, ale jeho fyziologický výzkum je omezen na fotosyntézu a fytopatologii. Dříve byl výzkum v jednotlivých laboratořích ÚEB poměrně nezávislý, ale v posledních deseti letech se podařilo výzkum jednotlivých týmů propojit a různé týmy se účastní řešení společných grantových projektů. Výrazně se rozvinula i spolupráce s universitami (s Katedrami botaniky a genetiky PřFUP v Olomouci – společné pracoviště „Laboratoř růstových regulátorů“, s Katedrou fyziologie PřFUK v Praze – společné pracoviště se připravuje, s Ústavem biochemie a mikrobiologie VŠCHT v Praze, Ústavem botaniky a fyziologie rostlin MZLU v Brně a Katedrou botaniky ČZU v Praze) a také spolupráce zahraniční. Pracovníci ústavu se významně podílejí na výuce na Katedře fyziologie rostlin PřFUK a na Katedrách botaniky a genetiky na PřUP v Olomouci. Pracovníci ústavu vedli a vedou řadu diplomových a doktorských prací v rámci řádných akreditací či smluv s universitami (příloha 4.1). V posledních pěti letech došlo k dalšímu propojení výzkumu, zejména v oblasti studia signálních drah u rostlin, ve které je ÚEB nositelem Výzkumného centra, které sdružuje a koordinuje špičkové laboratoře v ČR v této oblasti. V tomto období se zvýšil počet zahraničních pracovníků, kteří pracovali po delší období v ÚEB – byli to kolegové z USA, Francie, Japonska, Velké Británie, Itálie, Indie, Guatemaly, Ruska, Běloruska, Bulharska, Srbska, Ukrajiny a Polska. ÚEB má tradici v organizování mezinárodních konferencí o auxinech a cytokininech – poslední z nich byla v r. 1999 v Praze. Ústav se také účastnil organizace 17. Konference Mezinárodní Asociace pro růstové látky u rostlin (IPGSA) v r. 2001 v Brně.

Ústav vydává dva impaktované mezinárodní vědecké časopisy *Biologia Plantarum* a *Photosynthetica* (příloha 4.5).

Úroveň výzkumu prováděného v ÚEB je v rámci ČR velmi vysoká. ÚEB je vedoucím pracovištěm v oboru fytohormonů a dalších regulačních látek, signálních drah u rostlin, biologie pylu, cytogenetiky, buněčného cyklu a reparace DNA u rostlin. Společná laboratoř ÚEB a PřFUP ve spolupráci s Izotopovou laboratoří ÚEB vyvinula řadu látek na basi struktury fytohormonů cytokininového typu, které inhibují buněčný cyklus a jsou dnes ve spolupráci s klinickými pracovišti doma i v zahraničí testovány jako potenciální léky proti rakovině a dalším proliferativním onemocněním. Tento výzkum byl oceněn několika mezinárodními cenami. Tyto látky jsou patentovány a na jejich testování a využití je uzavřena řada smluv o spolupráci a řada licenčních smluv. ÚEB se spolu s ÚMBR jako první pracoviště v ČR začaly věnovat výzkumu využití rostlin pro produkci farmaceuticky významných proteinů (požitelné vakcíny). Laboratoř genetických manipulací *in vitro* významně přispívá svými haploidními a dalšími materiály ke šlechtění nových odrůd obilovin a trav. Ve výzkumné stanici ve Střížovicích byly vyšlechtěny nové odrůdy jabloní resistantní vůči strupovitosti – o licence na tyto odrůdy je zájem po celém světě.

Počet publikací pracovníků ÚEB kontinuálně vzrůstá, stejně jako jejich kvalita (viz graf).

Řada výzkumných zaměření má vysokou úroveň i v mezinárodním kontextu, plně srovnatelnou s úrovní na jiných pracovištích Evropy:

Velkou tradici má v ÚEB výzkum fytohormonů, zejména cytokininů a auxinů. Naše pracoviště je v Evropě jedno z uznávaných středisek pro analytické metody stanovení růstových regulátorů rostlin a pro studium jejich metabolismu a transportu.

Špičkové jsou výsledky v oblasti molekulární cytogenetiky a cytometrie, např. lokalisace některých sekvencí na tříděných chromosomech a poprvé popsána izolace čisté vysokomolekulární DNA z tříděných chromosomů.

V ÚEB se poprvé podařilo popsat změny ve struktuře cytoskeletu v průběhu dělení rostlinných buněk.

Ve spolupráci s universitou v Leicesteru (VB) byla poprvé popsána exprese genů na úrovni transkriptomu v jedné vyvíjející se buňce.

Ve spolupráci s Katedrou fyziologie rostlin PřFUK byly podány první důkazy o existenci komplexu Exocyst u rostlin a jeho možné funkci v regulaci morfogeneze.

V oblasti studia fosfoinositidového signálního systému byla vypracována metoda pro stanovení aktivit jednotlivých typů fosfolipas *in situ*, a byla popsána u rostlin dosud neznámá fosfolipasa C štěpící fosfatidylcholin.

Byla objasněna úloha transportu chloridových iontů při regulaci růstu pylové láčky a navržen model pro tuto regulaci.

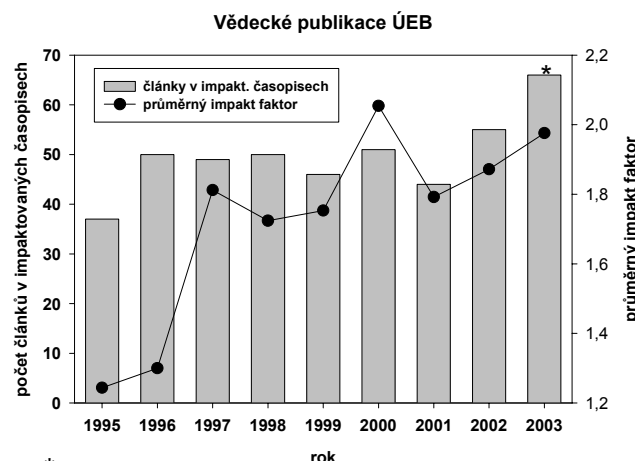
Byla prokázána existence hormonu melatoninu v rostlinách a poprvé popsán rytmus v jeho hladině, závislý na fotoperiodě.

Byl vypracován kometový test na studium poškození DNA, který je využíván při studiu reparace DNA a vlivu mutagenů.

Na dobré evropské úrovni je rovněž výzkum úlohy polyaminů v buněčném dělení, studium úlohy různých signálů a PR (pathogenesis related) proteinů při interakci patogenů s rostlinou a molekulární charakterizace rostlinných virů.

Velkým přínosem pro ústav je Izotopová laboratoř, která syntetizuje látky inhibující buněčné dělení zmíněné výše a připravuje pro ostatní týmy radioaktivně značené látky nutné pro výzkum, které jsou jinak komerčně nedostupné nebo finančně velmi nákladné. O tyto látky je zájem i v zahraničí.

Popsané prioritní výsledky získané v období posledních 5 let dokumentují vysokou úroveň výzkumu, a to i v mezinárodním kontextu. Specifická výzkumu v ÚEB spočívá zejména v oblastech výzkumu fytohormonů a signálních drah (a jejich propojení), genomu na chromosomální úrovni, biologie pylu a reparace DNA. V těchto oblastech je výzkum v ÚEB v ČR jediný či výrazně vedoucí. Ve srovnání s evropskými pracovišti je kvalita výzkumu v ÚEB na velmi dobré úrovni a svým zaměřením se potřebným způsobem doplňuje s některými významnými evropskými pracovišti. Rovněž vybavení ÚEB pro experimentální práci v oblasti molekulární biologie, biochemie, cytologie a fyziologie je na standardní evropské úrovni. Většina pracovišť je soustředěna na poměrně úzkou oblast rostlinné biologie. Specifické pro ÚEB je pokrytí více oblastí a vzájemné propojení výzkumných směrů a přístupů, které se vzájemně doplňují, na jednom nevelkém pracovišti.



* pouze články publikované do listopadu 2003, (momentálně nejméně 14 dalších článků je "v tisku", některé z nich vyjdou ještě v roce 2003)

B3. Nejvýznamnější výsledky výzkumu a vývoje uplatněné uchazečem/ vykonavatelem v oblastech uvedených v bodě B1 za posledních 5 let (souhrnná charakteristika)

Výsledky získané v ÚEB AV ČR v letech 1999-2003

Ústav experimentální botaniky (ÚEB) plnil v letech 1999 - 2003 výzkumný záměr Fyziologické a genetické základy vývoje rostlin, buněčného cyklu, morfogeneze, reakcí na stresové podmínky a biotechnologií. Organizace a funkce genomu (AV0Z5038910). Úkolem bylo objasnit na modelových objektech základní molekulární a buněčné mechanismy v:

- *integrováním působení hormonů a růstových regulátorů v řízení vývoje rostlin*
- *regulaci morfogeneze rostlinné buňky, propojení cytoskeletu a signálních drah*
- *regulaci buněčného cyklu a využití syntetických analogů fytohormonů k jeho inhibici a inhibici nádorového bujení*
- *regulaci ontogeneze samčího gametofytu: genové exprese, proteosyntéze a signálních drahách*
- *regulaci somatické a pylové embryogeneze, prašnickových kultur a produkce haploidů*
- *organizaci a funkci genomu na chromosomové úrovni, konstrukce BAC knihoven z chromosomální DNA*
- *detekci regulačních genů, zavedení metodiky microarrays*
- *poškození a reparaci genomové DNA pod vlivem stresů a mutagenů*
- *fotosyntéze a vodním režimu v podmínkách stresu*
- *reakci rostlin na infekci a molekulární charakteristice virů.*

Výsledkem mělo být prohloubení znalostí v uvedených oblastech a nové biotechnologické aplikace.

Jak je ze zadání tohoto záměru patrné, ÚEB pokrývá poměrně široké pole výzkumu rostlin v oblasti fyziologie a genetiky. Snahou bylo jednotlivé oblasti výzkumu podle možností co nejvíce propojit a podle toho také byly koncipovány grantové přihlášky a posléze řešeny grantové projekty. Jedním z důležitých kroků v integraci některých oblastí výzkumu bylo získání Výzkumného centra Signální dráhy u rostlin (LN00A081). Většina výsledků týkajících se signálních drah u rostlin byla získána v rámci Centra. Tyto výsledky jsou pro přehlednost zprávy začleněny do textu, nicméně na konci odstavce jsou vždy označeny symbolem (■). Výzkum, který v letech 1999-2003 v ÚEB probíhal v rámci záměru, Centra a grantů, lze v podstatě rozdělit do dvou hlavních oblastí:

- regulace růstu a vývoje rostlin
- struktura a funkce genomu.

V oblasti regulace růstu a vývoje se hlavní pozornost soustředila na růstové regulátory, především na fytohormony (auxiny a cytokininy, v menším rozsahu i kyselinu abscisovou a etylén) a na polyaminy. Byly studovány některé aspekty metabolismu, transportu a mechanismu účinku hormonů a polyaminů. V této oblasti bylo dosaženo úspěchů při studiu přenašečů auxinu a jejich regulace, a ve studiu úlohy cytokininoxidasy v regulaci hladiny aktivních cytokininů. Probíhaly také vývoj a testování derivátů N⁶-substituovaného adeninu jako inhibitorů klíčových reakcí buněčného cyklu a jako potenciálních léků proti závažným onemocněním. V této oblasti bylo velkým úspěchem, že jedna z námi vyvinutých, syntetizovaných a charakterizovaných látek je v několika zemích Evropy ve druhé fázi klinických testů jako lék proti rakovině a glomerulonefritidě. Velká pozornost byla věnována studiu signálních drah a jejich propojení s buněčnými strukturami (cytoskeletem), a regulaci buněčného cyklu. Úspěchem je nalezení nového typu rostlinné fosfolipasy C štěpící

fosfatidylcholin a částečný popis komplexu Exocyst, u rostlin dosud neznámého. Byla popsána distribuce γ -tubulinu a F-aktinu při mitose, kdy nedochází k tvorbě centriol, a exprese cyklinu B2 v průběhu buněčného dělení. Pozornost byla věnována i účasti regulátorů v reakci rostlin na stresy: na vysokou ozářenost, vysokou i nízkou teplotu, nedostatek vody a některé viry.

V oblasti struktury a funkce genomu se výzkum soustředil na strukturu genomu a její variabilitu u některých rostlinných druhů, na využití tříděných chromosomů ke studiu lokalizace některých sekvencí a molekulárních markerů, k přípravě vysokomolekulární DNA z tříděných chromosomů a chromosomově specifických knihoven DNA. Dále byla studována exprese genů a regulace transkripce a translace v samčím gametofytu - v celogenomové šíři byla poprvé analyzována exprese v jediné vyvíjející se buňce na úrovni transkriptomu, byla popsána exprese genů pro proteiny účastnící se řízení buněčného cyklu, byly charakterizovány mechanismy reparace DNA a některé rostlinné viry. Je studována transgenóza bramboru za účelem ochrany rostlin a pro potravinářský průmysl a transgenóza obilovin s cílem zlepšit jejich kvalitu. Započala příprava transgenních rostlin s řízenou expresí genů ovlivňujících metabolismus cytokininů s cílem zvýšit produktivitu obilovin a produkovat bioaktivní proteiny v transgenních rostlinách. Pozornost byla věnována i androgenezi *in vitro* a byly připraveny haploidní a dihaploidní rostliny pro šlechtění. Byly vyšlechtěny odrůdy jabloně rezistentní k houbovým chorobám. V následujícím textu je popis dosažených výsledků rozčleněn do dvou hlavních oblastí a ty jsou pro přehlednost děleny dále na menší tématické celky:

- 1 *REGULACE RŮSTU A VÝVOJE ROSTLIN***
- 1.1 *Regulátory růstu*
- 1.1.1 *Metabolismus a mechanismus účinku fytohormonů*
- 1.1.2 *Transport auxinů a cytokininů*
- 1.1.3 *Hormonální regulace některých životních procesů v rostlinách*
- 1.1.4 *Další regulační látky*
- 1.1.5 *Úloha regulátorů růstu v reakcích rostlin na stres*
- 1.1.6 *Nové metody ve výzkumu fytohormonů*
- 1.1.7 *Výzkum regulátorů růstu perspektivní pro praktické využití*
- 1.2 *Přenos signálů*
- 1.2.1 *Mechanismus přenosu signálů*
- 1.2.2 *Vazba přenosu signálů na cytoskelet*
- 1.2.3 *Přenos signálů v obranných reakcích rostlin*
- 2 *STRUKTURA A FUNKCE GENOMU***
- 2.1 *Funkční genomika*
- 2.2 *Studium struktury genomu s využitím tříděných chromosomů*
- 2.3 *Genotoxicita a reparace DNA*
- 2.4 *Molekulární aspekty rostlinné virologie*
- 2.5 *Genetický výzkum perspektivní pro praktické využití*

Práce publikované pracovníky ÚEB jsou v následujícím textu označeny čísly, které se vztahují k seznamu publikací ÚEB v části D4.

1 REGULACE RŮSTU A VÝVOJE ROSTLIN

1. 1 Regulátory růstu

1. 1. 1 Metabolismus a mechanismus účinku fytohormonů

S pomocí nově vypracované metody synchronizace buněčné suspenze tabáku BY-2, umožňující synchronizaci velkého množství buněk (30 g č. hmoty), byla v průběhu buněčného cyklu popsána dynamika hladin cytokininů a aktivity enzymu degradujícího cytokininy, cytokininoxidasy/dehydrogenasy (CKX). Výsledky potvrdily výraznou přechodnou akumulaci cytokininů na začátku S-fáze a mitosy. Přinesly také nové poznatky o rychlé metabolické regulaci hladin fyziologicky aktivních cytokininů buď jejich potenciální přeměnou na zásobní cytokininy typu *cis*-zeatinu a zeatin-O-glukosidu v premitotické fázi buněčného cyklu nebo degradací isoprenoidních cytokininů působením CKX na začátku S-fáze (229).

Byly izolovány a identifikovány nové N⁶-substituované deriváty adeninu: ve fotoautotrofní buněčné kultuře *Chenopodium rubrum* byly identifikovány 6-[2-(β-D-glukopyranosyloxy)-benzylamino]purin (oTOG), 6-[2-(β-D-glukopyranosyloxy)benzylamino]-2-methylthiopurin (2MeS-oTOG) a 6-benzylamino-9-β-D-glukopyranosylpurin (BAP9G). Jejich cytokininová aktivita byla potvrzena amarantovým biotestem a jejich endogenní původ byl prokázán originální metodou, založenou na inkorporaci deuteria *in situ* do studovaných sloučenin z kultivačního media obohaceného D₂O. Dále byl prokázán výskyt řady dalších nových cytokininů, např. zeatin-9-glukosidu-O-glukosidu a aromatických cytokininů v dalších rostlinných druzích (224, 230, 353, 375). Poprvé byla z různých typů rostlinných a bakteriálních buněk izolována nová skupina přirozeně se vyskytujících rostlinných hormonů, strukturně odvozených od 6-(2- a 3-methoxybenzylamino)purinu. Jejich identifikace byla provedena v rostlinách *Arabidopsis thaliana*, listech topolu a vybraných kmenech *Agrobacterium tumefaciens* pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotovou spektrometrií. Ve třech cytokininových biotestech byla potvrzena vysoká biologická aktivita izolovaných sloučenin (364).

Ve spolupráci s laboratoří Dr. T. Schmöllinga (Berlín, SRN) byly stanoveny účinky exprese čtyř různých genů kódujících cytokininoxidasu/dehydrogenasu (CKX) z *A. thaliana* na vývoj transgenních rostlin tabáku. Výrazné zvýšení aktivity CKX vedlo ke značné redukci obsahu cytokininů a následně k podstatným vývojovým změnám fenotypu transformovaných rostlin. Rostliny se sníženým obsahem cytokininů byly charakteristické zakrslými výhony s menšími apikálními meristémy a prodlouženým plastochronem. Kořenové meristémy transgenních rostlin byly naopak zvětšené, kořeny se více větvily a intenzivněji rostly. Jedná se o první přímý experimentální důkaz fyziologické významnosti obsahu endogenních cytokininů při řízení morfogeneze a meristémové aktivity u rostlin založený na snížení hladiny cytokininů (195). Dále byla zjištěna výrazná závislost aktivity CKX na obsahu endogenních cytokininů u cytokinin-autonomní linie *A. thaliana*, která se jeví jako slibný model pro studium indukce CKX substrátem (89). Regulační působení cytokininů na aktivitu CKX bylo prokázáno v buněčné kultuře tabáku, kde zvýšení hladiny cytokininů po jejich exogenní aplikaci či expresi genu *IPT* kódujícího klíčový enzym biosyntézy cytokininů vedlo k výraznému zvýšení aktivity CKX, a to zejména její glykosylované formy, a její přednostní sekreci mimo buňku (336).

Kombinací afinitní chromatografie s imobilizovaným zeatinem a kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí se podařilo izolovat a identifikovat adenosinkinasu ze suspenzní kultury tabáku BY2 (327). Adenosinkinasa je jedním z enzymů odpovědných za tvorbu

cyklických nukleotidů v buňkách. Práce poprvé popisuje výskyt tohoto enzymu v rostlinách a ukazuje jeho význam v metabolismu cytokininů.

Byla prokázána existence biosyntetické dráhy pro cytokininy zeatinového typu nezávislá na isopentenyladenosin-5'-monofosfátu (iPMP) (82). Tato dráha byla aktivní jak v *IPT*-transgenních rostlinách *A. thaliana*, tak v rostlinách kontrolních. Studium biosyntézy cytokininů *de novo* v *IPT*-transformovaných rostlinách *A. thaliana* s využitím značení deuteriem *in vivo* a hmotové spektrometrie ukázalo, že rychlost biosyntézy zeatin ribosid-5'-monofosfátu byla asi 66-krát vyšší než u iPMP, předpokládaného primárního produktu isopentenyltransferasy z *Agrobacterium tumefaciens*. Metodou dvojího značení, s využitím [²H₆]isopentenyladenosinu a oxidu deuteria, byla dokázána existence alternativní, iPMP-nezávislé biosyntetické dráhy pro zeatin a jeho deriváty, která se vyskytuje jak v rostlinách *A. thaliana* exprimujících gen *IPT*, tak v rostlinách kontrolních. Snížení aktivity alternativní biosyntetické dráhy po aplikaci mevastatinu, inhibitoru 3-hydroxy-3-methylglutarylCoA-reduktasy, indikuje terpenoidní původ prekursoru postranního řetězce pro tuto na iPMP nezávislou dráhu.

Ve spolupráci s laboratoří Prof. Mokových (Corvallis, Oregon, USA) byl izolován z kukuřice druhý gen kódující O-glukosyltransferasu specifickou pro cytokinin *cis*-zeatin (*cis*ZOG2), který je silně exprimován v kořenech. Na rozdíl od genu *cis*ZOG1 je jen málo exprimován v obilkách, ve kterých byla zjištěna vysoká hladina *cis*-zeatin ribosid-O-glukosidu. Výsledky potvrzují přítomnost derivátů *cis*-zeatinu a existenci specifických metabolických drah regulujících jejich hladiny v rostlinách (373).

Chloroplasty z rostlin tabáku (SR1) s genem pro β-glukosidasu *Zm-p60.1* pod promotorem CaMV35S (získané od dr. B. Brzobohatého, BFÚ AV ČR) obsahují téměř neměřitelné hladiny O-glukosidů, což svědčí o aktivitě produktu genu *Zm-p60.1* v chloroplastech (5). Chloroplasty z rostlin tabáku nesoucích gen pro isopentenyltransferasu (*IPT*) pod promotorem *Pssu* (malé podjednotky RUBISCO z hrachu), získané od dr. Valckeho (Diepenbeck, Belgie), mají výrazně vyšší obsah cytokininů než chloroplasty z kontrolních rostlin. Vzhledem k tomu, že jde o jaderný promotor, je pravděpodobné, že cytokininy jsou transportovány do chloroplastů z cytoplasmy. Chloroplasty z rostlin tabáku nesoucích gen pro cytokininoxidasu z *Arabidopsis* (*AtCKX3*) pod promotorem CaMV35S (rostliny od Dr. T. Schmöllinga, Berlín, SRN) mají nižší obsah cytokininů než chloroplasty z rostlin kontrolních. Pro studium biosyntézy cytokininů v chloroplastech byly chloroplasty imobilizovány v alginátovém gelu. Tím se prodlouží jejich životnost při teplotě potřebné k metabolickým studiím (25°C), ale zpomalí se i průběh reakcí, patrně difusí v gelu. V důsledku toho není využití imobilizovaných chloroplastů pro metabolické studie výhodné. ■

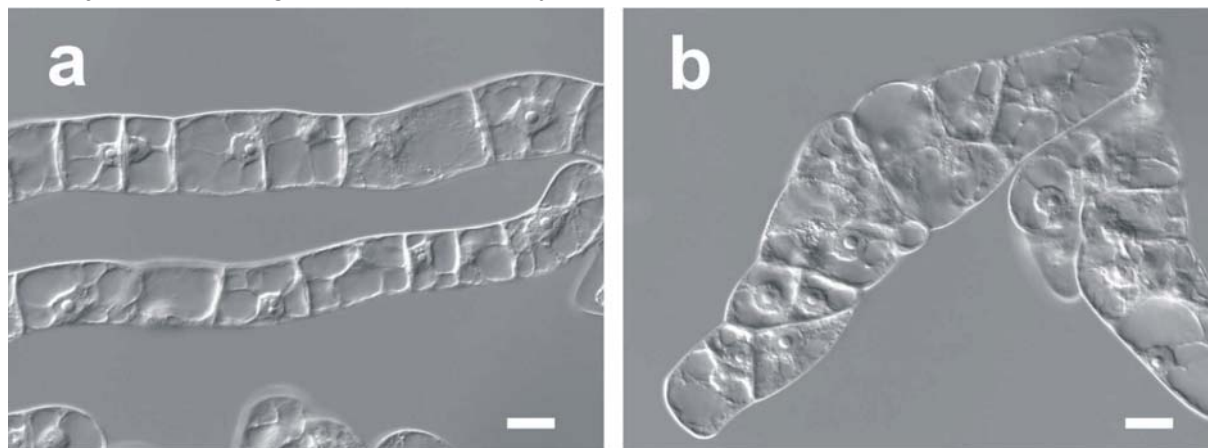
Bylo zjištěno, že inhibitory cyklin-dependentních kinas vyvinuté v ÚEB (roscovitin, olomoucín a bohemin) působí rovněž jako inhibitory N-glukosylace cytokininů. Tento efekt se projevuje zejména u externě aplikovaných cytokininů a je druhově specifický podle převažující cesty inaktivace cytokininů (degradace cytokininoxidasou/dehydrogenasou nebo N-glukosylace) (379). Vliv inhibitorů na hladinu endogenních aktivních cytokininů je v případě jejich krátkodobého působení vyvážen aktivací jiných mechanismů, které se účastní udržování homeostasy cytokininů, zejména zvýšením hladiny derivátů *cis*-zeatinu (300, 379). Při dlouhodobém působení inhibitorů dochází k akumulaci cytokininů, ale pouze neaktivních forem, a k výrazné inhibici růstu. ■

Byly charakterizovány vazebné bílkoviny pro cytokininy z obilek pšenice a ovesa, které se vyznačují velmi vysokou afinitou vazby k aromatickým cytokininům. Ačkoliv mají podobnou molekulovou hmotnost jako nativní protein a jeho podjednotky, jsou imunologicky značně odlišné. Jejich akumulace v době zrání obilek koreluje s akumulací aromatických cytokininů, včetně 3-hydroxybenzyladenosinu, který byl identifikován v obilkách pšenice pomocí hmotové spektrometrie. Na základě této korelace a uvolňování vázaných cytokininů při

degradaci vazebného proteinu v průběhu klíčení byla navržena jeho fyziologická funkce. Vazebný protein dočasně imobilizuje v průběhu zrání obilek aromatické cytokininu, což zabraňuje jejich stimulačnímu působení na dělení buněk a tím i předčasnému klíčení. Buněčné dělení při klíčení zralých obilek je naopak stimulováno uvolňováním vázaných aromatických cytokininů při degradaci vazebného proteinu (322).

1. 1. 2 Transport auxinů a cytokininů

Na modelových buněčných liniích tabáku BY-2 a VBI-0 bylo popsáno působení auxinů a cytokininů z hlediska regulace jejich interních i externích hladin a jejich transportu přes plasmatickou membránu. Bylo prokázáno, že auxiny v kultivačním mediu plní funkci „externího mitogenu“, který reguluje interní hladinu auxinu. Studium přenašečů auxinu potvrdilo důležitost přesného „nastavení“ interní hladiny auxinu pro standardní průběh buněčného dělení. Byly popsány změny v aktivitě přenašeče auxinů z buňky („auxin-efflux carrier“) ve vztahu k nástupu buněčného dělení. Na základě působení specifického inhibitoru přenašeče auxinů z buňky (kyseliny 1-N-naftylftalamové, NPA) (obr.1) byl navržen možný mechanismus regulace orientace (polarity) buněčného dělení, založený na cílené lokalizaci tohoto přenašeče v určité oblasti plasmatické membrány řízené regulačním NPA-vázajícím proteinem (253). Studium kinetiky působení NPA na přenos auxinu z buněk vedlo ke zjištění, že NPA inhibuje přenos auxinů z buňky s mnohem větší účinností než inhibitory vesikulárního transportu proteinů („vesicle-mediated protein traffic“) Byly též získány další experimentální údaje o chování cytoskeletu a endoplasmatického retikula svědčící proti dříve navržené představě, že NPA a další inhibitory přenosu auxinů z buňky působí obecně na úrovni vesikulárního transportu proteinů (344). Některé poznatky o regulaci působení auxinů na vývoj rostlin byly shrnuty v přehledné práci (377), údaje týkající se transportu auxinů pak v dalších pracích (394, 395, 401). Na stejném experimentálním materiálu byla v průběhu růstového cyklu popsána dynamika interních a externích hladin endogenních cytokininů. Bylo zjištěno, že cytokininu byly vylučovány z buněk do kultivačního media po celou subkultivační periodu, a to v poměru k jejich interní koncentraci. Transport cytokininů přes plasmatickou membránu tak může vedle metabolických reakcí reprezentovat další z mechanismů podílejících se na regulaci hladin těchto fytohormonů (252).



Obr. 1: Vliv inhibitoru polárního transportu auxinů, kyseliny 1-N-naftylftalamové (NPA), na fenotyp buněčné linie tabáku VBI-0, 9. den od počátku kultivace
a – buňky kultivované ve standardním růstovém mediu; b – buňky kultivované ve standardním růstovém mediu s přidávkou 10 μM NPA. Na obr. b je patrné abnormální dělení buněk. Měřítka 50 μm . Upraveno z Petrášek et al. (253).

Byla testována hypotéza, že vztyčenější listy moderního hybridu kukuřice 3394 (ve srovnání se starším hybridem 307), mohou být příčinou zvýšené tolerance k okolním rostlinám v hustém porostu, a tak i zvýšeného výnosu. Bylo zjištěno, že světlo reguluje listový úhel u

kukuřice, a to prostřednictvím ovlivnění polárního transportu auxinu a citlivosti listového pletiva k auxinu. Pletivo nového hybridu se liší spíše citlivostí k auxinu (počtem receptorů) než afinitou (afinitou receptorů k auxinu) a je méně citlivé k působení antiauxinu PCIB (kyseliny p-chlorisomáselné). Na spojení čepele a pochvy listu se u kukuřice vytváří specializovaná struktura zvaná ouško, jejíž růst je regulován světlem, pravděpodobně prostřednictvím polárního transportu auxinu. Navíc mutanty s ovlivněnými vazebnými proteiny pro auxin se výrazně liší v listovém úhlu. Výsledky svědčí pro úlohu vazebných proteinů i polárního transportu auxinu v určování listového úhlu u kukuřice (314).

1. 1. 3 Hormonální regulace některých životních procesů v rostlinách

Vypracování kultivačních protokolů a metod počítačové analýzy obrazu bylo podmínkou pro studium morfologických charakteristik a endogenních hladin fytohormonů (IAA, cytokininů, ABA) v průběhu somatické a zygotické embryogeneze *Picea abies* (36, 76, 399). Průběh somatické a zygotické embryogeneze je z hormonálního hlediska do značné míry podobný, charakteristické změny hormonálních hladin nastávají ve stejných ontogenetických fázích vývoje embrya. Raná fáze vývoje embryí je charakteristická nižší hladinou IAA a vyšší hladinou cytokininů. Během zakládání děloh a kořenového pólu embryí se hladina IAA dočasně výrazně zvyšuje. V průběhu dozrávání a desikace embryí dochází k přechodnému zvýšení hladin endogenních cytokininů. Somatická a zygotická embrya se liší v podílu jednotlivých zjištěných cytokininů a absolutní koncentrací endogenních fytohormonů, která je u zygotických embryí téměř o řád vyšší. Po vyklíčení embryí tyto rozdíly zanikají. Vysoká dynamika změn hormonálních hladin ukazuje na významnou regulační funkci v procesu embryogeneze.

Expresce homologu genu *ABI3* (abscisic acid insensitive z *A. thaliana*) byla sledována v embryogenních a neembryogenních kulturách smrku ztepilého lišících se embryogenní kapacitou. U embryogenních kultur je homolog *ABI3* exprimován již v proliferační fázi a v průběhu zrání embryí jeho exprese narůstá, zatímco v neembryogenních kulturách je jeho exprese téměř nedetekovatelná ve všech fázích vývoje. Expresce homologu *ABI3* je úměrná embryogenní kapacitě kultury.

Aplikace N⁶-benzyladeninu (BA) u klíčnicích rostlin fazolu zvyšovala využití vody v důsledku vyšší stimulace rychlosti fotosyntézy než intenzity transpirace (116, 183). BA vykazoval také pozitivní vliv během rehydratace zvadlých rostlin. U rostlin cukrovky byl kromě BA použit i N⁶-(m-hydroxybenzyl)adenosin (HBA), který však jen výjimečně stimuloval výměnu plynů (179, 374). Při současné aplikaci s kyselinou abscisovou (ABA) snižoval BA zavírání průduchů indukované ABA, ale pokud byl BA aplikován po ABA, nedocházelo k otevírání již zavřených průduchů (347). Předpůsobení ABA snížilo výměnu plynů na začátku vývoje vodního stresu, ale v dalších fázích byl tento vliv kompenzován zpomalením vývoje vodního stresu. Předpůsobení BA také zpomalovalo nástup příznaků vodního stresu, zvyšovalo rychlost fotosyntézy u vadnoucích rostlin, a při mírném vodním stresu snižovalo působení ABA (347).

Nižší rychlost fotosyntézy (o 20 - 50 %) byla zjištěna u transgenních rostlin tabáku s výrazně zvýšeným obsahem cytokininů (*Pssu-IPT* roubů nadzemních částí na kořeny kontrolních rostlin a špatně kořenících rostlin generace F₁), především díky snížené vodivosti průduchů. Aktivita fotosystému 2 nebyla ovlivněna, ale u roubů byla aktivita fotosystému 1 snížena na 70 % (37). Počet chloroplastů se neměnil, ale výrazně se měnila jejich ultrastruktura. Kromě výrazného periferního retikula byly uvnitř chloroplastů pozorovány velké krystaloidy (359). Trojrozměrná rekonstrukce chloroplastů ukázala, že krystaloid může tvořit až 20 % objemu chloroplastu. Transgenní tabáky vykazovaly zvýšenou odolnost k mírnému vodnímu stresu, což je pravděpodobně způsobeno zvýšenou aktivitou antioxidantních enzymů (186).

Byla provedena fyziologická charakterizace spontánního mutantu rajčete *7B-1*. Jedná se o recesivní mutant produkující zvýšené množství ABA, u něhož klíčení a růst hypokotylu vykazují odolnost k manitolu a exogenní ABA. Mutant vykazuje zvýšenou odolnost k osmotickému stresu (**160, 161**) a má změněnou reakci na modré světlo, která je spojena se zvýšením odolnosti k soli a osmotickému stresu (**232**). Proto je mutant *7B-1* vynikajícím objektem pro studium úlohy světla v odezvě rostlin na osmotický stres.

1. 1. 4 Další regulační látky

Jednou z možných funkcí fenolických látek je ovlivnění růstu a diferenciacie rostlin. Bylo zjištěno, že obsahy a stupeň metylace fenolických látek jsou jedním z důležitých faktorů ovlivňujících iniciaci a další vývoj somatických embryí dubu. Zvýšený obsah některých fenolických kyselin vázaných v buněčných stěnách může omezit expanzi buněk a tak i normální vývoj somatických embryí (**49, 305**). Fenolické látky mohou ovlivnit i obsah některých fytohormonů a polyaminů. Aplikace inhibitoru biosyntézy fenylypropanoidů k buněčné suspenzi vojtěšky vedla současně i k poklesu obsahu volné IAA a IAA-oxidasevé aktivity (**97**). Tvorba konjugátů fenolických kyselin s polyaminy se významně podílí na regulaci hladiny volných forem polyaminů v rostlinných buňkách (**304**).

Byl vypracován systém, který umožnil porovnání endogenních hladin polyaminů s cytologickými změnami explantátů vojtěšky kultivovaných na médiích indukujících (a) intenzivní buněčné dělení a vývoj proembryogenních struktur anebo (b) výrazné prodloužení buněk explantátu s omezeným počtem dělicích se buněk. Výsledky ukázaly, že určité polyaminy se podílejí na určitých vývojových pochodech. Vysoká hladina spermidinu a sperminu je pravděpodobně nezbytná pro vývoj globulárních proembryogenních struktur v intenzivně se dělícím explantátu, zatímco vyšší podíl putrescinu byl charakteristický pro prodloužující se buňky (**11**). Další experimenty prokázaly účast polyaminů na iniciaci a vývoji somatických embryí dubu. Inhibice biosyntézy fenylypropanových látek v embryogenní kultuře dubu zimního vedla ke snížení hladiny konjugovaných polyaminů a k nárůstu obsahu jejich volných forem. Výsledky ukazují především na významnou roli spermidinu při iniciaci tvorby somatických embryí dubu (**305**).

Obsah polyaminů v průběhu buněčného cyklu byl studován v synchronním meristému kořene bobu s cílem potvrdit přímou účast spermidinu na buněčném dělení. Obsahy polyaminů byly stanoveny v jednotlivých fázích buněčného cyklu, charakterizovaných pomocí průtokové cytometrie. Buňky byly ze zablokovaného cyklu uvolněny v G1-fázi a průchod buněk S-fází byl spojen se snížením obsahu volného putrescinu a spermidinu, zatímco G2-fáze byla charakterizována zvýšením hladiny volných polyaminů. Přechné prodloužení S-fáze, t.j. zpomalení replikace DNA, bylo provázeno akumulací volného spermidinu a jeho rozpustných konjugátů (**304**). Při sledování dynamiky změn v obsazích polyaminů během růstového cyklu buněčné suspenzní kultury tabáku BY-2 bylo zjištěno, že maximum obsahu volného spermidinu se časově shodovalo s počátkem mitotické aktivity buněk kultury. Výsledky naznačují souvislost mezi replikací DNA a metabolismem spermidinu a rozšiřují poznatky o úloze polyaminů v regulaci růstu a vývoje rostlin. ■

Akumulace volných forem polyaminů (především putrescinu) vyvolaná sáním mšic na rostlinách ozimé pšenice dokazuje též významnou úlohu polyaminů v reakci rostlin na biotický a abiotický stres (**94**). ■

Další studovanou látkou byl melatonin, u živočichů látka hormonální povahy regulující rytmické a fotoperiodické procesy. Bylo zjištěno, že rytmus v hladině melatoninu v nadzemních částech rostlin *Chenopodium rubrum* je závislý na fotoperiodě. Čím delší byla temná perioda, tím později se vyskytlo maximum rytmu; zajímavé je, že ve všech případech se maximum vyskytovalo 6 h před začátkem fotoperiody (**58, 66, 196**). Aplikace melatoninu a

jeho analogů a agonistů v koncentraci vyšší než 10^{-5} M jednu hodinu před začátkem indukční tmy výrazně inhibovala kvetení u *Ch. rubrum*. Melatonin měl inhibiční efekt na kvetení jen tehdy, byl-li aplikován do 6. hodiny temné periody. Neovlivnil ani fázi ani periodu rytmu kvetení (**204, 324, 390**).

1. 1. 5 Úloha regulátorů růstu v reakcích rostlin na stres

Vysoká ozáření (700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) působila snížení maximální fotochemické účinnosti fotosystému 2, kvantového výtěžku a fotochemického zhášení; byla pozorována výraznější fotoinhibice u rostlin tabáku kultivovaných *in vitro* v uzavřených skleněných nádobách než u rostlin lépe zásobovaných CO_2 ve ventilovaných nádobách "Magenta". Positivní vliv zvýšené koncentrace CO_2 byl prokázán nejen během kultivace *in vitro* (**22**), ale i po převedení do podmínek *ex vitro* (**31, 115**). Zvýšená koncentrace CO_2 stimulovala růst rostlin více díky vyšší rychlosti fotosyntézy než mírně zvýšenému obsahu pigmentů. Zároveň docházelo i ke stimulaci aktivity peroxidasy, glukoso-6-fosfátdehydrogenasy a jablečného enzymu. Aplikace kyseliny abscisové (ABA) bezprostředně po převedení do podmínek *ex vitro* zmírnila "transplantační šok" a pravděpodobně snížila tvorbu aktivních forem kyslíku. To mělo za následek snížení aktivity glutathionreduktasy, Mn-superoxiddismutasy, peroxidasy, glukoso-6-fosfátdehydrogenasy a jablečného enzymu (**263**). Pěstování klíčnic rostlin pšenice při zvýšené koncentraci CO_2 však vyvolávalo snižování kapacity fotosyntézy a naopak pěstování při snížené koncentraci CO_2 kapacitu fotosyntézy zvyšovalo. Tyto změny přetrvávaly i po převedení do přirozené koncentrace CO_2 (**128**).

Byla sledována role antioxidantních enzymů v citlivosti některých inbredních a hybridních linií kukuřice na chlad. Nízká teplota indukovala aktivity glutathionreduktasy a askorbátperoxidasy i zvyšovala obsah karotenoidů. Chlad bez předchozí aklimace působil větší změny aktivit enzymů než postupný pokles teplot.

Během stárnutí rostlin se snižuje jejich fotosyntetická kapacita (**74**). Složení produktů radikálových reakcí v lipidech se neměnilo během stárnutí děložních listů fazolu, množství produktů však významně vzrostlo s věkem. Hmotnostní spektrometrie ukázala, že nejhojněji byly zastoupeny dvanáctiuhlíkaté sloučeniny. Rozdíly ve složení byly nalezeny mezi mladými a starými dělohami. Oxidační poškození rozpustných proteinů bylo zkoumáno pomocí protilátek proti karbonylovým skupinám a bylo zjištěno, že v průběhu stárnutí vzrůstalo. Oxidačně poškozené proteiny byly přednostně odbourány. Kromě reaktivních forem kyslíku působí také reaktivní formy dusíku. Obsah nitrotyrosinu, stanovený s použitím specifických monoklonálních protilátek, vzrostl ve starých dělohách. Byl studován jak neenzymový, tak enzymový antioxidantní systém. Během stárnutí klesaly poměry redukovaného a oxidovaného askorbátu a glutathionu, aktivity glutathionreduktasy, askorbátperoxidasy, SOD a katalasy, stejně jako kapacita neenzymového i enzymového systému (**349**). To umožňovalo rozvoj oxidačního poškození při stárnutí.

Významná účast fenolických látek v reakci na abiotické stesy byla potvrzena při studiu aklimace kořenů sóji k nízké teplotě. Působení nízké teploty u rostlin sóji vyvolalo výrazné snížení obsahu fenolických kyselin zabudovaných do buněčných stěn a zvýšení obsahu volných kyselin (**99, 241**). Při imisním poškození jehlic smrku byla zjištěna zvýšená lignifikace, zvýšený obsah konjugovaných fenolických kyselin a snížený obsah fenolických kyselin vázaných v buněčných stěnách (**119**).

1. 1. 6 Nové metody ve výzkumu fytohormonů

Byla vyvinuta nová rychlá metoda pro souběžnou extrakci, oddělení a čištění fytohormonů

typu auxinu, kyseliny abscisové a cytokininů založená využití nových dvouparametrových sorbentů s funkcí katexy a reverzní fáze. Metoda značně zrychluje analýzu fytohormonů, při zvýšení jejich výtěžku, a umožňuje jejich následné stanovení pomocí hmotové spektrometrie (228).

Byla vyvinuta metoda imunolokalizace cytokininů pomocí protilátek proti zeatinribosidu a isopentenyladenosinu (dodaných laboratoří prof. Strnada, ÚEB) a různých fixací pro volné base, ribosidy a ribotidy (15). Specifická detekce je možná jen pro volné base fixované formaldehydem.

Byla vypracována citlivá ESI-MS (electron spray ionisation – mass spectrometry) metoda umožňující použití ke kvantitativní analýze cytokininů jednoduchého a levného (ve srovnání s MS/MS technikami) hmotnostního detektoru s jedním kvadrupólovým analyzátořem (337).

Byly připraveny tritium značené cytokininy o velmi vysoké molové radioaktivitě (> 1TBq/mmol) - *cis*- i *trans*-zeatin, N⁶-isopentenyladenin, N⁶-benzyladenin, dihydrozeatin a jejich ribosidy. U některých byl vypracován původní postup syntézy (*trans*-zeatin). Byly vypracovány dvě původní syntézy neradioaktivního *cis*-zeatinu. Byly syntetizovány standardy pro HPLC/MS a pro metabolické studie: *trans*-zeatin-9-glukosid-O-glukosid, glukosoestery kyseliny β-indolyloctové a 2,4-dichlorofenoxyctové a tyraminové, putrescinové a spermidinové amidy kyseliny kumarové a ferulové.

1. 1. 7 Výzkum regulátorů růstu perspektivní pro praktické využití

Podařilo se vyvinout sérii nových inhibitorů cyklin dependentních kinas (CDK) a systém modelování umožňující směřování molekul inhibitorů CDK do vazebného místa pro ATP na CDK2 a CDK1. Podařilo se nám touto cestou navrhnout nové molekuly s vysokou inhibiční účinností pro CDK1 odvozené od purinů, pyrazolo[4,3-d]pyrimidinů a 8-azapurinů. Nejúčinnější z těchto látek s IC₅₀ 0.01 μM pro CDK1 a 0.03 μM pro CDK2 byla pojmenována olomoucín II (6-(2-hydroxybenzylamino)-2-[[1-(hydroxymethyl)propyl]amino]-9-isopropylpurin), který je stejně účinným inhibitorem CDK jako dosud nejúčinnější purvalanol. Je však snadněji syntetizovatelný, dobře rozpustný za fyziologických podmínek a účinnější v testech cytotoxicity v nádorových liniích buněk. Inhibitor CDK první generace pojmenovaný roscovitin (6-benzylamino-2-[1-R-(hydroxymethyl)propyl]amino-9-isopropylpurine) vstoupil do II. fáze klinických testů. Mezi připravenými sloučeninami jsou také látky, které nejsou výraznými inhibitory CDK, mají však výraznou cytotoxicitu vůči nádorovým liniím. *In vitro* na jaterních mikrosomech myši i *in vivo* (myš) byl popsán metabolismus vybraného inhibitoru CDK - boheminu (6-benzylamino-2-(3-hydroxypropylamino)-9-isopropylpurinu), kde hlavní metabolický produkt byl příslušný O-glukosid. Byl prokázán vliv syntetických inhibitorů CDK na zvýšení produkce monoklonálních protilátek (103, 114, 164, 170, 236, 242, 243, 245, 246, 272, 273, 333, 334).

Bylo prokázáno, že roscovitin a olomoucín indukují expresi nemutované formy proteinu p53 v nádorových buněčných liniích. Protein se aktivně váže na DNA a je schopen aktivovat transkripci některých podřízených genů, jakým je např. gen pro protein p21^{WAF1}. Toto zjištění by mělo odstartovat vývoj nové generace protinádorových látek, jejichž molekulárním cílem by měl být protein/gen p53, který je nejčastěji mutován v lidských nádorech (173).

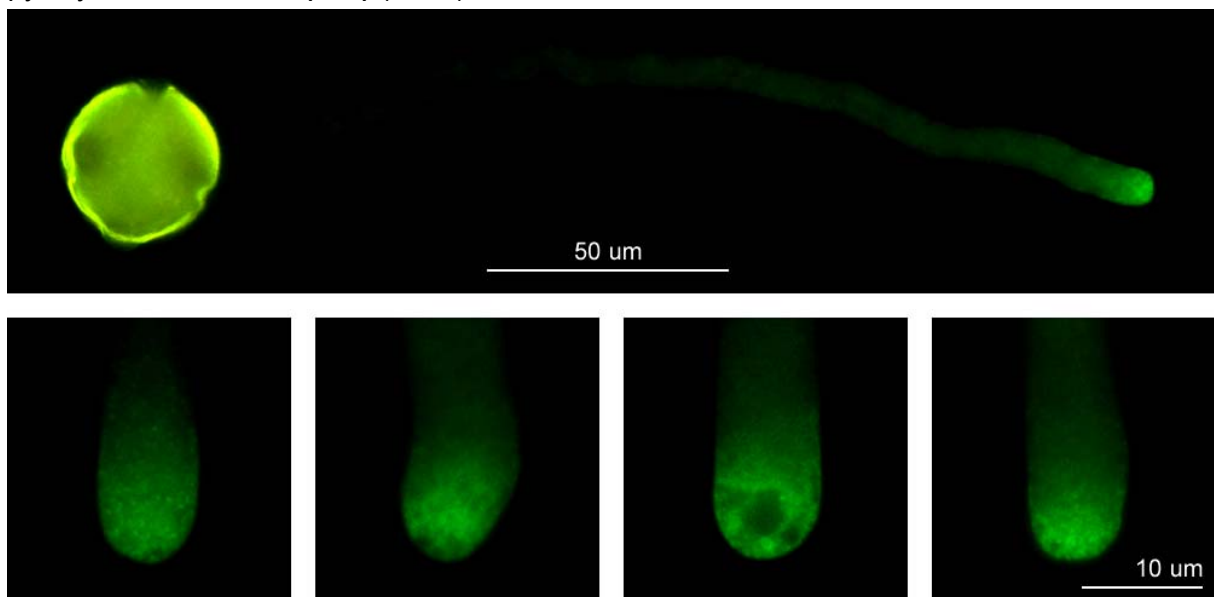
Byla připravena řada komplexních sloučenin - derivátů benzylaminopurinu (BAP) s vybranými přechodnými kovy (nikl, měď, železo, paladium, platina). Byla testována biologická aktivita připravených komplexů a bylo zjištěno, že vznik komplexu může mít za následek výrazné zvýšení cytotoxicity vůči vybraným nádorovým liniím (33, 175, 192, 248, 269, 367).

1. 2 Přenos signálů

1.2.1 Mechanismus přenosu signálů

Byla popsána regulační úloha rostlinných bílkovin závislých na GTP (tzv. malé GTPasy) v řízení buněčné polarity a morfogeneze (79, 199). Mikroinjekce nemetabolizovatelných analogů GTP/GDP do živých polarizovaných rostlinných buněk vedly ke ztrátě jejich polarity, zatímco mikroinjekce ATP/ADP byly bez okamžitého účinku (158). Předpokládáme, že nejdůležitější malou GTPasou v popsaných procesech je Rop GTPasa. V současné době je charakterizován Rab geranylgeranyltransferasový komplex (GGTasell) odpovědný za posttranslační prenylace Rab GTPas. Byla popsána jeho podjednotka zvaná „Rab escort protein“ (REP), blízká homologu námi dříve popsaného Rab GDP disociačního inhibitoru. V poloze 195 tohoto proteinu byla detekována aminokyselina specifická pro rostlinný REP – asparagin. ■

V rostlinách *Arabidopsis* byly charakterizovány tři podjednotky (Sec6, Exo70G1 a Sec10) komplexu Exocyst, který je efektoem malých GTPas při polarizované/lokalizované exocytose a nebyl dosud u rostlin popsán. S pomocí protilátek proti podjednotce Sec6 byla prokázána její lokalizace v membránově vázaném komplexu ve špičkách rostoucích pylových láček tabáku (313) (obr.2). ■



Obr. 2: Nepřímá imunolokalizace podjednotky komplexu Exocyst Sec6 v rostoucích pylových láčkách tabáku (*Nicotiana tabacum*, cv. Samsun).

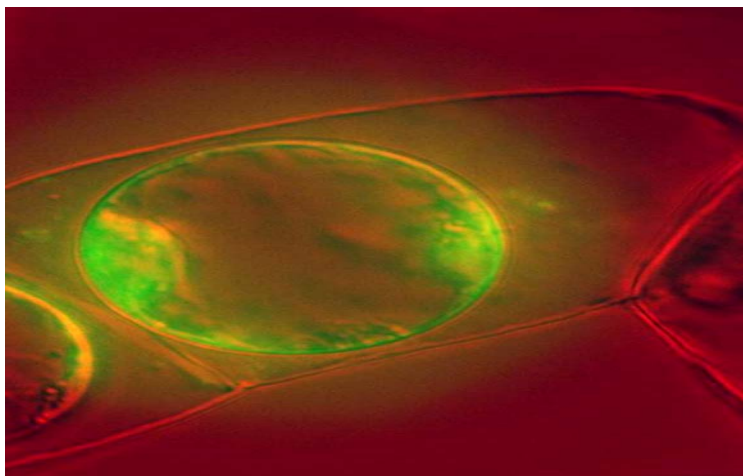
Byla provedena podrobná fylogenetická analýza rostlinných fosfolipas D (PLD) (283) a studována možná úloha PLD v regulaci buněčné expanze. Bylo prokázáno, že produkt aktivity PLD - kyselina fosfatidová (PA) - působí jako důležitý signál při regulaci polární morfogeneze rostlinných buněk a jejich růstu. Specifický inhibitor PLD 1-butanol zastavil růst pylové láčky a aplikace kyseliny fosfatidové růst obnovila. Růst byl částečně obnoven i po aplikaci taxolu, což svědčí o vazbě PLD na mikrotubuly (348). ■

Byly studovány základní složky rostlinné fosfolipidové signální soustavy. Receptor pro inositol-1,4,5-trisfosfát byl lokalizován na vnitrobuněčné úrovni na endoplasmatickém retikulu. Toto zjištění podpořilo předpoklad existence alternativního zdroje vápenatých iontů (vedle vakuoly) u rostlin (108). Poprvé byla též prokázána regulační funkce fosforylace

membránově vázané fosfolipasy D závislé na fosfatidylinositolbisfosfátu (PIP_2), izolované z pětidenních hypokotylů *Brassica oleracea* (340). ■

Tři typy signálních enzymů degradujících fosfolipidy – fosfolipasa C závislá na fosfatidylinositolech (PI-PLC) a dva typy fosfolipasy D, závislá a nezávislá na PIP_2 (PIP_2 -PLD, $PLD\alpha$) - byly studovány během zrání, klíčení a časného růstu řepky olejky. Aktivity membránově vázaných forem všech tří typů fosfolipas měly během zrání semen odlišné průběhy od forem rozpustných. PIP_2 -PLD vykazovala opačný trend vůči $PLD\alpha$ a PI-PLC a to jak během zrání semen řepky olejky, tak i během klíčení a růstu mladých rostlin. Ve frakcích izolovaných z hypokotylů mladých rostlin se většina sledovaných fosfolipas nacházela ve formě vázané na plasmatickou membránu (341). ■

Ke sledování aktivit fosfolipas *in situ* byla zavedena nová metoda využívající fluorescenčně značené substráty. Tyto substráty se inkorporují do membrán (především do plasmatické membrány) živých buněk (obr. 3). Fluorescenčně značené produkty štěpení fosfolipasami lze následně kvantifikovat pomocí TLC či HPLC. ■

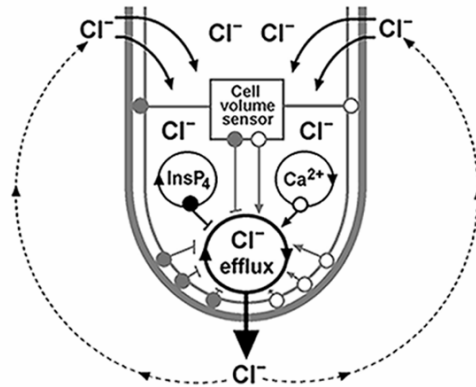


Obr. 3: Plasmolyzovaná buňka suspenzní kultury tabáku (BY-2) obsahující v plasmatické membráně fluorescenčně značený fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát (PIP_2) (PIP_2 -BODIPY FLC5) (zelená barva) a přenašeč PIP_2 (červená barva), který zůstává v buněčné stěně. Buňky obsahující BODIPY- PIP_2 jsou s výhodou používány ke stanovení aktivity fosfolipasy C *in situ*.

Byly pozorovány změny aktivity fosfolipas během ošetření rostlinných buněk elicitory. Aktivita fosfolipasy A byla zvýšena po ošetření tabákových buněk kryptogeinem (elicitem z patogenu *Phytophthora cryptogea*), resp. po ošetření buněk petržele glykoproteinovým elicitem izolovaným z *Phytophthora sojae*. V těchto podmínkách bylo také pozorováno snížení produkce diacylglycerolu. Protože kyselina fosfatidová byla detekována jen v nepatrném množství, je pravděpodobné, že diacylglycerol vzniká z přidávaného fosfatidylcholinu aktivitou fosfolipasy C hydrolyzující fosfatidylcholin. Tyto výsledky jsou první, které naznačují úlohu nové rostlinné fosfolipasy C hydrolyzující fosfatidylcholin v signálních přenosech (260).

Bylo prokázáno, že hlavním regulátorem kolísání růstové rychlosti pylové láčky je exkrece chloridových iontů na špičce pylové láčky (197, 276). Exkrece chloridových iontů je řízena nelineárním harmonickým oscilátorem a je zapnuta dříve než dojde k oscilacím v růstu (378). Chloridový oscilátor je úzce spřažený se změnami tlakového potenciálu buňky, koreluje s osmoregulací a změnami objemu buňky a reaguje na signál inositol-3,4,5,6-tetrakisfosfátu ($Ins(3,4,5,6)P_4$), který řídí frekvenci oscilátoru (197, 276) (obr. 4). Zdá se, že tento oscilátor je schopen přeměnit pylovou láčku na jakési „pneumatické kladivo“, které jí umožňuje pronikat čnělkou. ■

Obr. 4: Navržený model oscilací exkrece iontů Cl^- z apexu pylové láčky. Hotovost iontů Cl^- je zásobována ze vzdálených částí láčky z endogenního zdroje. Prostorové propojení místa exkrece a příjmu nasvědčuje tomu, že v apikální zóně se nachází uzavřený koloběh toků iontů Cl^- . Předpokládáme, že senzory zaznamenávající změny tlakového potenciálu buňky (šedé a bílé kruhy) se nacházejí v apikální zóně. Cyklus $\text{Ins}(3,4,5,6)\text{P}_4$ a předpokládaný cyklus Ca^{2+} jsou pravděpodobně fázově posunuty o 180° . Směr negativního toku je značen jako \perp , a pozitivního toku jako \uparrow . Silná linie kolem buňky znázorňuje buněčnou stěnu, vnitřní slabá linie značí plasmatickou membránu.



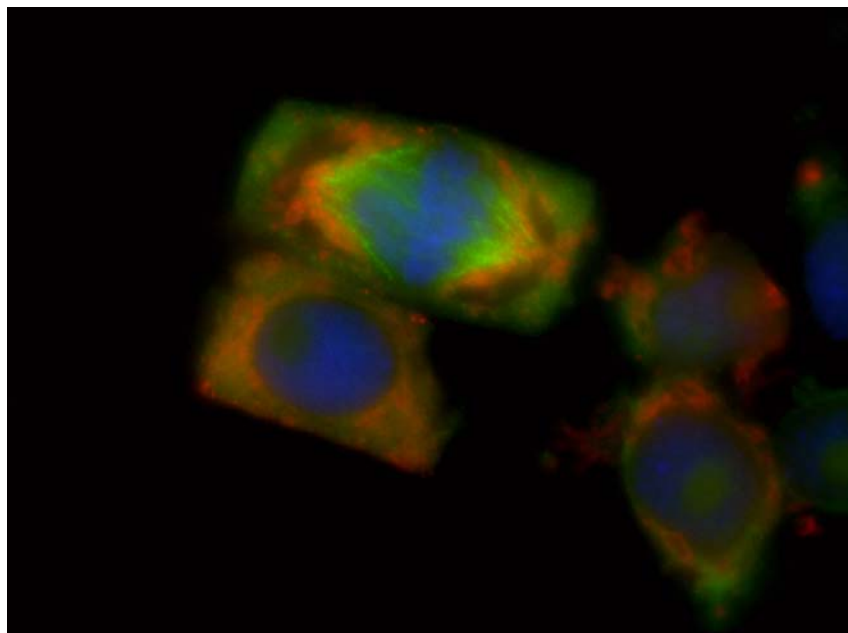
1.2.2 Vazba přenosu signálů na cytoskelet

Strukturální a funkční analýza cytoskeletu během vývoje mikrospor a pylu ukázala, že se v kritických vývojových fázích vytvářejí jedinečné cytoskeletální struktury určující další směr vývoje. Bylo prokázáno, že mikrotubuly jsou důležité při migraci jádra a polarizaci mikrospor, že se aktinové a tubulinové struktury podílejí na průběhu mikrosporové asymetrické mitózy a že aktin hraje významnou roli během postmitotické diferenciaci vegetativní a generativní buňky pylu (**46, 152**). Při indukci pylové embryogeneze prochází aktinový cytoskelet výraznou reorganizací, zejména kolem a uvnitř vegetativního jádra. Fáze gametofytického vývoje pylu jsou spojeny s výskytem vývojově specifických fukosylovaných a zejména manosových či hybridních N-glykoproteinů (**23**). Glykoprotein 92 kDa specifický a zároveň dominantní pro stadium asymetrické mitózy mikrospor odpovídá sekvencí aminokyselin β -galaktosidase. Glykoproteiny 51 a 59 kDa, které se hromadí při zrání pylu, jsou termostabilní a glykoprotein 59 kDa patří do skupiny dehydrinů. V mikrosporových kulturách bramboru se určitými koncentracemi a formami organického dusíku indukuje změna asymetrické mitózy v symetrický způsob dělení a reorientace gametofytického vývoje v počáteční vývoj embryogenní (**34**).

Byla studována nukleace a organizace cytoskeletu v rostlinných buňkách při absenci center pro nukleaci mikrotubulů, jakými jsou u živočichů např. centrosomy. V acentrosomálních buňkách rostlin byla charakterizována distribuce γ -tubulinu, proteinu, který je znám v buňkách živočichů jako jeden z klíčových při nukleaci a organizaci mikrotubulů (**85, 299**). Kromě přítomnosti γ -tubulinu v jádrech byla rovněž charakterizována jeho asociace s membránami ve formě proteinových komplexů (**312**) (obr. 5). Imunoprecipitací byla prokázána asociace γ -tubulinu s dimery α - a β -tubulinu. Velké komplexy γ -tubulinu odolné ke štěpení solemi byly nalezeny v mikrosomální frakci; molekulární hmotnost těchto komplexů byla vyšší než 1 MDa. Tyto komplexy byly aktivní v nukleaci mikrotubulů. Asociace komplexů γ -tubulinu s dynamickými membránami zřejmě zajišťuje flexibilitu necentrosomální nukleace mikrotubulů.

Byly popsány specifické změny cytoskeletu v průběhu somatické embryogeneze smrku. F-aktin byl přítomen v dělicích se buňkách hlavy embrya po celou dobu mitózy. Byla pozorována přechodná kolokalizace aktinových mikrofilament s preprofázním svazkem mikrotubulů. F-aktin nebyl detekován v kinetochorových mikrotubulárních svazcích v průběhu metafáze a anafáze. Výrazný výskyt aktinu byl zaznamenán ve vřeténku v pozdní anafázi v rovině dělení mezi separujícími se chromatidami (**303**). ■

Studovány byly i regulační aspekty významné pro organizaci cytoskeletu rostlin. Aktivace buněčného cyklu v zygotických embryích v průběhu imbibice semen a vztah k expresi tubulinu a uspořádání mikrotubulů byly analyzovány u bobu a vojtěšky (19). K postupné polymerizaci mikrotubulů docházelo v koordinaci s reaktivací buněčného cyklu u buněk, které do cyklu vstupovaly z G1-fáze, v níž buňky embryí v semenech odpočívaly. Podobně reaktivace buněčného cyklu byla spojena s výraznou přestavbou mikrotubulárního cytoskeletu v indukční fázi somatické embryogeneze u vojtěšky (11). ■



Obr. 5: Immunofluorescenční lokalizace mikrotubulů (zeleně), Golgiho membrán (červeně) a DNA (modře) v mitotické buňce bobu (*Vicia faba*). Membrány jsou koncentrovány v okolí pólu mitotického vřeténka.

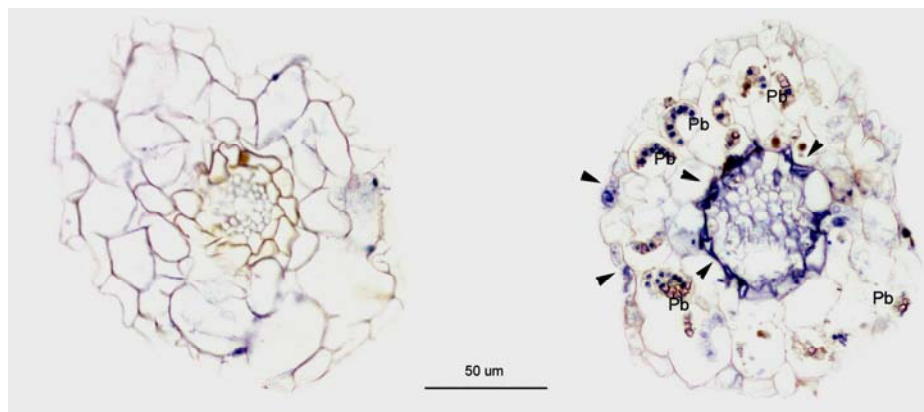
1.2.3 Přenos signálů v obranných reakcích rostlin

Pro schopnost rostlin odolat nepříznivým vlivům životního prostředí je typická indukce syntézy tzv. malých bílkovin teplotního šoku (sHSP). Ve spolupráci s PŘFUK byl popsán nový princip jejich regulace pomocí hladiny ATP v buňkách, kdy ATP inhibuje interakci sHSP komplexu a substrátu (118). Bylo prokázáno, že ve fázi akutního stresu, kdy se hladina ATP v buňkách snižovala, se zároveň díky změně konformace zvyšovala afinita těchto ochranných bílkovin ke složkám buněk ohrožených stresem. Při opadnutí akutní fáze stresu byly zvýšenou hladinou ATP tyto buněčné složky z sHSP komplexu uvolňovány a za spotřeby ATP renaturovány především HSP70.

Obranné mechanismy rostlin proti patogenním činitelům (hlavně virům) byly studovány se zaměřením na indukci systémově získané rezistence (SAR) a indukované systémové rezistence (ISR) syntetickými a přírodními induktory včetně indukce "pathogenesis-related" (PR-) proteinů (9, 189, 267, 301, 302). Složení a množství indukovaných PR-proteinů (9) i jejich lokalizace v pletivech (301, 302) závisela na aplikovaném induktoru. Jako nejúčinnější induktor byl prokázán v řepě cukrovce (9, 302) a pšenici benzothiadiazol (BTH), ale glycinbetain a kyselina salicylová byly také účinnými induktory. Isozymy β -1,3-glukanas a chitinas byly nalezeny jak v listech, tak v kořenech po ošetření chemickými induktory, infekcí *Polymyxa betae* a virem žluté nekrotické žilkovitosti cukrovky (BNYVV) (obr. 6).

Výsledky ukazují možnou úlohu těchto enzymů v rezistenci k onemocněním rhizománií. Byla prokázána indukce rezistence proti viru mozaiky tabáku (TMV) a Y-viru bramboru (PVY) (266) po aplikaci BTH. Devět různých induktorů (včetně BTH) bylo účinných u pšenice a

silně snížilo růst houby *Blumeria graminis*. Na rozdíl od induktorů, herbicidy s účinky auxinů zvyšovaly obsah TMV v discích listů tabáku, ale neindukovaly PR-proteiny (121). Byly studovány enzymy biosyntézy prekurzorů virové RNA, jejich regulace, subcelulární lokalizace a vztah k rezistenci rostlin (9, 40, 41, 122, 265, 266, 267, 361). Korelace mezi aktivitami klíčových enzymů metabolických cest a reprodukci virů byla prokázána pro glukoso-6-fosfátdehydrogenasu (G6PDH) (9, 40, 41, 265, 266, 267, 361) a ribonukleasy (9, 122, 267, 361). Především chloroplastový izozym G6PDH byl zapojen v syntéze viru (265). BTH také značně zvyšoval aktivity těchto cest, což ukazuje na možnou kompetici mezi virovou syntézou a obrannými cestami (267). Naopak antivirový faktor (AVF) pravděpodobně snižoval infekčnost TMV snížením aktivit těchto enzymů (363).



Obr. 6: Imunohistochemická lokalizace chitinasy Ch4 u pleťva zdravého kořene (vlevo) a postiženého rizománii (vpravo). U kořene infikovaného *P. betae cystosori* (Pb) je chitinasa lokalizována hlavně v endodermis (šipky) a xylému. Ch4 byla zjištěna i v některých endodermálních buňkách (šipky). U zdravých rostlin světlé značení ukazuje na konstitutivní přítomnost Ch4.

Infekce potyviry, tj. A virem bramboru (PVA) a Y virem bramboru (PVY) se projevovала rozdílně u kontrolních a transgenních rostlin tabáku. U kontrolních a F1 transgenních rostlin infekce PVY způsobila snížení fotosyntézy a parametrů kinetiky fluorescence chlorofylu a zvýšení aktivity fosfoenolpyruvátcarboxylasy, NADP-jablečného enzymu a pyruvátdehydrogenasy, zatímco vliv PVA byl jen nevýrazný. Elektronmikroskopické snímky prokázaly agregáty virových částic v blízkosti chloroplastů. *Pssu-IPT* rouby byly velmi rezistentní k virové infekci a infekce PVA dokonce stimulovala fotosyntézu těchto roubů.

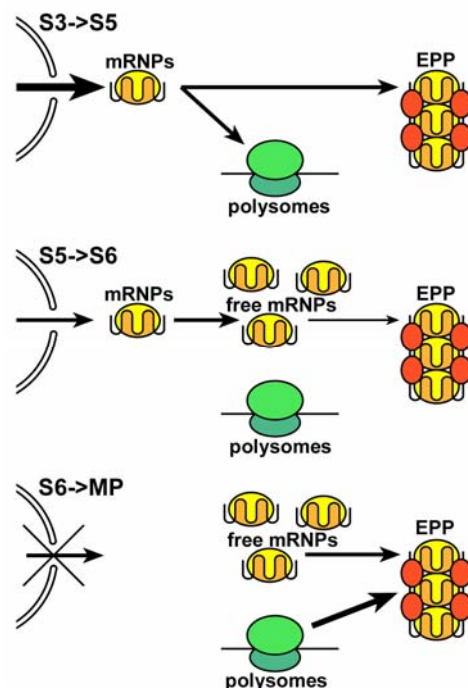
2 STRUKTURA A FUNKCE GENOMU

2. 1 Funkční genomika

Pomocí metod *in vitro* transkripce, translace a N-glykosylace bylo jednoznačně prokázáno, že modelový tabákový pylově specifický N-glykoprotein p69 je kódován genem *ntp303* (130). Na úrovni 1-D a 2-D SDS PAGE bílkovinných spekter stěn pylových láček 16 rostlinných druhů z 15 rodů byla prokázána fylogenetická konzervovanost tohoto genu (162). U transkriptu *ntp303*, syntetizovaného během zrání pylových zrn po první haploidní mitose, hromaděného v netranslatovatelné podobě a využívaného až rostoucími pylovými láčkami, byla sledována kinetika syntézy a u rostlin poprvé popsána nová forma skladování sledovaných transkriptů. Transkripty *ntp303* jsou skladovány ve formě translačně neaktivních EPP („EDTA-puromycin resistant particles“), vysokomolekulárních komplexů RNP

(„ribonucleoprotein“) rezistentních vůči látkám destabilizujícím polysomy - EDTA a puromycinu (obr. 7) (95, 96, 168).

Obr. 7: Model vývojové regulace buněčné distribuce *ntp303* mRNA. De novo syntetizovaná *ntp303* mRNA je exportována z jádra ve formě volných mRNP. Mezi stadii 3 a 5 je distribuována rovnoměrně mezi volné translačně neaktivní polysomy a EPP částice. V tomto stadiu jsou také zformovány všechny polynomy asociované s *ntp303* mRNA. Mezi stadii 5 a 6 jsou polynomy ve vegetativní buňce stále přítomné, ale jejich množství neroste, zatímco de novo syntetizovaná *ntp303* mRNA zůstává v přechodné formě volných mRNP a jen malá část je ukládána ve formě EPP částic. V poslední fázi dozrávání pylu následující po stadiu 6 je syntéza *ntp303* mRNA již ukončena a dochází k masivní redistribuci *ntp303* mRNA z volných mRNP a polynomů do EPP částic.



Poprvé v rostlinné říši byla v celogenomové šíři analyzována genová exprese jediné vyvíjející se buňky na úrovni transkriptomu a zejména její změny během ontogeneze. Modelovým systémem byla vegetativní buňka pylového zrna *Arabidopsis*. Gametofytická genová exprese byla kvantifikována, aktivní geny byly rozděleny do funkčních kategorií a byly porovnány transkriptomy gametofytu a sporofytu a míra jejich překryvu (321, 326). Dále byly popsány předpokládané gametofytické transkripční faktory a skupiny genů společně s nimi exprimovaných a obsahující kandidáty na předpokládané regulační jednotky, jejichž exprese je kontrolována gametofytickými transkripčními faktory (388).

Studium dynamiky exprese dalšího rostlinného translačně regulovaného konstitutivně přepisovaného proteinu D1, jednoho z klíčových proteinů fotosystému II, ukázalo, že v průběhu stresu a první dva dny po něm zůstala intenzita translace nezměněna, stále na vysoké úrovni. K výraznému poklesu až zastavení syntézy došlo až třetí den po stresu, kdy se už ostatní fyziologické a biochemické parametry stabilizovaly na úroveň kontroly (166, 171, 240).

Pro proteomické studium byly vypracovány originální metody izolace a frakcionace mitochondrií a extrakce bílkovin ne z kilogramů, ale pouze z 1 gramu rostlinného materiálu. Bylo prokázáno, že tepelný stres 40 °C okamžitě indukuje intenzivní expresi 9 nízkomolekulárních proteinů, 8 typů sHSP a 1 transkripčního faktoru. Kvalitativní a kvantitativní zastoupení všech těchto typů bílkovin, které jsou součástí vysokomolekulárních komplexů membránové frakce, zůstalo stabilní během 12 hodin stresu.

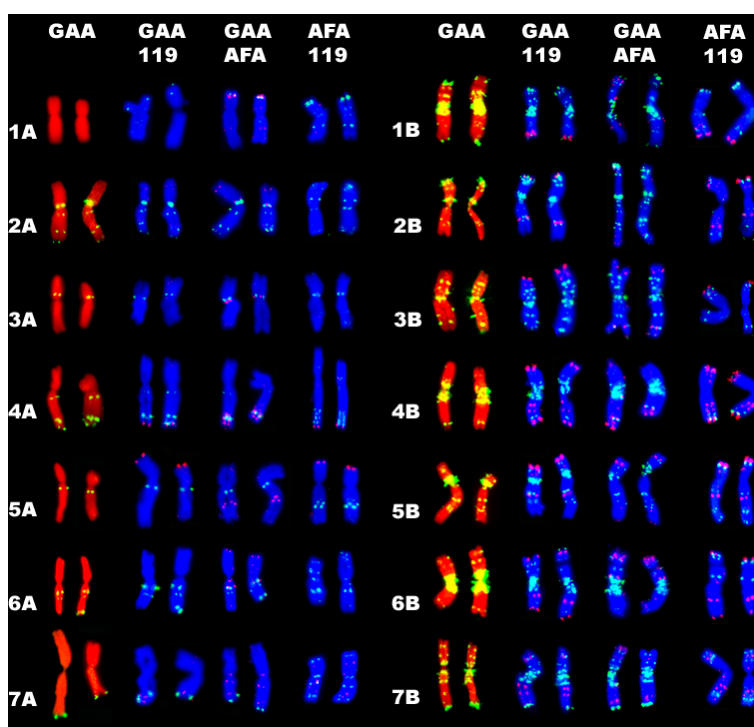
2. 2 Studium struktury genomu

Přestože řada autorů předpokládá vnitrodruhovou variabilitu velikosti genomu, výsledky získané námi u rodů *Musa* (26), *Sesleria* (107) a *Agave* (342) tyto předpoklady nepotvrdily. Jako jeden z modelů pro studium evoluce polyploidních druhů byl vybrán rod *Musa*. Poprvé byla stanovena velikost jaderného genomu u planých diploidních druhů a u vybraných diploidních a triploidních kultivarů (26). Systematické studium genomu vyústilo

v charakterizaci řady repetitivních sekvencí DNA, které tvoří významnou část genomu banánovníku (271). Mezi ně patří i nový typ retrotransposonu „monkey“ (83).

Ve spolupráci s laboratoří Prof. B. Vyskota (BFÚ AV ČR, Brno) byla studována evoluce pohlavních chromosomů rostlin. U zástupců rodu *Silene* byla stanovena velikost jaderného genomu a genomické distribuce genů pro ribosomální RNA (190). Vypracování metody třídění pohlavních chromosomů průtokovou cytometrií umožnilo lokalizovat tzv. MROS geny exprimované u samčích rostlin na chromosom X a na autosomy (172). Bylo rovněž zjištěno, že na Y chromosomu se nachází MADS box gen, který byl na tento chromosom duplikován z autosomu (331).

Analýza jaderných genomů kulturních plodin je komplikována jejich velikostí a složitostí. S cílem tyto analýzy zjednodušit byly vypracovány metody třídění jednotlivých chromosomů u tří obilovin: ječmene (27), pšenice (129, 222, 244) a žita (325). Pomocí tříděných chromosomů byla poprvé stanovena genomická distribuce několika repetitivních sekvencí DNA (104, 207, 325) a byla určena chromosomová lokalizace molekulárních markerů (27, 325) (obr. 8).

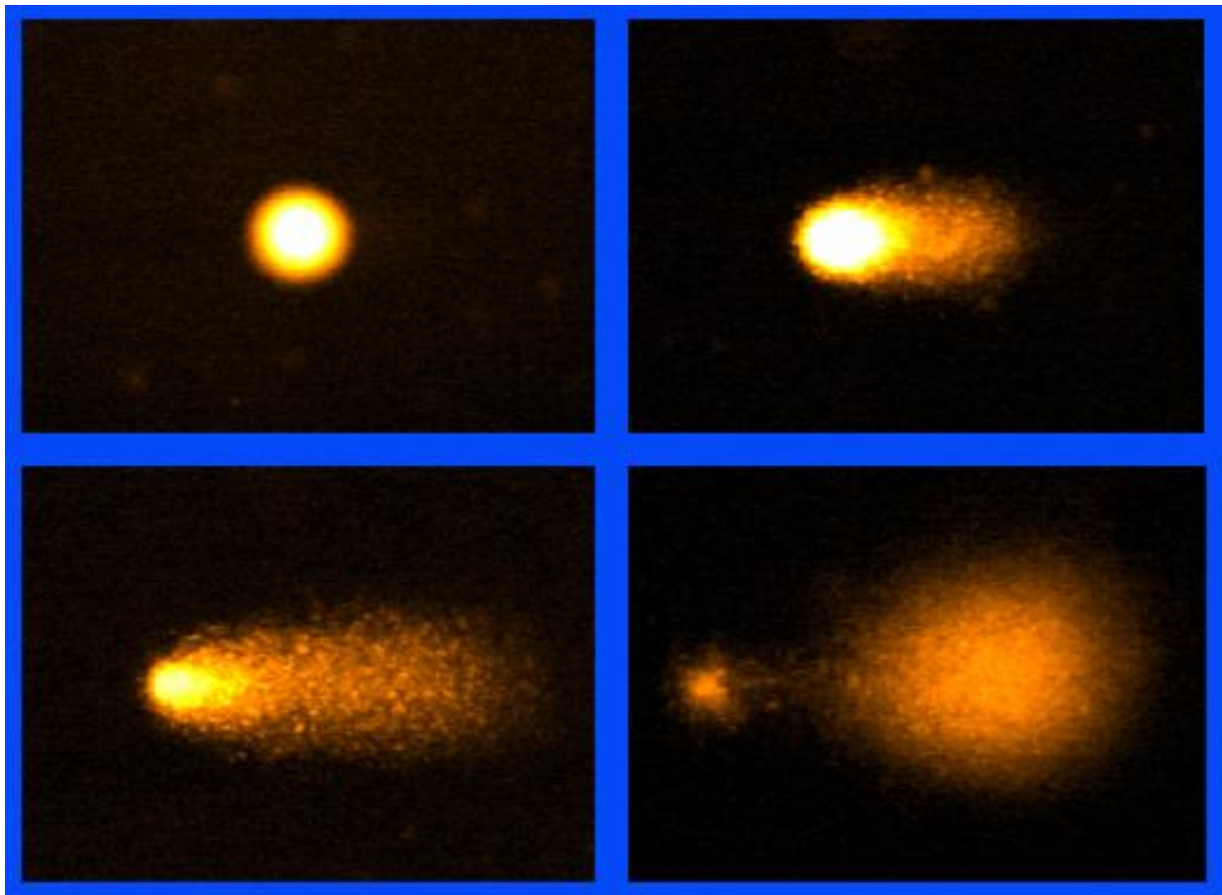


Obr. 8: Analýza genomického rozdělení pěti repetitivních DNA sekvencí (pSc119.2, GAA microsatellite, Afa family repeat, a 5S rDNA) na chromosomech tetraploidní pšenice (*Triticum durum* cv. Langdon; $2n = 4x = 28$) použitím fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Sondy byly značeny jednak fluoresceinem (žlutozelené signály) nebo Cy3 (červené signály); chromosomy byly kontrastně značeny DAPI (červené pseudoznačení pro jednobarevnou FISH; modré pseudoznačení pro dvoubarevnou FISH). Pro každý typ chromosomu jsou vybrány dva reprezentativní příklady.

Úspěchem je vypracování metody izolace vysokomolekulární DNA z tříděných chromosomů a konstrukce chromosomově-specifických knihoven DNA klonovaných ve vektoru BAC (360). Tříděné chromosomy byly využívány i při mapování genomu leguminóz. U bobu koňského byly izolovány a charakterizovány nové repetitivní sekvence (28) a izolovány nové mikrosatelitové markery pro chromosom 1 (255). Pomocí tříděných chromosomů a PCR byly integrovány genetické a fyzické mapy hrachu (251) a cizrny (275).

2. 3. Genotoxicita a reparace DNA

Pro studium reparace DNA byly vyvinuty modifikace metody analýzy komet (obr. 9), které umožňují detekci různých typů poškození DNA a jejich lokalizaci ve specifických sekvencích jako např. v oblasti telomer nebo v repetitivních sekvencích pomocí techniky FISH ("fluorescence *in situ* hybridisation") (110). Vývoj těchto modifikací metody analýzy komet byl nezbytný pro sledování účinnosti a kinetiky reparace a umožnil, spolu s dokončením sekvenace genomu *A. thaliana* a dostupností mutantů typu knock-out, studium jednotlivých reparačních drah. Byla studována citlivost k chemickým mutagenům způsobujícím poškození DNA, jejichž reparace probíhá různými mechanismy a zúčastňují se jí různé reparační enzymy. Šlo o alkylační mutageny N'-methylnitrososomočovinu a methylmethansulfonát, radiomimetický bleomycin působící dvojláknové zlomy DNA, mitomycin C tvořící křížové (cross-link) vazby DNA a rostlinný morforegulátor hydrazid kyseliny maleinové (maleinhydrazid, MH). Působení těmito mutageny pak zpětně sloužilo jako ověření fenotypu mutantů (177). Tyto výsledky umožnily (ve spolupráci se zahraničními pracovišti) studium řady mutantů různých reparačních drah. Šlo zejména o mutanty defektní v genech zúčastňujících se různým způsobem homologní rekombinace: AtSpo3-11, AtT3B, AtARF1, AtTop6B, AtRad9, AtRad17, AtBRCA1, AtFANDC2, popřípadě nehomologního spojování dvojláknových zlomů (NHEJ) AtKu70, AtKu80. Dosud byly publikovány výsledky studia mutantů topoisomerasy AtTop6B (239). Kromě analýzy reparačních mutantů *Arabidopsis* byla prokázána adaptace na genotoxický stres u *Vicia faba* a *Arabidopsis* po působení různých typů alkylačních mutagenů, které není vázáno pouze na alkylaci O⁶-guaninu, jak se dosud předpokládalo podle analogie s jinými organismy (80).



Obr. 9: Poškození DNA v jádrech tabáku v kometovém testu. Kontrolní jádro (A) a jádra s různým stupněm poškození DNA (B, C, D).

Ozařování klíčnicích rostlin tabáku zvýšilo frekvenci somatických mutací a korelovalo ($r = 0,99$) se zvýšením poškození DNA v jádrech listů. Dvacet čtyři hodin po ozaření byla prokázána úplná reparace poškození DNA (měřena kometovou technikou), zatímco frekvence somatických mutací se zvýšila v závislosti na dávce záření (**181**). Poškození DNA, které bylo indukováno monofunkčním alkylačním mutagenem ethylmethansulfonátem, bylo prokázáno 72 hodin po mutačním působení (**91**).

Rostlinný růstový regulátor a herbicid hydrazid kyseliny maleinové (MH) indukoval vysokou frekvenci somatických mutací a rekombinací u klíčnicích rostlin tabáku, ale nezvýšil poškození DNA měřené kometovou technikou. MH představuje první chemickou látku, která je mutagenní a indukuje homologickou rekombinaci, která však neindukovala poškození měřitelné kometovým testem (**90, 318**).

2. 4. Molekulární aspekty rostlinné virologie

Byl studován vliv infekce způsobené virem ze skupiny *Potyviridae*, A viru bramboru (PVA) a Y viru bramboru (PVY) na rostlinný metabolismus a fotosyntetický aparát u rostlin *Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun a cv. Petit Havana SR1. Výzkum byl zaměřen na aktivitu enzymů katalyzujících anaplerotické cesty, fosfoenolpyruvátkarboxylasu (PEPC, EC 4.1.1.31.), NADP dependentní malátdehydrogenasu dekarboxylační (NADP-ME, EC 1.1.1.40) a pyruvátfosfátkinasu (PPDK, EC 2.7.9.1.). Rostliny infikované PVY vykazovaly zvýšené aktivity všech tří enzymů. Enzymem, který reagoval na virovou infekci nejcitlivěji byl NADP-ME, jehož aktivita byla ve srovnání s kontrolními rostlinami pětinašobně vyšší u rostlin cv. Samsun a šestinašobně vyšší u rostlin SR1. Aktivity PEPC a PPDK se u obou kultivarů zvýšily dvoj- až trojnásobně. Na rozdíl od PVY, infekce PVA významně neovlivnila aktivity měřených enzymů. Nebyly také zjištěny rozdíly mezi oběma kultivary (**352**).

Byla provedena nukleotidová sekvenace kódujících oblastí izolátu 54-15 mop-top viru bramboru (PMTV). Porovnáním získaných nukleotidových a odvozených aminokyselinových sekvencí s dalšími izoláty bylo prokázáno, že i když izoláty pocházejí z různých částí Evropy a vykazují různou intenzitu příznaků na hostitelských rostlinách, mají velmi konzervativní genom. Několik změn v nukleotidových i aminokyselinových sekvencích bylo zjištěno v RNA kódující proteiny "triple gene block" (TGB) a v "read-through" části obalového proteinu (CP). Fenotypová různost by tedy mohla být soustředěna do této oblasti. Pro potvrzení nalezených změn byly sekvenovány oblasti pro TGB a read-through CP pro další izoláty, 54-19 a 54-10. Porovnání získaných sekvencí s databázemi potvrdilo velmi vysoký stupeň genetické stability a pomalou evoluci v populaci PMTV izolátů. Nejzajímavější evoluční událostí, která byla pozorována, je zrušení čtvrtého ORF na RNA kódující TGB, který je u ostatních izolátů PMTV identifikován jako gen pro protein bohatý na cystein (**308**).

2. 5. Výzkum perspektivní pro praktické využití

Pro studium konceptu rostlinné požitelné vakcíny byl zaveden systém agroinfekce tabáku a rajčete pro charakterizaci molekulárních a imunologických vlastností virových proteinů lidského papilloma viru HPV-16. Tímto systémem bylo dosaženo produkce 0,5 – 1 % celkových proteinů onkoproteinu E7, který je potenciálně použitelný jako léčebná vakcína rakoviny děložního čípku, a obalového proteinu L1, který lze použít jako profylaktickou vakcínu. Produkovaný L1 vytváří strukturní kapsomery. V současnosti probíhá studium podmínek ovlivňujících tvorbu pseudovirionů a imunogenity produkovaných proteinů.

Byly připraveny geny pro expresi obalového proteinu A viru bramboru (PVACP) a pro různé kombinace PVACP modifikovaného tak, aby se exprimovaly epitopy ze strukturních a nestrukturních proteinů (L2 a E7) lidského papilloma viru (HPV), které byly připojeny jak na N, tak na C konec PVACP (PVACP+E7, L2+PVACP a L2+PVACP+E7).

Byly vyšlechtěny nové odrůdy jabloně s genetickou rezistencí V_f proti strupovitosti, nejzávažnější chorobě jabloní způsobované houbou *Venturia inaequalis*. K právní ochraně

bylo přihlášeno 11 novošlechtění v ČR pod odrůdovými čísly MAL 7121, 7123, 7125, 7983, 8137, 8138, 8139, 8140, 8641, 8642, 8643 a 4 odrůdy v Evropské unii (1999/0804, 2001/0082, 2003/1163, 2003/1164, 2003/1436). Seznam udělených rostlinných patentů/šlechtitelských osvědčení a uzavřených licenčních smluv je uveden v části D4 a 4.2. Dále byly v daném období uzavřeny zkušební smlouvy s opcí v Austrálii (5 odrůd), J. Africe (5 odrůd), N. Zélandu (1 odrůda) a USA (10 odrůd). V programu šlechtění rezistentních odrůd s kompaktním sloupovitým růstem odvozených z mutace Wijcik McIntosh bylo 1 novošlechtění přihlášeno k právní ochraně v ČR (MAL 07120) a byly uzavřeny opční smlouvy na tři novošlechtění s německou firmou pro Evropskou unii a na osm novošlechtění v USA. Rezistentní odrůdy vyšlechtěné na stanici ve Střížovicích byly komerčně využívány zejména pro ekologické ovocnářství v Evropě a pravidelné výnosy z licencí byly významným finančním zdrojem ústavu. V navazujícím šlechtění odrůd se širším genetickým základem rezistence byl selektován šlechtitelský materiál pro ověřování homozygosity V_f a kombinace polygenní rezistence s rezistencí V_f pomocí molekulárních markerů.

Byl uskutečněn mikroprojektilový přenos genů *DAP A* a *PHYT* (gen *DAP A* kóduje formu dihydropikolinátsyntasy necitlivou ke zpětně vazebné inhibici a zvyšuje obsahu lysinu; gen *PHYT* kóduje fytasu a zlepšuje příjem fosforu) do genomu buněk nezralých zygotických embryí ječmene, z nichž byly získány transgenní rostliny. V prašnickových kulturách těchto primárně transgenních rostlin však byla frekvence transformantů nízká (**215**). Molekulární analýzou byla přítomnost genu *DAP A* potvrzena u čtyř androgenních regenerantů, z nichž jen jeden vytvořil semena. Přítomnost genu *PHYT* (fytasa) byla zjištěna u více než 70% androgenních regenerantů. Za významný výsledek považujeme odvození tetrahaploidní transgenní linie ječmene nesoucí fytasový gen.

Byla provedena analýza transgenních rostlin bramboru s vneseným genem LbPFK (fosfofruktokinasa z *Lactobacillus bifidus*) v polních pokusech (výnosové charakteristiky). Mezi transgenními rostlinami převažovaly fenotypově normální rostliny; pouze 27,5 % transformovaných rostlin kultivaru Kamýk a 21,4 % rostlin kultivaru Korela vykazovalo odlišnosti v růstu či kvetení. Transformované linie měly zpravidla stejný výnos jako kontrolní rostliny nebo i vyšší (o 3 – 32 %). U transformovaných rostlin bylo množství redukcí cukrů bezprostředně po sklizni vyšší než v hlízách kontrolních rostlin, avšak během chladového skladování hlíz (celkem 160 dnů) stále klesalo, zatímco v hlízách kontrolních rostlin stoupalo; na konci skladování bylo nižší než v kontrolních hlízách. Nejlepší linie měla obsah redukcí cukrů po 160 dnech skladování v chladu jen 0,17 %.

SEZNAM ZKRATEK:

ABA	kyselina abscisová
<i>ABI3</i>	gen odpovědný za mutaci <i>A. thaliana</i> („abscisic acid insensitive 3“)
ABPs	vazebné proteiny pro auxin
BAP (BA)	N ⁶ -benzylaminopurin
BNYVV	virus žluté nekrotické žilkovitosti cukrovky
BY-2	buněčná kultura tabáku
BTH	benzothiadiazol
CaMV35S	promotor z viru mosaiky kvěťáku
CDK (<i>cdc2</i>)	cyklin-dependentní kinasa (2)
CHN/O analýza	elementární analýza
CKX (<i>AtCKX3</i>)	cytokininoxidasa/reduktasa (z <i>A. thaliana</i>)
CP	obalový protein
2D-HPLC	dvourozměrná HPLC
DsRed	„Discosoma species Red“ (červeň z druhu <i>Discosoma</i> - fluorescenční barvivo)
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
ELISA	„enzyme-linked immunosorbent essay“ (metoda pro imunologické stanovení bílkovin a dalších látek)
ESI-MS	hmotová spektrometrie s „electrospray“ ionizací

EPP	částice rezistentní k působení puromycinu a EDTA
EST	„expressed sequence tag“ – exprimovaná část sekvence genu
FPLC	rychlá kapalinová chromatografie bílkovin
FRET	fluorescenční rezonanční přenos energie
GDP	guanosindifosfát
GTP	guanosintrifosfát
GTPasa	enzym štěpící guanosintrifosfát
GFP	protein zeleně fluoreskující
G6PDH	glukoso-6-fosfátdehydrogenasa
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GUS	β-glukuronidasa
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPLC/MS (LC/MS)	vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
(s)HSP	(malé) proteiny teplotního šoku
IAA	kyselina indolyl-3-octová
IPT	isopentenyltransferasa
IPMP	isopentenyliadenosin-5'-monofosfát
IR spektrometrie	spektrometrie v infračervené oblasti
LC	kapalinová chromatografie
MALDI-TOF	„matrix-aided laser desorption ionisation-time of flight“- typ hmotové spektrometrie
MH	maleinhydrazid (hydrazid kyseliny maleinové)
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická resonance
NPA	kyselina 1-N-naftylftalamová
ORF	otevřený čtecí rámeček
PAGE	polyakrylamidová gelová elektroforéza
PEPC	fosfoenolpyruvátcarboxylasa
PCIB	kyselina p-chlorisomáselná
PIP ₂	fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát
PLC	fosfolipasa C
PI-PLC	fosfolipasa C hydrolyzující fosfatidylinositol
PC-PLC	fosfolipasa C hydrolyzující fosfatidylcholin
PCR	polymerasová řetězová reakce
PLD	fosfolipasa D
PMTV	mop-top virus bramboru
PPDK	fosfopyruvátdehydrogenasa
proteiny PR	proteiny indukované působením patogenů („pathogenesis-related“)
<i>Pssu-IPT</i>	gen <i>IPT</i> kódující isopentenyltransferasu pod kontrolou promotoru z malé podjednotky Rubisco z hrachu
PVA	A virus bramboru
PVY	Y virus bramboru
R/FR	červené záření 660 nm/ dlouhovlnné červené záření 730 nm
RNAi	malá interferující RNA
RT-PCR	„real time“ polymerasová řetězová reakce
SAR	získaná systémová rezistence
SDS-PAGE	polyakrylamidová elektroforéza s přidavkem dodecylsulfátu sodného
SOD	superoxiddismutasa
TGB	trojitý blok genů
TLC	tenkovrstevná chromatografie
TMV	virus mosaiky tabáku
ÚEB	Ústav experimentální botaniky
UV spektrometrie	spektrometrie v ultrafialové oblasti
YFP	protein žlutě fluoreskující
VC	výzkumné centrum
VZ	výzkumný záměr

C5. Vymezení cílů výzkumného záměru

Plány na období 2005 – 2010

Výzkumný záměr ÚEB pro období 2005-2010 vychází z výsledků předchozího období a je přednostně zaměřen na dvě základní, v ÚEB tradiční oblasti:

- na oblast regulace růstu a vývoje
- na oblast rostlinné genomiky.

V oblasti regulace růstu a vývoje bude výzkum soustředěn na metabolismus, transport a mechanismus působení regulačních metabolitů, především fytohormonů, a na přenos signálů, zejména na fosfoinositidový signální systém, malé GTP-asy, komplex Exocyst a proteiny asociované s forminy. V oblasti genomiky budou prioritními směry výzkum struktury rostlinného genomu a studium exprese a funkce některých genů v samčím gametofytu, v buněčném cyklu a v interakci rostliny s víry. V obou oblastech bude pozornost zaměřena na studium základních regulačních mechanismů pro životní pochody v rostlinných buňkách a, následně, také na potenciální praktické využití poznatků získaných v ÚEB základním výzkumem.

Základním rysem výzkumného záměru bude integrace obou hlavních oblastí problematiky řešené v ÚEB s cílem získat komplexní pohled na mechanismus základních životních pochodů v rostlinné buňce. Výzkum je tedy orientován na různé úrovně organizace rostlinné buňky: od struktury genomu přes regulaci genové exprese, funkční organizaci signálních drah, mechanismus působení regulátorů růstu a vývoje, až k výslednému fyziologickému efektu (buněčný cyklus, endogenní rytmicita, buněčná polarita, atd.). Tato komplexnost výzkumu je nezbytným předpokladem pro pochopení principů regulace vývoje rostlinné buňky a následně regulace vývoje rostlinných orgánů až po úroveň celistvého rostlinného organismu.

Přednostně budou podporovány progresivně se rozvíjející směry výzkumu, které přinášejí prioritní výsledky a ukazují další cesty v dané problematice:

- molekulární cytogenetika (struktura a evoluce genomu, konstrukce cytogenetických map pomocí tříděných chromosomů)
- charakterizace transkriptomu samčího gametofytu
- fosfoinositidový signální systém u rostlinných buněk
- mechanismus funkce a regulace aktivity přenašečů pro auxiny a cytokininy
- různé aspekty metabolismu cytokininů
- molekulární mechanismy nukleace a reorganizace mikrotubulů v průběhu buněčného cyklu
- syntéza farmakologicky účinných proteinů v transgenních rostlinách

Velký potenciál je uložen ve vzájemném propojení těchto směrů: genom jako základní zdroj informací tvoří spolu se signály a regulačními molekulami informační a regulační „základnu“ buněčného vývoje. Přenos signálů je vázán na buněčné komponenty, které současně tvoří základní kostru pro procesy translace a jejich regulaci a pro transport proteinů k cílovým efektorovým strukturám.

Experimentální práce bude soustředěna na omezený počet experimentálních modelů (především *A. thaliana*, buněčné kultury tabáku, ve speciálních případech materiály další), tak, aby bylo možno získat ucelený pohled na průběh klíčových

vývojových procesů v rostlinné buňce a na jejich regulaci. Vzájemná koordinace a integrace těchto výzkumných směrů jsou spolu se širokým metodickým zázemím a perspektivním personálním obsazením v ÚEB dobrým předpokladem kvalitního moderně orientovaného základního výzkumu životních pochodů rostlinné buňky.

Propojení plánované problematiky je zřejmé i z následujícího podrobného přehledu - uspořádání použité dále bylo zvoleno pro přehlednost a neodráží vymezení nebo oddělení řešené problematiky. Pro snazší orientaci jsou v závorkách uvedena jména klíčových pracovníků odpovědných za danou oblast výzkumu.

Obsah:

- 1 REGULACE RŮSTU A VÝVOJE ROSTLIN**
- 1.1 *Regulátory růstu*
- 1.1.1 *Metabolismus fytohormonů a dalších regulátorů růstu*
- 1.1.2 *Transport fytohormonů a dalších regulátorů růstu*
- 1.1.3 *Mechanismus účinku fytohormonů a dalších regulátorů růstu*
- 1.1.4 *Hormonální regulace některých růstových a vývojových procesů a stresových reakcí*
- 1.1.5 *Výzkum perspektivní pro praktické využití*
- 1.2 *Přenos signálů*
- 2 STRUKTURA A FUNKCE GENOMU**
- 2.1 *Základy strukturní a funkční genomiky*
- 2.2 *Molekulární aspekty rostlinné virologie a fytopatologie*
- 2.3 *Příspěvek k organizaci mezinárodní vědecké aktivity při výzkumu Arabidopsis thaliana*
- 2.4 *Výzkum perspektivní pro praktické využití*

1 REGULACE RŮSTU A VÝVOJE ROSTLIN

1.1 Regulátory růstu

1.1.1 Metabolismus fytohormonů a dalších regulátorů růstu

Pro poznání mechanismů regulace a cílené usměrňování růstu a vývoje rostlin je třeba poznat mechanismy a způsoby regulace hladin rostlinných hormonů. Tyto poznatky mají zásadní význam pro vývoj nových růstových regulátorů a přípravu transgenních rostlin s řízenou biosyntézou a metabolismem rostlinných hormonů a pro jejich využití v rostlinných biotechnologiích.

Výzkum regulace hladin a působení cytokininů bude zaměřen na (a) uplatnění hormonálních interakcí při regulaci obsahu cytokininů v rostlinách, (b) mechanismy hormonální homeostase, (c) cílení enzymů zapojených do biosyntézy a metabolismu cytokininů a dopad na hladiny cytokininů v buňce a apoplastu, (d) na vybrané metabolické dráhy a enzymy účastnící se regulace hladin cytokininů v rostlinách (prostorová a časová lokalizace během vývoje, fyziologický význam, reakce na vnější stresy) a na (e) identifikaci a úlohu specifických vazebných proteinů pro cytokininy při vytváření zásobního poolu imobilizovaných cytokininů. Bude použito metod separace rostlinných hormonů (auxiny, cytokininy a kyselina abscisová) pomocí extrakce na pevné fázi s využitím dvouparametrových sorbentů a jejich stanovení pomocí HPLC/MS, GC/MS a 2D-HPLC. Aktivity enzymů podílejících se na metabolismu cytokininů budou stanoveny na základě enzymové konverze radioaktivně značených substrátů a následném oddělení produktů pomocí HPLC s průtokovým měřením radioaktivity. Pro čištění vazebných proteinů pro cytokininy bude použito LC a FPLC a jejich vazebná aktivita bude stanovena pomocí

rovnovážné dialýzy a ultrafiltrace komplexů bílkovin s radioaktivně značenými ligandy. (Motyka, Vaňková Dobrev, Kamínek)

Vývoj a stabilita chloroplastů jsou silně ovlivňovány cytokininy. Změny v jejich hladinách v plastidech mohou regulovat jejich výkonnost a oddalovat jejich stárnutí a tím i podstatně zvýšit výkonnost fotosyntetického aparátu. Z tohoto hlediska bude sledován obsah cytokininů v chloroplastech z rostlin tabáku nesoucích gen pro zeatin-O-glukosyltransferasu (získané od prof. D. W. Moka, Corvallis, Oregon, USA). Pomocí inkubace se značenými prekursory (pyruvát, mevalonát, D-xylosa) bude popsána biosyntéza cytokininů v izolovaných chloroplastech. Využity budou inhibitory obou biosyntetických drah isoprenoidů, lovastatin a fosfidomycin. V chloroplastech budou sledovány i některé metabolické přeměny cytokininů. Imunocytochemickou metodou budou sledovány změny v hladinách a lokalizaci cytokininů v listech rostlin tabáku (kontrolních a transformovaných geny, jejichž produkty ovlivňují hladiny cytokininů) a z nich izolovaných chloroplastů. (Vaňková, Macháčková)

Recentní poznatky o výskytu cytokininů v živočišných buňkách naznačují, že cytokininy mají dosud blíže nepoznanou biologickou funkci též v živočišných buňkách. K řešení této problematiky lze s výhodou použít moderní analytické metody zdokonalené v ÚEB. Pomocí LC/MS bude studován výskyt cytokininů v živočišných tkáních, zejména při tvorbě a diferenciaci krevních buněk (předběžné výsledky ukázaly výskyt kinetinu jako nativního cytokininu v některých typech krevních buněk). S využitím inkorporace deuteria *in vitro* bude studována biosyntetická dráha cytokininů v těchto buňkách. (Strnad, Doležal)

V předchozích letech byly v ÚEB izolovány a identifikovány nové přirozené cytokininy z nichž některé se vyznačují vysokou biologickou aktivitou a metabolickou stabilitou. Tento velmi úspěšný směr výzkumu bude pokračovat s cílem (i) izolovat a identifikovat nové N⁶-substituované deriváty adeninu z rostlin (a živočichů), (ii) stanovit jejich interní koncentrace pomocí HPLC/MS a (iii) biologickou aktivitu pomocí různých cytokininových biotestů. Metabolismus těchto látek bude studován ve vztahu k potenciálnímu použití v rostlinných biotechnologiích. Budou též připravena jejich syntetická analoga. Budou připraveny další skupiny organických látek strukturně odvozených od N⁶-substituovaného adeninu a jejich komplexy s vybranými přechodnými kovy; jejich struktura bude určena pomocí NMR, rentgenové difrakce, CHN/O analýzy, magnetické susceptibility, MS, IR a UV-spektrometrie. Finální struktury budou odvozeny z kvantově-chemických výpočtů. (Strnad, Doležal)

Vedle rostlinných hormonů jsou růst a vývoj rostlin a jejich odolnost vůči stresům ovlivňovány polyaminy. V rámci studia metabolismu polyaminů budou sledovány aktivity biosyntetických enzymů polyaminů, ornitin- a arginindekarboxylasy, obsahy putrescinu, spermidinu a sperminu a aktivity degradačních enzymů di- a polyaminoxidasy během růstového cyklu buněčné suspensní kultury tabáku BY-2. Metabolismus polyaminů bude zmapován v průběhu buněčného cyklu v synchronní kultuře tabáku BY-2 s využitím inhibitorů různých biosyntetických drah. (Cvikrová, Gemperlová)

Více než ve většině jiných oblastí výzkumu je pokrok ve studiu fytohormonů závislý na zdokonalování analytických metod pro jejich stanovení. Proto budou připravena imunodiagnostika nové generace pro stanovení cytokininů, ale i ostatních fytohormonů, zejména kyseliny abscisové, indolyl-3-octové, jasmonové a brasinosteroidů. Vývoj v této oblasti bude směřovat jednak k získání protilátek s vysokou specifitou pro jednotlivé fytohormony následně použitelné v testech ELISA a pro imunochemickou detekci těchto látek na buněčné úrovni, jednak k přípravě protilátek generických se širokou specifitou pro maximální možné množství metabolitů určité fytohormonální skupiny, aplikovatelných zejména v imunoafinitní chromatografii. (Strnad)

1.1.2 Transport fytohormonů a dalších regulátorů růstu

Transportní mechanismy pro fytohormony (auxiny a cytokininy) a další regulátory růstu (polyaminy) budou studovány na úrovni buněčné (translokace molekul těchto látek přes

buněčné membrány), a to ve vztahu (i) k modulaci hladin těchto látek v buňce a (ii) k řízení základních procesů buněčného vývoje (buněčného cyklu, resp. růstového cyklu a zakládání a udržování buněčné polarity). Výzkum přenašečů auxinu do buňky a z buňky bude zaměřen zejména na (a) mechanismus(my) regulace jejich aktivity, (b) lokalizaci přenašečů a jejich dynamiku, (c) napojení na struktury cytoskeletu a endomembránového systému, (d) mechanismus(my) působení fyto tropinů, tj. inhibitorů přenašečů auxinů z buňky a (e) charakterizaci specifických inhibitorů pro přenašeč(e) auxinů do buňky. Analogickým způsobem bude prováděn výzkum přenašečů pro cytokinininy. Pozornost bude věnována možným interakcím mezi transportem auxinů a cytokininů přes buněčné membrány a významu těchto procesů v regulaci buněčného vývoje (buněčný cyklus, buněčná polarita). Experimentální přístupy k řešení budou zahrnovat transformace rostlinných buněk pomocí vektorů nesoucích geny pro přenašeče auxinů nebo cytokininů, či enzymy podílející se na metabolismu těchto fytohormonů, pod konstitutivními a regulovatelnými promotory a v translační fusi s reportérovými geny pro fluorescenční proteiny (GFP, YFP, dsRed). Dále budou využívány: fluorescenční a konfokální mikroskopie *in vivo*; imunofluorescenční techniky; stanovení kinetických parametrů přenosu auxinů a cytokininů přes buněčné membrány, apod. Všechny experimentální údaje budou vztaženy k regulaci růstového (resp. buněčného) cyklu buněk modelových linií tabáku kultivovaných *in vitro*, jako referenční materiál budou použity kontrolní a mutantní rostliny *A. thaliana*. (Zažímalová, Petrášek, Perry). Na tomtéž experimentálním materiálu bude charakterizována akumulace polyaminů a jejich transport přes plasmatickou membránu ve vztahu k regulaci buněčného a růstového cyklu. (Cvikrová, Zažímalová)

1.1.3 Mechanismus účinku fytohormonů a dalších regulátorů růstu

Jednotlivé hybridy kukuřice se liší tolerancí k hustotě výsevu; míra této tolerance patrně souvisí s velikostí listového úhlu a tudíž se schopností využívat dopadající světlo. Bude tedy charakterizována úloha vazebných proteinů pro auxin (ABPs) v regulaci růstu a listového úhlu u kukuřice a mechanismus regulace ABPs a transportu auxinu světlem. Bude provedena růstová a molekulární analýza s cílem zjistit, zda rozdílný vývoj listového úhlu u moderních a starších hybridů kukuřice a *abp*-mutantů je způsoben rozdílnou expresí genů *ABP* a/nebo množstvím ABPs v pletivu listu. Bude určeno, zda a jak světlo ovlivňuje hladiny ABPs a jak případné změny v jejich hladině regulují růst a listový úhel v klíčnicích rostlinách kukuřice. Bude izolován homolog genu *ATHB2* pro HD-ZIP protein v kukuřici. Tento gen je exprimován v závislosti na změnách v ozáření R/FR i na auxinu a předpokládá se, že produkt tohoto genu propojuje přenos světelného a auxinem neseného signálu. Exprese tohoto genu bude proto ve zmíněných hybridech kukuřice studována v závislosti na světle a na koncentraci auxinu. Bude dokončena fyziologická charakterizace mutantů *abp15* a *abm19* (T-DNA-mutanty *Arabidopsis*), a budou popsány primární změny, které mutace působí v genech *ABP15* a *ABM19*. Budou testovány dvě základní hypotézy: (a) mutanty *abp15* a *abm19* jsou ovlivněny v přenosu světelného signálu, což vede ke změnám v hladině hormonů a v přenosu jejich signálu a tím k odlišnostem v růstu mutantů na světle a ve tmě, (b) mutanty *abp15* a *abm19* jsou primárně ovlivněny v růstu v temnotě, což má za následek i změny v růstu na světle a může vést k odlišné citlivosti k fytohormonům. Dále budou identifikovány a mapovány sekvence *ABP15* a *ABM19* v genomu *Arabidopsis* a bude určeno, zda jde o geny nové či o geny již známé, ale s dosud neznámou funkcí. Budou hledány možné produkty genů *ABP15* a *ABM19* a zkoumána jejich funkce v regulaci růstu a vývoje rostlin *Arabidopsis*. (Fellner)

Řada látek hormonální povahy, vyskytujících se v rostlinách přirozeně či syntetických analogů, ovlivňuje i živočišné buňky. Aby takové látky bylo možno využít např. ve farmacii, musí být dobře známy jejich účinky a mechanismy jejich působení. Proto budou charakterizovány molekulární mechanismy účinku růstových regulátorů rostlinného a syntetického původu v kulturách živočišných buněk, zejména bude testována protinádorová kapacita těchto látek. Budou analyzovány farmakologické vlastnosti těchto derivátů a jejich působení na buněčný cyklus a jeho regulační proteiny. U vybraných vysoce účinných

derivátů bude provedena kokystalizace s vybranými enzymy či receptory a následná rentgenová krystalografická analýza pro určení vazebného modu. Budou analyzovány buněčné a molekulární účinky těchto látek a detailně charakterizovány proteiny (proteomická MS analýza) s vysokou afinitou k těmto ligandům; cílem je odhalit molekulární mechanismy působení těchto látek v buňkách. (*Strnad, Doležal*)

1.1.4 Hormonální regulace některých růstových a vývojových procesů a stresových reakcí

Vysoké koncentrace cytokininů (dané expresí genu *IPT* pod promotorem *Pssu*) působí vznik řady strukturních i funkčních anomálií, jejichž objasnění může přispět k poznání mechanismu působení cytokininů. Budou popsány anomálie v ultrastruktuře buněčných organel (krystalů a kulovitých proteinových útvarů v chloroplastech, periferního retikula a interakce chloroplastů, mitochondrií a peroxisomů) u transgenního tabáku *Pssu-IPT*. Budou využity moderní přístupy elektronmikroskopické analýzy na ultratenkých řezech listů s počítačovou rekonstrukcí trojrozměrné struktury na základě seriových řezů. Krystaly budou izolovány a analyzovány pomocí fluorescenčních spekter, SDS-PAGE, a imunodetekce. Bude pokračovat komplexní studium zahrnující virologické, fyziologické, ultrastrukturní a biochemické aspekty virové infekce transgenního tabáku *Pssu-IPT*. V rámci tohoto projektu bude studována role některých antioxidantních a anaplerotických enzymů, exprese proteinů PR („pathogenesis related“) a hladiny endogenních cytokininů v průběhu virové infekce. (*Synková*)

Hormony často působí ve vzájemné interakci. Působení cytokininů je často protikladné k působení ABA. Při studiu možného antagonistického působení kyseliny abscisové (ABA) a cytokininů při regulaci otevřenosti průduchů a tím výměny plynů v průběhu vodního stresu bude výzkum zaměřen na interakce cytokininů a ABA na úrovni svěracích buněk průduchů a při syntéze ABA indukované vodním stresem. Studium bude probíhat na rostlinách se zvýšeným obsahem ABA v důsledku působení vodního stresu a na transgenních rostlinách s modifikovaným obsahem cytokininů. Bude charakterizována úloha pigmentů xantofylového cyklu v ochraně rostlin proti fotoinhibici a jako prekursorů ABA při působení vodního stresu při nízké a vysoké ozáření, při aplikaci cytokininů nebo u transgenních rostlin se zvýšenou hladinou endogenních cytokininů. Při působení vodního stresu budou sledovány aktivity antioxidantních enzymů a ovlivnění těchto aktivit působením ABA a cytokininů. (*Wilhelmová, Pospíšilová*)

K průkazu funkce jednotlivých hormonů v některém růstovém či vývojovém procesu se s výhodou používají mutanty se změněným obsahem hormonů či citlivostí k nim. Bude provedena genetická analýza mutantu rajčete *7B-1* se změněnou citlivostí a reakcí na ABA, zvýšenou odolností k osmotickému stresu a sníženou schopností reagovat na modré světlo a bude mapován jeho lokus klasickými metodami nebo s pomocí molekulárních markerů. Gen *7B-1* bude klonován a bude provedena jeho funkční analýza. (*Fellner*)

Cytokiny jsou známy svým silným účinkem na oddálení senescence. Navození rostlinné senescence souvisí patrně s reakcemi volných radikálů a jejich produktů. Pro objasnění této teorie budou sledovány hladiny a charakteristiky produktů volných radikálů a aktivity antioxidantního systému (enzymového a nízkomolekulárního). Dále bude studována regulace indukce senescence listu s využitím geneticky manipulovaných rostlin se změněnou koncentrací cytokininů. Budeme také zkoumat změny ve tvorbě etylénu, induktoru senescence, a to ve vztahu k produkci oxidu dusnatého a k nitraci proteinů. (*Wilhelmová*)

Regulace složitých vývojových procesů se účastní více vzájemně interagujících hormonů. K objasnění hormonální regulace je pak třeba poznat změny hladin všech zúčastněných hormonů v průběhu daného procesu. Ve studiu somatické embryogeneze budou využity nové možnosti analýzy endogenních fytohormonů (LC-MS a GC-MS) umožňující detekovat vyšší počet látek (cytokiny) s vyšší citlivostí (IAA, ABA, cytokiny). Distribuce endogenních fytohormonů bude sledována pomocí imunolokalizací (cytokiny, auxiny).

Bude zjištěna role homologu genu *ABI3* (abscisic acid insensitive 3) v embryogenních kulturách smrku, možnosti ovlivnění jeho exprese a možnost jeho užití jako markeru embryogeneze. (Vágner, Fischerová)

1.1.5 Výzkum perspektivní pro praktické využití

Cytokininů prodlužují životnost listů a zvyšují tok asimilátů do zakládajících se obilek. Tento poznatek bude využit při přípravě transgenních rostlin se zvýšeným obsahem cytokininů a zvýšenou produktivitou. Budou připraveny transgenní rostliny s řízenou expresí genů zapojených do biosyntézy a metabolismu cytokininů vhodné pro zvyšování produktivity rostlin. K tomuto účelu budou použity geny kódující enzymy biosyntézy cytokininů (isopentenyltransferasa, *IPT*) a jejich degradaci (cytokininoxidas, *AtCKX3*, v orientaci sense a antisense) pod kontrolou chemicky indukovatelných a vývojově indukovaných promotorů (indukce alkoholem [*P_{alcA}*], respektive nástupem senescence listů [*P_{SAG12}*]). Výsledky získané na modelové rostlině *A. thaliana* budou aplikovány na obiloviny. Cílem práce je zvýšení produktivity rostlin oddálením senescence listů, prodloužením jejich fotosyntetické aktivity a aktivní asimilace dusíku. Rostliny budou transformovány inkubací poutat („floral dipping“) v suspensi transformovaných klonů *Agrobacterium tumefaciens*. (Hoyerová, Kamínek)

V kulturách živočišných tkání je běžně používán hovězí serum albumin (BSA), což není vzhledem k možnému výskytu BSE a nové varianty Creutzfeld-Jacobovy nemoci (nv-CJD) bezpečné. Serum lze nahradit hydrolyzáty některých rostlinných bílkovin. Budou připravena a optimalizována bezpečná bezproteinová média obsahující hydrolyzáty pšeničných bílkovin (směs peptidů) a bude testováno jejich použití pro stacionární a míchané kultury živočišných buněčných linií v biofarmacii. (Strnad, Franěk)

1.2 Přenos signálů

Regulace morfogeneze je často spojena s endomembránovým systémem buňky a transportem materiálu z cytoplasmy k membránám nebo mezi jednotlivými typy membrán. S membránami je propojena i řada signálních systémů. Bude provedena analýza faktorů, které řídí buněčnou morfogenezi rostlin se zaměřením na malé regulační GTP-asy (zvláště typu Rab, Rho a Arf) a s nimi interagující regulační bílkoviny a bílkovinné komplexy. Bude charakterizován rostlinný geranylacilní komplex, který posttranslačně modifikuje GTP-asy typu Rab. Dále budou analyzovány další podjednotky rostlinného komplexu Exocyst (zvláště podjednotka Exo70, která se u rostlin, na rozdíl od ostatních eukaryot, vyskytuje v mnoha isoformách) a komplex bílkovin asociovaných s forminy, které mohou mít velký význam pro dynamiku rostlinného cytoskeletu a jeho koordinaci s pohybem endomembránových kompartmentů. (Žárský, Hála)

Bude charakterizována úloha rostlinných fosfolipas D a kyseliny fosfatidové v řízení metabolismu složek endomembránového systému v rostlinné buňce a jeho interakcí s cytoskeletem. Výzkum bude zaměřen na úlohu PLD jako potenciálního proteinu asociovaného s mikrotubuly (MAP), který reguluje interakci mikrotubulů s plasmalemmou a zároveň zasahuje do dynamiky aktinu. Novou oblastí bude sledování vlivu PLD na membránové kompartmenty – především na Golgiho aparát. Základním experimentálním materiálem budou mutanty *Arabidopsis*, rekombinantní rostlinné bílkoviny budou exprimovány v bakteriích, budou studovány jejich interakce *in vitro* či v kvasinkovém dvouhybridním systému. Protilátky proti těmto bílkovinám budou využity i k jejich imunofluorescenční lokalizaci v buňkách. Paralelně bude využita exprese genů pro tyto proteiny ve fusi s *GFP*. K funkční analýze bude sloužit příprava transgenních rostlin a podrobná analýza fenotypů mutantů (především *Arabidopsis*). (Žárský)

Bude provedena molekulární a biochemická identifikace nového rostlinného enzymu - fosfolipasy C hydrolyzující fosfatidylcholin (PC-PLC) - jakožto potenciální součásti systémů přenášejších signálů u rostlin. Následně bude provedena jeho funkční analýza. Klasickými

postupy molekulární genetiky (klonování homologních sekvencí, exprese a biochemická charakterizace rekombinantního proteinu) bude/ou studován/y protein/y vysoce homologní s bakteriální PC-PLC. Dále budou následovat experimenty sledující vnitrobuněčnou lokalizaci PC-PLC-GFP konstruktů, budou provedeny studie promotoru pomocí GUS konstruktů a funkční analýza proteinu/ů s použitím RNAi. (Martinec)

Poznání mechanismu přenosu signálů je klíčové pro pochopení interakce rostlin s faktory vnějšího prostředí (s faktory fyzikálními, chemickými či s patogeny). Bude popsán mechanismus toxického působení hliníku v rostlinách z hlediska úlohy fosfolipidového-cytoskeletálního signálního systému. Úloha fosfolipas bude studována *in situ* za použití fluorescenčně značených substrátů a specifických inhibitorů jednotlivých fosfolipas. K těmto studiím bude s výhodou použita buněčná kultura tabáku. Interakce fosfolipas s cytoskeletem budou studovány pomocí purifikovaného rostlinného aktinu a tubulinu. Proteiny vázající se na aktin a tubulin rozdílně před a po ošetření ionty hlinitými budou testovány na fosfolipasovou aktivitu a identifikovány pomocí specifických protilátek a hmotové spektrometrie MALDI-TOF. V dalším kroku budou sestrojeny konstrukty takto identifikovaných fosfolipas s GFP a ty následně vizualizovány v *A. thaliana* během stresu způsobeného hlinitými ionty. Přímé interakce protein-protein budou dokázány technologií FRET („fluorescence resonance energy transfer“) s použitím GFP-fusních proteinů. Podobné experimentální přístupy (především měření fosfolipasových aktivit *in situ*) budou použity v experimentech zabývajících se úlohou fosfolipidového signálního systému v biotickém stresu. Budou studovány především obranné mechanismy řepky olejky vůči patogenu *Leptosphaeria maculans*. (Martinec, Burketová)

Budou též charakterizovány obranné mechanismy rostlin proti patogenním činitelům; pozornost bude zaměřena především na možnost jejich indukce syntetickými i přírodními látkami šetřícími životní prostředí ve vztahu k praktickému uplatnění v ochraně polních plodin. Hodnocena bude jak časná odezva rostlin na infekci/induktor (úloha fosfolipas), tak zapojení signálních cest (cyklus kyseliny jasmonové, resp. salicylové) a produkce obranných látek (PR-proteiny) v tomto procesu. (Burketová, Šindelářová)

2. STRUKTURA A FUNKCE GENOMU

2.1 Základy strukturní a funkční genomiky

Izolované chromosomy jsou ideálním materiálem pro studium struktury a funkce genomu; znalost struktury a funkce genomu je základem pro porozumění regulaci růstu a vývoje. Bude popsána struktura a evoluce genomu rostlin u tří skupin rostlin. U banánovníku bude hlavním cílem sestavení detailní cytogenetické mapy a její využití pro objasnění strukturních změn chromosomů doprovázejících evoluci a speciaci v rámci rodu *Musa*. Paralelně s tímto studiem bude charakterizována dynamika změn repetitivních sekvencí v průběhu evoluce kulturních forem. U leguminos budou v ÚEB dříve vypracované metody použity k saturaci genetických map a k fyzickému mapování genomu s cílem usnadnit izolaci agronomicky významných genů. Hlavní směr výzkumu u obilovin bude zaměřen na využití tříděných chromosomů pro cytogenetické mapování s velkou rozlišovací schopností a pro přípravu unikátních chromosomově-specifických knihoven klonovaných ve vektoru BAC. Pomocí klonů izolovaných z těchto knihoven budou vytvářeny fyzické mapy vybraných úseků genomů a (ve spolupráci s dalšími pracovišti) izolovány důležité geny. Budou rovněž ověřeny možnosti využití tříděných chromosomů obilovin pro izolaci kódujících sekvencí, hromadné mapování EST-sekvencí pomocí microarrays a pro mapování *in vitro* metodou „HAPPY mapping“. (Doležel, Šimková, Lysák, Valárik)

Pylová láčka jako jediná, intenzivně rostoucí buňka, je jedním z nejvhodnějších materiálů pro studium transkripce. Regulace translace a transkripce bude popsána v samčím gametofytu tabáku. Bude provedena podrobná analýza dříve popsaných skladovaných částic EPP obsahujících zásobní transkripty *ntp303* a bude charakterizován podíl cytoskeletu na vývojově indukované translační regulaci genové exprese. Současné bioinformatické nástroje a postupy reverzní genetiky budou použity k popisu sítě

transkripčních faktorů podílejících se na regulaci zahájení a správného průběhu gametofytického vývojového programu během vývoje a zrání pylu *Arabidopsis*. (Honyš, Čapková)

Výzkum mechanismů regulace vývoje pylu bude zaměřen na analýzu vlastností a funkce glykoproteinů specifických pro kritické vývojové fáze. Důraz bude kladen na sekvenování, regulaci exprese a na úlohu termostabilních a dehydrinům podobných bílkovin jako potenciálních markerů a genetických zdrojů tolerance k abiotickým stresům. (Hrubá, Tupý)

Budou klonovány nové geny pro proteiny asociované s mikrotubuly a pro proteiny účastníci se procesu organizace mikrotubulů s cílem popsat molekulární mechanismy nukleace a organizace mikrotubulů mimo centrosom, což je jeden z významných a zatím neobjasněných jevů buněčné biologie. (Cenklová, Binarová)

Většina procesů v živých organismech probíhá rytmicky. Studium mechanismů rytmicity je dnes v centru pozornosti. Pomocí real-time RT PCR bude studována exprese genů souvisejících s rytmicitou a kvetením u *Chenopodium rubrum* (zejména genu *CONSTANS*). Bude testován vliv různých světelných režimů a různých fytohormonů a melatoninu na expresi těchto genů v souvislosti s kvetením. Studovány budou i některé *CONSTANS-LIKE* geny exprimované v poupatech. (Štorchová, Kolář, Macháčková)

Jak mutageny ve vnějším prostředí, tak UV záření často vyvolávají poškození DNA. Většina organismů, včetně rostlin, má mechanismy k odstranění tohoto poškození, tzv. reparaci. Budou studovány interakce mezi reparačními drahami u *A. thaliana* pomocí knock-out T-DNA mutantů a celková reparace různých typů poškození DNA mutantů bude analyzována pomocí kometového testu. Bude popsána kinetika reparace a její závislost na buněčném cyklu. Nosným tématem bude indukce adaptace na genotoxický stres a indukce programované buněčné smrti poškozením DNA. Paralelně se studiem reparace u *Arabidopsis* bude studována reparace dvojláknových zlomů DNA u mechu *Physcomitrella patens*, který se ve srovnání s ostatními rostlinami vyznačuje efektivní homologní rekombinací. Cílem tohoto výzkumu je tvorba univerzálního expresního systému žádaných proteinů pomocí cílené integrace („gene targeting“) kódujících sekvencí do genomu. (Angelis)

2.2 Molekulární aspekty rostlinné virologie a fytopatologie

Rostliny by v blízké budoucnosti mohly produkovat řadu farmakologicky významných proteinů. K tomu účelu je však zapotřebí vypracovat spolehlivé systémy transgenózy a optimalizovat expresi vnesených genů. Pomocí zavedeného účinného systému agroinfekce bude testována možnost produkce farmaceuticky významných proteinů jako scFv protilátek, virových proteinů uvažovaných pro vakcinace a dalších. Ve spolupráci se specializovanými pracovišti budou ověřeny jejich imunologické vlastnosti. Rovněž tak budou využity dosavadní zkušenosti s produkcí obalových proteinů lidského papilloma viru pro ověření možnosti využití pseudovirionů pro cílení příslušných sekvencí do rostlinného genomu (též pro přípravu DNA-vakcín). Jednotlivé kroky ve vývoji „požitelné vakcíny“ budou testovány expresí ověřených sekvencí v požitelných tkáních transgenních rostlin. Důraz bude kladen jak na výtěžek, tak na stabilitu a možnosti skladování a disperze produkovaného proteinu v dané tkáni. Kromě specializace na produkci v rajčatech budou hledány a testovány další rostliny vhodné ke konzumaci. (Angelis)

Poznání mechanismů interakce virů s rostlinou může napomoci k účinné obraně proti virům, které poškozují řadu hospodářských plodin. Molekulárně-biologické vlastnosti rostlinných virů budou charakterizovány na základě kompletních nukleotidových a aminokyselinových sekvencí vybraných izolátů, provedené predikce 3D-struktury, fylogenetické analýzy, studia interakcí protein-protein a protein-RNA. Budou připraveny a dále využity protilátky proti nestrukturním virovým proteinům. Získané údaje povedou k detailnímu poznání životního cyklu viru a k vypracování jednoduchých spolehlivých detekčních a klasifikačních metod. (Čeřovská, Moravec)

Bude provedena analýza proteinů a genomu ras houby *Venturia inaequalis* a odrůd jableň rezistentních k tomuto patogenu se zaměřením na objasňování mechanismů interakcí houby s hostitelem a na identifikaci molekulárních markerů kvalitativních a kvantitativních rezistencí k rostlinnému patogenu. Tyto markery budou využity při dalším šlechtění. (Juříček, Juříčková, Tupý)

2.3 Příspěvek k organizaci mezinárodní vědecké aktivity při výzkumu *Arabidopsis thaliana*

Po dokončení sekvenování genomu *Arabidopsis* v r. 2000 skupinou „*Arabidopsis* Genome Initiative“ vypracovala mezinárodní vědecká komunita dlouhodobý projekt „Coordinated *Arabidopsis thaliana* Functional Genomics Project“. Cílem tohoto projektu je plné porozumění biologii kvetoucí rostliny *Arabidopsis thaliana*, která slouží jako modelová rostlina. Tohoto projektu se zatím účastní výzkumníci ze 14 zemí celého světa a ke koordinaci projektu byl založen výbor „Multinational *Arabidopsis* Steering Committee“ (MASC). V tomto projektu ani ve výboru nejsou dosud zapojeny země bývalé východní a střední Evropy. Na základě korespondence s Dr. Rebekou Joy, koordinátorkou MASC, byl Dr. Fellnerem iniciován projekt nazvaný „Eastern Europe *Arabidopsis* Community“ (EEAC). Cílem tohoto projektu je zapojit východoevropské země do mezinárodních aktivit výzkumu *Arabidopsis* a do výše zmíněného projektu (*Arabidopsis* Functional Genomics Project). (Fellner)

2.4 Výzkum perspektivní pro praktické využití

Některé aspekty prakticky zaměřeného výzkumu byly již podrobněji zmíněny výše. Zahnují:

- produkci farmaceuticky významných proteinů (scFv protilátky, virové proteiny pro vakcinace a další, poživatelné vakcíny),
- expresi ověřených sekvencí v poživatelných tkáních transgenních rostlin (kromě produkčních rajčat budou hledány další vhodné rostliny),
- rozpracování systému pseudovirionů lidského papilloma viru pro orální aplikace DNA-vakcín
- zavedení a rozpracování systému produkce farmaceuticky významných proteinů v kapalné kultuře mechu *Physcomitrella patens* (tento záměr je biotechnologickým rozvedením možnosti snadné cílené modifikace genomu mechu pomocí homologní rekombinace studované v rámci výzkumu reparace DNA u rostlin).

Budou posouzeny možnosti využití modifikovaných rostlinných virových vektorů k přípravě terapeuticky účinných látek (užití supresorů "posttranscriptional gene silencing" k optimalizaci exprese rekombinantních proteinů v rostlinách). (Angelis)

Jedním z vážných ekologických problémů je výskyt těžkých kovů a jejich škodlivé účinky na živé organismy. Budou tedy analyzovány genotoxické účinky těžkých kovů, znečišťující půdu v oblasti severních Čech a genotoxické účinky vedlejších produktů, vznikající při desinfekci vody po aplikaci chloru a chloraminu. Pro studium těchto účinků budou použity kometový test a difusní-DNA-test pro zjištění poškození DNA a apoptosu, test pro hodnocení frekvence somatických mutací, a homologní rekombinační test na tabáku (*Nicotiana tabacum* var. Xanthi). Pro pokusy *in situ* na kontaminované půdě budou použity rostliny bramboru. (Stavreva, Gichner)

Transgenozí lze rostlinám dodat potřebné vlastnosti, ať se již jedná o rezistenci vůči hmyzu či herbicidům nebo o kvalitativní či kvantitativní znaky. Budou připraveny transgenní rostliny bramboru za účelem vylepšení hospodářských vlastností: (a) vnesením upraveného genu pro fosfofruktokinasy z *Lactobacillus bifidus* (*LbPFK*) (přízpůsobení translačnímu aparátu rostliny) pomocí vektorů bez selekčního markeru rezistence k antibiotikům do vybraných odrůd bramboru, (b) přípravou transgenních brambor s vneseným genem „silk proteinase

inhibitor“ z *Galleria mellonella* (ochrana rostlin proti mikroorganismům). (Navrátil)

Dále bude rozvíjena a optimalizována technika transgenoze realizovaná mikroprojektilovým vnášením (nastřelováním) transgenů. V potomstvech transgenních rostlin bude sledována exprese a penetrance vnesených genů. Analýzy budou paralelně probíhat na molekulární úrovni a na úrovni fenotypového projevu u haploidních, dihaploidních, polyhaploidních a diploidních populací. (Ohnoutková)

Proces šlechtění rostlin vyžaduje kvalitní a homogenní výchozí materiál. K tomuto účelu je velmi vhodný materiál získaný androgenézí *in vitro*. Budou charakterizovány klíčové faktory indukující a ovlivňující sporofytický vývoj samčích gamet - androgenézi *in vitro* – u semenných rostlin. Studována bude i schopnost androgenního vývoje mikrospor s odlišnými pohlavními chromosomy u dvoudomých rostlin s heterogametickým samčím pohlavím. Nadále bude rozpracovávána metoda *in vitro* získávání haploidních, dihaploidních a polyhaploidních rostlin v rodu *Solanum* s cílem umožnit hybridizaci mezi planými diploidními druhy nesoucími geny rezistence a tetraploidními kulturními klony brambor. Indukovanou androgenézí *in vitro* bude realizována izogenizace u vybraných materiálů z *Triticale* s potřebnými genovými (chromosomovými) translokacemi. Ve spolupráci se zainteresovanými pracovišti aplikovaného výzkumu a šlechtitelskými stanicemi budou získány dihaploidní linie u perspektivních materiálů ječmene a pšenice. (Ohnoutková)

Bude pokračovat dlouhodobý program šlechtění, pokročilého testování, právní ochrany a komercializace odrůd jabloně rezistentních k houbovým chorobám a s nízkými nároky na chemickou ochranu, a tudíž vhodných pro ekologické ovocnářství. Plán zahrnuje i šlechtění odrůd se sloupovitým, kompaktním charakterem růstu odvozeným od mutace McIntosh Wijcik. Záměrem programu je zlepšování pěstitelských vlastností a tržní kvality plodů a trvalejší rezistence ke strupovitosti na základě kombinace rezistence podmíněné genem V_f odvozeným z *Malus floribunda* s polygenní tolerancí námi vyselektovaných genetických zdrojů. Genetický základ rezistence vybraných hybridů bude charakterizován pomocí molekulárních markerů. (Tupý, Juříček)

D4. Seznam nejvýznamnějších uplatněných výsledků výzkumu a vývoje členů řešitelského týmu, které se vztahují k problematice výzkumného záměru za období 1999-2003

SEZNAM PUBLIKACÍ ÚEB ZA ROKY 1999-2003:

1999:

IMPAKTOVANÉ ČASOPISY:

č.	citace	IF 1999
1	Angelis K.J., Dušínská M., Collins A.R.: Single cell gel electrophoresis: Detection of DNA damage at different levels of sensitivity. <i>Electrophoresis</i> 20: 2133-2138, 1999.	3.447
2	Angelis K.J., McGuffie M., Menke M., Schubert I.: Studies of DNA repair in various plants using the comet assay. <i>Neoplasma</i> 46: 72-73, 1999.	0.448
3	Auer C. A., Motyka V., Březinová A., Kamínek M.: Endogenous cytokinin accumulation and cytokinin oxidase activity during shoot organogenesis of <i>Petunia hybrida</i> . <i>Physiol. Plant.</i> 105: 141-147, 1999.	2.460
4	Bavrina T.V., Lozhnikova V.N., Macháčková I., Gryanko T.I.: Tobacco transformants to study the role of phytohormones in flowering and seed formation. <i>Russ. J. Plant Physiol.</i> 46: 189-193, 1999.	0.094
5	Benková E., Witters E., Van Dongen W., Kolář J., Motyka V., Brzobohatý B., Van Onckelen H.A., Macháčková I.: Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts: occurrence and changes due to light/dark treatment. <i>Plant Physiol.</i> 121: 245-251, 1999.	4.434
6	Bílková J., Albrechtová J., Opatrná J.: Histochemical detection and image analysis of nonspecific esterase activity and the amount of polyphenols during annual buds development in Norway spruce. <i>J. Exp. Bot.</i> 336: 1129-1138, 1999.	2.482
7	Blažková J., Krekule J., Macháčková I., Procházka S.: Auxin and cytokinins in the release of apical dominance in pea – a differential response due to bud position. <i>J. Plant Physiol.</i> 154: 691-696, 1999.	1.143
8	Bögre L., Calderini O., Binarová P., Mattauch M., Till S., Kiegerl S., Jonak C., Pollaschek C., Barker P., Huskisson N.S., Hirt H., Heberle-Bors E.: A MAP kinase is activated late in mitosis and becomes localized to the plane of cell division. <i>Plant Cell</i> 11: 101-113, 1999.	10.463
9	Burketová L., Šindelářová M., Ryšánek P., Šindelář L.: Changes in ribonuclease and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities induced by beet necrotic yellow vein virus in sugar beet. <i>Biol. Plant.</i> 42: 423 – 430, 1999.	0.414
10	Burketová L., Šindelářová M., Šindelář L.: Benzothiadiazole as an inducer of β -1,3-glucanase and chitinase isozymes in sugar beet. <i>Biol. Plant.</i> 42: 279-287, 1999.	0.414
11	Cvikrová M., Binarová P., Cenklová V., Eder J., Macháčková I.: Reinitiation of cell division and polyamine and aromatic monoamine levels in alfalfa explants during the induction of somatic embryogenesis.	2.460

	<i>Physiol. Plant.</i> 105: 330-337, 1999.	
12	Cvikrová M., Binarová P., Eder J., Vágner M., Hrubcová M., Zoň J., Macháčková I.: Effect of inhibition of phenylalanine ammonia lyase activity on growth of alfalfa cell suspension culture: Alterations in mitotic index, ethylene production, and contents of phenolics, cytokinins, and polyamines. <i>Physiol. Plant.</i> 107: 329-337, 1999.	2.460
13	Cvrčková F., Žárský V.: Ntrop1, a tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i>) cDNA encoding a Rho subfamily GTPase expressed in pollen (accession No AJ222545) (PGR 99-079). <i>Plant Physiol.</i> 120: 633, 1999.	4.434
14	Čeřovská N., Moravec T., Filigarová M., Ryšlavá H., Grosclaude J.: Partial antigen characterization of different potato virus Y-NTN isolates with monoclonal antibodies by means of competitive binding tests and immunoblotanalysis. <i>Acta Virologica</i> 43: 391-393, 1999.	0.476
15	Dewitte W., Chiappetta A., Azmi A., Witters E., Strnad M., Rembur J., Noin M., Chriqui D., Van Onckelen H.: Dynamics of cytokinins in apical shoot meristems of a day neutral tobacco during floral transition and flower formation. <i>Plant Physiol.</i> 119: 111-122, 1999.	4.434
16	Dršata J., Netopilová M., Tolman V.: Stereoisomers of 4-fluoroglutamic acid: influence on <i>Escherichia coli</i> glutamate decarboxylase. <i>Pharmazie</i> 54: 713-714, 1999.	0.446
17	Ehrenbergová L., Vaculová K., Zimolka J., Müllerová E.: Výnosové znaky a jejich vztahy k jakostním ukazatelům zrna bezpluchého ječmene jarního. <i>Rostl. Výr.</i> 45: 53-59, 1999.	0.192
18	Ephritikhine G., Fellner M., Vannini C., Lapous D., Barbier-Brygoo H.: The sax1 dwarf mutant of <i>Arabidopsis thaliana</i> shows altered sensitivity of growth responses to abscisic acid, auxin, gibberellins and ethylene and its partially rescued by exogenous brassinosteroid. <i>Plant J.</i> 18: 303-314, 1999.	5.098
19	Fujikura Y., Doležel J., Čihalíková J., Bögre L., Binarová P.: <i>Vicia faba</i> germination: Synchronized cell growth and localization of nucleolin and alpha-tubulin. <i>Seed Sci. Res.</i> 9: 297-305, 1999.	0.942
20	Gichner T., Ptáček O., Stavreva D.A., Plewa M.J.: Comparison of DNA damage in plants as measured by single cell gell electrophoresis and somatic leaf mutation induced by monofunctional alkylating agents. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 33: 279-286, 1999.	1.998
21	Gichner T., Velemínský J.: Monitoring the genotoxicity of soil extracts from two heavily polluted sites in Prague using the <i>Tradescantia</i> stamen hair and micronucleus (MNC) assays. <i>Mut. Res.</i> 426: 163-166, 1999.	2.107
22	Haisel D., Pospíšilová J., Synková H., Čatský J., Wilhelmová N., Plzánková Š.: Photosynthetic pigments and gas exchange of <i>in vitro</i> grown tobacco plants as affected by CO ₂ supply. <i>Biol. Plant.</i> 42: 463-468, 1999.	0.414
23	Hrubá P., Tupý J.: N-glycoproteins specific for different stages of microspore and pollen development in tobacco. <i>Plant Sci.</i> 141: 29-40, 1999.	1.015
24	Jansa J., Gryndler M., Matucha M.: Comparison of the lipid profiles of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and soil saprophytic fungi. <i>Symbiosis</i> 26: 247-264, 1999.	0.766

25	Lebeda A., Křístková E., Doležal K.: Peroxidase isozyme polymorphism in <i>Cucurbita pepo</i> cultivars with various morphotypes and different level of field resistance to powdery mildew. <i>Scientia Horticulturae</i> 81: 103-112, 1999.	0.347
26	Lysák M.A., Doleželová M., Horry J.P., Swennen R., Doležel J.: Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in <i>Musa</i> . <i>Theor. Appl. Genet.</i> 98: 1344-1350, 1999.	2.082
27	Lysák M.A., Číhalíková J., Kubaláková M., Šimková H., Künzel G., Doležel J.: Flow karyotyping and sorting of mitotic chromosomes of barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.). <i>Chrom. Res.</i> 7: 431-444, 1999.	1.576
28	Nouzová M., Kubaláková M., Doleželová M., Koblížková A., Doležel J., Macas J.: Cloning and characterisation of new repetitive sequences in field bean (<i>Vicia faba</i> L.). <i>Ann. Bot.</i> 83: 535-541, 1999.	1.326
29	Palomino G., Doležel J., Cid R., Brunner I., Mendez I., Rubluo A.: Nuclear genome stability of <i>Mammillaria san-angelensis</i> (Cactaceae) regenerants induced by auxins in long-term <i>in vitro</i> culture. <i>Plant Sci.</i> 141: 191-200, 1999.	1.015
30	Pospíšilová J., Čatský J.: Development of water stress under increased atmospheric CO ₂ concentration. <i>Biol. Plant.</i> 42: 1-24, 1999.	0.414
31	Pospíšilová J., Synková H., Haisel D., Čatský J., Wilhelmová N., Šrámek F.: Effect of elevated CO ₂ concentration on acclimation of tobacco plantlets to <i>ex vitro</i> conditions. <i>J. Exp. Bot.</i> 50: 330: 119-126, 1999.	2.482
32	Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plizáková Š.: Acclimatization of micropropagated plants to <i>ex vitro</i> conditions. <i>Biol. Plant.</i> 42: 481-497, 1999.	0.414
33	Rupp H.-M., Frank M., Werner T., Strnad M., Schmölling T.: Increased steady state mRNA levels of the STM and KNAT1 homeobox genes in cytokinin overproducing <i>Arabidopsis thaliana</i> indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem. <i>Plant J.</i> 18: 557-563, 1999.	5.098
34	Říhová L., Tupý J.: Manipulation of division symmetry and developmental fate in cultures of potato microspores. <i>Plant Cell Tiss. Org. Cult.</i> 59: 135-145, 1999.	0.498
35	Stavreva D.A., Strnad M., Havlíček L., Gichner T.: SCGE analysis of genomic damage induced in cultured tobacco suspension cells by three purine analogues – olomoucine, bohemine and roscovitine and by hydrogen peroxide, and ethyl methanesulfonate. <i>Neoplasma</i> 46: 92-93, 1999.	0.448
36	Svobodová H., Albrechtová J., Kumstýřová L., Lipavská H., Vágner M., Vondráková Z.: Somatic embryogenesis in Norway spruce: Anatomical study of embryo development and influence of polyethylene glycol on maturation process. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 37(3): 209-221, 1999.	1.347
37	Synková H., Van Loven K., Pospíšilová J., Valcke R.: Photosynthesis of transgenic <i>Pssu-ipt</i> tobacco. <i>J. Plant Physiol.</i> 155: 173-182, 1999.	1.143
38	Šesták Z., Čatský J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis. 81. <i>Photosynthetica</i> 36: 291-319, 1999.	0.734
39	Šesták Z., Čatský J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis. 82.	0.734

	<i>Photosynthetica</i> 37: 131-160, 1999.	
40	Šindelář L., Šindelářová M., Burketová L.: Changes in activity of glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenase isozymes upon potato virus Y infection in tobacco leaf tissues and palisade parenchyma protoplasts. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 37: 195-201, 1999.	1.347
41	Šindelářová M., Šindelář L., Burketová L.: Changes in glucose, fructose and saccharose metabolism in tobacco plants infected with potato virus Y. <i>Biol. Plant.</i> 42: 431-439, 1999.	0.414
42	Tolman V., Hanuš J., Sedmera P.: A hetero diels-alder access to (Z)-zeatin and (Z)-isozzeatin. <i>Collect. Czech. Chem. Commun.</i> 64: 696-702, 1999.	0.717
43	Vaněk T., Valterová I., Vaňková R., Vaisar T.: Biotransformation of (-)limonene using <i>Solanum aviculare</i> and <i>Dioscorea deltoidea</i> immobilized plant cells. <i>Biotechnol. Lett.</i> 21: 625-628, 1999.	0.916
44	Vondráková Z., Krekule J.: The role of hypocotyl and roots in photoperiodic floral induction of <i>Chenopodium rubrum</i> . <i>Plant Biol.</i> 1: 96-98, 1999.	1.215
45	Witters E., Vanhoutte K., Dewitte W., Macháčková I., Benková E., Van Dongen W., Esmans E.L., Van Onckelen H.A.: Analysis of cyclic nucleotides and cytokinins in minute plant samples using phase system switching capillary ion spray-LC-MSMS. <i>Phytochem. Anal.</i> 10: 143-148, 1999.	0.798
46	Zonia L., Tupý J., Staiger C.J.: Unique actin and microtubule arrays co-ordinate the differentiation of microspores to mature pollen of <i>Nicotiana tabacum</i> . <i>J. Exp. Bot.</i> 50: 581-594, 1999.	2.520

OSTATNÍ:

47	Bögre L., Calderini O., Meskiene I., Binarová P.: Regulation of cell division and cytoskeleton by mitogen-activated protein kinases in higher plants. In : Results and Problems in Cell Differentiation, vol. 27, Hirt H. (ed.): MAP Kinases in plant signal transduction Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 95-117, 1999.	-
48	Bögre L., Ligterink W., Meskiene I., Binarová P.: Mitogen-activated protein kinases in plant signal transduction: are they mitogenic? In: Strnad M., Peč P., Beck E., (eds.): Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Prague, pp. 169-181, 1999.	-
49	Cvikrová M., Hrubcová M.: The role of phenolic substances in the processes of differentiation and morphogenesis. In: Strnad M., Peč P., Beck E., (eds.): Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Prague, pp. 213-220, 1999.	-
50	Doležel J., Číhalíková J., Weiserová J., Lucretti S.: Cell cycle synchronization in plant root meristems. <i>Methods Cell Sci.</i> 21: 95-107, 1999.	-
51	Doležel J., Macas J., Lucretti S.: Flow analysis and sorting of plant chromosomes In: Robinson J.P., Darzynkiewicz Z., Dean P.N., Dressler L.G., Rabinovitch P.S., Stewart C.C., Tanke H.J., Wheelless L.L. (eds.): Current Protocols in Cytometry, pp. 5.3.1 – 5.3.33, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1999.	-
52	Fellner M.: Research of mechanisms of auxin action: isolation and characterization. In: Advances in Regulation of Plant Growth and Development. Strnad M., Peč P., Beck E. (eds.), Peres Publ., Prague, pp. 139-156, 1999.	-

53	Fowke L.C., Attree S., Binarová P.: Light and electron microscopic studies of somatic embryogenesis in spruce. In: Morphogenesis in Plant Tissue Cultures, Soh W.-Y., Bhojwani S.S., (eds.), Kluwer Acad Publ., pp. 95-114, 1999.	-
54	Galuszka P., Frébort I., Šebela M., Strnad M., Peč P.: Cytokinin oxidase: the key enzyme in the biodegradation of cytokinins. In: Advances in Regulation of Plant Growth and Development. Strnad M., Peč P., Beck E. (eds.), Peres Publ., Prague, 1999.	-
55	Gaudinová A.: Effects of phytohormones on nitrate reductase. In: Strnad M., Peč P., Beck E., (eds.): Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Prague, pp. 59-66, 1999.	-
56	Hajdúch M., Havlíček L., Vesley J., Novotný R., Mihál V., Strnad M.: Synthetic cyclin dependent kinase inhibitors – New generation of potent anti-cancer drugs. Drug resistance in leukemia and lymphoma III, vol. 457, pp. 341-353, 1999.	-
57	Hrubá P.: Expres genů během mikrosporogenese a vývoje pylu. <i>Biol. listy</i> 64: 201-214, 1999.	-
58	Kolář J., Johnson C.H., Macháčková I.: Presence and possible role of melatonin in short-day flowering plant, <i>Chenopodium rubrum</i> . <i>Adv. Exp. Med. Biol.</i> 460: 391-393, 1999.	-
59	Kolářová H., Kotala L., Strnad M., Bancířová M., Lasovský J.: Fluorescenční metody studia buněčného poškození. <i>Sborník lékařský</i> 99: 437-442, 1999.	-
60	Kolářová H., Kubínek R., Lenobel R., Bancířová M., Strnad M., Jírová D., Lasovský J.: <i>In vitro</i> photodynamic therapy with phthalocyanines on the MCF7 cancer cells. <i>Internet J. Photochem. Photobiol.</i> http://www.photobiology.com/photobiology99/contrib/kolarova/index.htm . 1999.	-
61	Kong L., Attree S.M., Eveans D.E., Binarová P., Yeung E.C. Fowke L.C.: Somatic embryogenesis in white spruce: Studies of embryo development and cell biology. In: Jain S.M., Gupta P.K., Newton R.J. (eds.) Somatic embryogenesis of Woody plants, vol. 4, Kluwer Acad Publ., pp. 1-28, 1999.	-
62	Lebeda A., Doležalová I., Křístková E., Vinter V., Vránová O., Doležal K., Tarkowski P., Petrželová I., Trávníček B., Novotný R., Janeček J.: Complex research of taxonomy and ecobiology of wild <i>Lactuca</i> spp. genetic resources. In: Lebeda A., Křístková E. (eds.): Eucarpia Leafy Vegetables '99, UP Olomouc, pp. 117-131, 1999.	-
63	Lebeda A., Kubaláková M., Křístková E., Navrátilová B., Doležal K., Doležal J., Lysák M.: Morphological and physiological characteristics of plants issued from an interspecific hybridization of <i>Cucumis sativus</i> x <i>Cucumis melo</i> . In: Abak K., Büyükalaca S. (eds.) Proc. First Int. Symp. on Cucurbits, <i>Acta Hort.</i> 492: 149-155, 1999.	-
64	Lucretti S., Gualberti G., Nardi L., Trionfetti Nisini P., Doležal J.: Ploidy analysis and chromosome sorting in plant species. In: Starace G. (ed.): Manuale GIC „Citometria a Flusso“. pp. 445-473, GIC Gruppo Italiano di Citometria, Roma, 1999.	-
65	Lucretti S., Nardi L., Trionfetti P., Moretti F., Gualberti G., Doležal J.: Bivariate flow cytometry DNA/BrdU analysis of plant cell cycle. <i>Methods Cell Sci.</i> 21: 155-166, 1999.	-
66	Macháčková I., Kolář J.: Photoperiodism, rhythmicity and melatonin – comparison of animals and plants. In: Frontiers in Plant Physiology, Strnad M., Peč P., Beck E. (eds.), Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Praha, pp.131-138, 1999.	-

67	Macháčková I.: Exogenous and endogenous hormones in the regulation of morphogenesis <i>in vitro</i> . 3 rd Symposium „Recent Advances in Plant Biotechnology“, Stará Lesná, Slovak Rep., p. 9-12, 1999.	-
68	Malá J., Cvrčková H., Březinová A., Hrubcová M., Eder J., Vágner M., Cvikrová M.: Biochemical characteristics of oak somatic embryos. In: Applications of Biotechnology to Forest Genetics, Vitoria –Gasteiz 22-25 September 1999, Spain, pp 56-58, 1999.	-
69	Matucha M., Uhlířová H.: Sekundární atmosférické polutanty a zdravotní stav lesa: cesta, příjem a osud kyseliny trichloroctové ve smrku ztepilém (<i>Picea abies</i> /L./ Karst). Ovězuší '99, Brno, 7.-10.2.1999, Sborník Konf. Recetox Brno, pp.86-90, 1999.	-
70	Novotný J., Vagera J., Ohnoutková L.: Iron as a key factor in andogenesis in cereals. Proc. Nové poznatky z genetiky a šlechtění polnohospodářských rostlin. VÚRV Piešťany, pp. 33-36, 1999.	-
71	Pospíšilová J., Čatský J.: Effect of increased atmospheric CO ₂ concentration on water use efficiency of plants. In: Pessarakli M. (ed.): Handbook of Plant and Crop Stress: Second Edition. Marcel Dekker, New York - Basel - Hong Kong, pp. 1163-1184, 1999.	-
72	Schoofs H., Panis B., Strosse H., Mayo Mosqueda A., Lopez Torres J., Roux N., Doležel J., Swennen R.: Bottlenecks in the generation and maintenance of morphogenic banana cell suspensions and plant regeneration via somatic embryogenesis therefrom. <i>Infomusa</i> 8: 3-7, 1999.	-
73	Strnad M., Kryštof V., Havlíček L.: Control of Tumour Development in Plants and Animals: A Comparative Treatise. In: Advances in Regulation of Plant Growth and Development. Strnad M., Peč P., Beck E. (eds.), Peres Publ., Prague, 1999.	-
74	Šesták Z.: Chlorophyll fluorescence kinetics depends on age of leaves and plants. In: Argyroudi-Akoyunoglou J., Senger H., (eds.): The Chloroplast: From Molecular Biology to Biotechnology. Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, pp. 291-296, 1999.	-
75	Šesták Z.: Vědecká komunikace. Jak psát a přednášet o vědě. Academia, Praha, 205 p., 1999.	-
76	Vágner M., Vondráková Z., Špačková J., Cvikrová M., Eder J., Lipavská H., Albrechtová J., Svobodová H., Macháčková I.: Norway spruce somatic embryogenesis: endogenous levels of phytohormones during somatic embryo development. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, vol. 36: Plant Biotechnology and In Vitro Biology in the 21 st Century – Proc. IX th Int. Congress Int. Assoc. Plant Tissue Cult. Biotechnol., Jerusalem, Israel, 14-19 June 1998, Altman A., Ziv M., Izhar S. (eds.), Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, Boston, London, pp. 93-96, 1999.	-
77	Vaňková R.: Cytokinin glycoconjugates – distribution, metabolism and function. In: Strnad M., Peč P., Beck E., (eds.): Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Prague, pp. 67-78, 1999.	-
78	Zažímalová E., Březinová A., Motyka V., Kamínek M.: Control of cytokinin biosynthesis and metabolism. In Hooykaas P., Hall M.A., Libbenga K.R., (eds.): Biochemistry and Molecular Biology of Plant Hormones, Ser. New comprehensive biochemistry, vol. 33, Elsevier, pp. 141-160, 1999.	-
79	Žárský V., Cvrčková F.: Small GTPases in plant cell morphogenesis. In: Strnad M., Peč P., Beck E., (eds.): Advances in Regulation of Plant Development, Peres Publications, Prague, 1999.	-

2000:

IMPAKTOVANÉ ČASOPISY:

č.	<i>citace</i>	<i>IF 2000</i>
80	Angelis K.J., McGuffie M., Menke M., Schubert I.: Adaptation to alkylation damage in DNA measured by the comet assay. <i>Environ. Mol. Mutag.</i> 36(2): 146-150, 2000.	2.278
81	Astot C., Doležal K., Moritz T., Sandberg G.: Deuterium <i>in vivo</i> labelling of cytokinins in <i>Arabidopsis thaliana</i> analysed by capillary liquid chromatography/frit-fast atom bombardment mass spectrometry. <i>J. Mass Spectrom.</i> 35(1): 13-22, 2000.	2.638
82	Astot C., Doležal K., Nordström A., Wang Q., Kunkel T., Moritz T., Chua N., Sandberg G.: An alternative cytokinin biosynthesis pathway. <i>Proc Natl. Acad. Sci. USA</i> 97: 14778-14783, 2000.	10.789
83	Bálint-Kurti P.J., Clendennen S.K., Doleželová M., Valárik M., Doležel J., Beetham P.R., May G.D.: Identification and chromosomal localization of the monkey retrotransposon in <i>Musa</i> sp. <i>Mol. Gen. Genet.</i> 263(6): 908-915, 2000.	2.462
84	Barták P., Pěchová D., Tarkowski P., Bednář P., Kotouček M., Stránský Z., Vespalec R.: Determination of the first dissociation constant of 6-benzylaminopurine - A comparison of methods <i>Anal. Chim. Acta</i> 421(2), 221-229, 2000.	1.849
85	Binarová P., Cenklová V., Hause B., Kubátová E., Lysák M., Doležel J., Bögre L., Dráber P.: Nuclear gamma-tubulin during acentriolar plant mitosis. <i>Plant Cell</i> 12(3): 433-442, 2000.	11.093
86	Blažková A., Vondráková Z., Krekule J.: The shoot apex as a marker of the responsiveness to photoperiodic treatment inducing flowering of <i>Chenopodium rubrum</i> L. <i>Biol. Plant.</i> 43(1): 31-34, 2000.	0.424
87	Dršata J., Netopilová M., Tolman V.: Influence of stereoisomers of 4-fluoroglutamate on rat brain glutamate decarboxylase. <i>J. Enzyme Inhib.</i> 15(3): 273-282, 2000.	1.733
88	Franěk F., Hohenwarter O., Katinger H.: Plant protein hydrolysates: Preparation of defined peptide fractions promoting growth and production in animal cells cultures. <i>Biotechnol. Progress</i> 16(5): 688-692, 2000.	1.897
89	Frank M., Rupp H.M., Prinsen E., Motyka V., Van Onckelen H., Schmulling T.: Hormone autotrophic growth and differentiation identifies mutant lines of <i>Arabidopsis</i> with altered cytokinin and auxin content or signaling. <i>Plant Physiol.</i> 122(3): 721-729, 2000.	4.831
90	Gichner T., Menke M., Stavreva D.A., Schubert I.: Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans. <i>Mutagenesis</i> 15(5): 385-389, 2000.	2.226
91	Gichner T., Ptáček O., Stavreva D.A., Wagner E.D., Plewa M.J.: A comparison of DNA repair using the comet assay in tobacco seedlings after exposure to alkylating agents or ionizing radiation. <i>Mut. Res.</i> 470(1): 1-9, 2000.	1.506

92	Grospietsch M., Lipavská H., Opatrná J.: Effect of paclobutrazol on soluble sugars and starch content of <i>de novo</i> regenerating potato stem explants. <i>Biol. Plant.</i> 43(1): 137-139, 2000.	0.424
93	Hanuš J., Siglerová V., Matucha M.: N-6-alkyladenosines and adenines labelled with tritium <i>J. Label. Comp. Radiopharm.</i> 43(5): 523-531, 2000.	0.756
94	Havličková H., Cvikrová M., Eder J.: Polyamine accumulation in ears of winter wheat cultivars infested by <i>Sitobion avenae</i> (F.). <i>Z. PflKrankh. PflSchutz.</i> 107: 505-513, 2000.	0.526
95	Honys D., Combe J.P., Twell D., Čapková V.: The translationally repressed pollen-specific ntp303 mRNA is stored in non-polysomal mRNPs during pollen maturation. <i>Sex. Plant Reprod.</i> 13(3): 135-144, 2000.	2.260
96	Honys D., Čapková V.: Temporal changes in the RNA distribution between polysomes and postpolysomal ribonucleoprotein particles in tobacco male gametophyte. <i>Biol. Plant.</i> 43(4): 517-522, 2000.	0.424
97	Hrubcová M., Cvikrová M., Eder J., Zon J., Macháčková I.: Effect of inhibition of phenylpropanoid biosynthesis on peroxidase and IAA-oxidase activities and auxin content in alfalfa suspension cultures. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 38(12): 949-956, 2000.	1.262
98	Hušková R., Pěchová D., Kotouček M., Lemr K., Doležal K.: Voltametrické chování a stanovení některých cytokininů na rtuťové elektrodě. <i>Chem. Listy</i> 94, 1004-1009 (2000).	0.278
99	Janas K.M., Cvikrová M., Palagiewicz A., Eder J.: Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 38(7-8): 587-593, 2000.	1.262
100	Kamínek M., Březinová A., Gaudinová A., Motyka V., Vaňková R., Zažímalová E.: Purine cytokinins: a proposal of abbreviations. <i>Plant Growth Regul.</i> 32: 253-256, 2000.	0.837
101	Klemš M., Balla J., Macháčková I., Eder J., Procházka S.: The uptake and metabolism of A-3-benzylaminopurine in tobacco (<i>Nicotiana tabacum</i> L.) and cucumber (<i>Cucumis sativus</i> L.) explants. <i>Plant Growth Regul.</i> 31(3): 135-142, 2000.	0.837
102	Kohout L., Choudounská H., Macek T., Strnad M.: On steroids part CDX - Synthesis of (20S)-2 alpha,3 alpha-dihydroxy-6-oxo-7-oxa-7a-homo-5 alpha-pregnane-20-carboxylic acid as a brassinosteroid part of ligand for binding to affinity chromatography carriers. <i>Coll. Czech. Chem. Comm.</i> 65(11): 1754-1761, 2000.	0.960
103	Kovářová H., Hajdúch M., Kořínková G., Halada P., Krupičková S., Gouldsworthy A., Zhelev A., Strnad M.: Proteomics approach in classifying the biochemical basis of the anticancer activity of the new olomoucine-derived synthetic cyclin-dependent kinase inhibitor, bohemine. <i>Electrophoresis</i> 21: 3757-3764, 2000.	3.385
104	Kubaláková M., Lysák M.A., Vrána J., Šimková H., Čihalíková J., Doležel J.: Rapid identification and determination of purity of flow-sorted plant chromosomes using C-PRINS. <i>Cytometry</i> 41(2): 102-108, 2000.	2.557
105	Kubišta J., V., Havlíček L., Hanuš J., Halada P., Kuzma M.: Rearrangement and loss of bromine radical and CO from some bromobenzyl alcohols following electron ionisation. <i>Eur. J. Mass Spectrom.</i> 6(2): 135-141, 2000.	0.629

106	Lipavská H., Svobodová H., Albrechtová J., Kumstýřová L., Vágner M., Vondráková Z.: Somatic embryogenesis in Norway spruce: Carbohydrate status during embryo maturation and the effect of polyethyleneglycol treatment. <i>In Vitro Cell. Dev. Biol.</i> 36(4): 260-267, 2000.	0.750
107	Lysák, M.A., Rostková, A., Dixon, J.M., Rossi, G., Doležel, J.: Limited genome size variation in <i>Sesleria albicans</i> . <i>Ann. Bot.</i> 86: 399-403, 2000.	1.274
108	Martinec J., Feltl T., Scanlon C.H., Lumsden P.J., Macháčková I.: Subcellular localization of a high affinity binding site for D-myo-inositol 1,4,5-trisphosphate from <i>Chenopodium rubrum</i> . <i>Plant Physiol.</i> 124(1): 475-483, 2000.	4.831
109	Mašek T., Smýkal P., Janotová I., Honys D., Čapková V., Pechan P.M.: Isolation of a <i>Brassica napus</i> L. cDNA encoding a putative high-mobility-group HMG I/Y protein. <i>Plant Sci.</i> 159(2): 197-204, 2000.	1.259
110	Menke M., Angelis K.J., Schubert I.: Detection of specific DNA lesions by a combination of comet assay and FISH in plants. <i>Environ. Molec. Mutag.</i> 35(2): 132-138, 2000.	2.278
111	Mes T.H.M., Kuperus P., Kirschner J., Štěpánek J., Oosterveld P., Štorchová H; den Nijs J.C.M.: Hairpins involving both inverted and direct repeats are associated with homoplasious indels in non-coding chloroplast DNA of <i>Taraxacum</i> (<i>Lactuceae: Asteraceae</i>). <i>Genome</i> 43(4): 634-641, 2000.	0.945
112	Novotná Z., Valentová O., Martinec J., Feltl T., Nokhrina K.: Study of phospholipases D and C in maturing and germinating seeds of <i>Brassica napus</i> . <i>Biochem. Soc. Trans.</i> 28: 817-818, 2000.	4.134
113	Novotný J., Vagera J., Ohnoutková L.: Effects of free and chelated iron on in vitro androgenesis in barley and wheat. <i>Plant Cell Tissue Org. Cult.</i> 63(1): 35-40, 2000.	0.444
114	Otyepka M., Kryštof V., Havlíček L., Siglerová V., Strnad M., Koča J.: Docking-based development of purine-like inhibitors of cyclin-dependent kinase-2 <i>J. Med. Chem.</i> 43(13): 2506-2513, 2000.	2.149
115	Pospíšilová J., Haisel D., Synková H., Čatský J., Wilhelmová N., Plzáková Š., Procházková D., Šrámek F.: Photosynthetic pigments and gas exchange during ex vitro acclimation of tobacco plants as affected by CO ₂ supply and abscisic acid. <i>Plant Cell Tissue Org. Cult.</i> 61(2): 125-133, 2000.	0.444
116	Pospíšilová J., Synková H., Rulcová J.: Cytokinins and water stress. <i>Biol. Plant.</i> 43(3): 321-328, 2000.	0.424
117	Sergeeva L.I., de Bruijn S.M., Koot-Gronsveld E.A.M., Navrátil O., Vreugdenhil D.: Tuber morphology and starch accumulation are independent phenomena: Evidence from ipt-transgenic potato lines. <i>Physiol. Plant.</i> 108(4): 435-443, 2000.	1.476
118	Smýkal P., Mašín J., Hrdý I., Konopásek I., Žárský V.: Chaperone activity of tobacco HSP18, a small heat-shock protein, is inhibited by ATP. <i>Plant J.</i> 23(6): 703-713, 2000.	5.629
119	Soukupová J., Cvikrová M., Albrechtová J., Rock B.N., Eder J.: Histochemical and biochemical approaches to study of phenolic compounds and peroxidases in needles of Norway spruce (<i>Picea abies</i> (L.) Karst). <i>New Phytol.</i> 146: 403-414, 2000.	2.149

120	Šesták Z., Čatský J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis - 83. <i>Photosynthetica</i> 38: 291-320, 2000.	0.402
121	Šindelářová M., Šindelář L., Burketová L.: Influence of auxin-like herbicides on tobacco mosaic virus multiplication. <i>Biol. Plant.</i> 43(3): 467-470, 2000.	0.424
122	Šindelářová M., Šindelář L., Burketová L.: Correlation between activity of ribonucleases and potato virus Y biosynthesis in tobacco plants. <i>Physiol. Mol. Plant Pathol.</i> 57(5): 191-199, 2000.	1.970
123	Štorchová H., Hrdličková R., Chrtek J., Tetera M., Fitze D., Fehrer J.: An improved method of DNA isolation from plants collected in the field and conserved in saturated NaCl/CTAB solution. <i>Taxon</i> 49(1): 79-84, 2000.	0.863
124	ten Hoopen R., Manteuffel R., Doležel J., Malysheva L., Schubert I.: Evolutionary conservation of kinetochore protein sequences in plants. <i>Chromosoma</i> 109(7): 482-489, 2000.	3.157
125	Tolman V., Sedmera P.: Chemistry of 4-fluoroglutamic acid. Part 3. Preparation of the diastereomers of 4-fluoroglutamine and 4-fluoroisoglutamine. An enzymatic access to the antipodes of 4-amino-2-fluorobutyric acid. <i>J. Fluorine Chem.</i> 101(1): 5-10, 2000.	0.851
126	Tolman V., Šimek P.: Chemistry of 4-fluoroglutamic acid. Part 4. Resolution of the racemic erythro and threo forms through their diastereomeric salts. <i>J. Fluorine Chem.</i> 101(1): 11-14, 2000.	0.851
127	Trávníček Z., Maloň M., Biler M., Hajdúch M., Brož P., Doležal K., Holub J., Kryštof V., Strnad M.: Synthesis, characterization and biological activity of two nickel (II) complexes with 6-(2-chlorobenzylamino)purine. <i>Transit. Metal Chem.</i> 25: 265-269, 2000.	0.561
128	Ulman P., Čatský J., Pospíšilová J.: Photosynthetic traits in wheat grown under decreased and increased CO ₂ concentration, and after transfer to natural CO ₂ concentration. <i>Biol. Plant.</i> 43(2): 227-237, 2000.	0.424
129	Vrána J., Kubaláková M; Šimková H., Čihalíková J., Lysák M.A., Doležel J.: Flow sorting of mitotic chromosomes in common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.). <i>Genetics</i> 156(4): 2033-2041, 2000.	4.687
130	Wittink F.R.A., Knuiman B., Derksen J., Čapková V., Twell D., Schrauwen J.A.M., Wullems G.J.: The pollen-specific gene Ntp303 encodes a 69-kDa glycoprotein associated with the vegetative membranes and the cell wall. <i>Sex. Plant Reprod.</i> 12(5): 276-284, 2000.	2.260

OSTATNÍ:

131	Angelis K. J.: The use of single cell gel electrophoresis for the study of DNA repair in plants. <i>Plant Mol. Biol. Reporter</i> 18(2): S03-6, 2000.	-
132	Burketová L., Feltlová M., Štillerová K.: Detekce viru žluté nekrotické žilkovitosti řepy <i>in situ</i> . <i>Biol. Listy</i> 65: 263-265, 2000.	-
133	Dobrev P., Kamínek M.: Cytokinin purification: new approaches on old grounds. <i>Biol. Listy</i> 65: 230-233, 2000.	-

134	<u>Doležel J., Lysák M.A., Vrána J., Kubaláková M., Šimková H., Číhalíková, J.:</u> Flow cytogenetics of agricultural crops. – In: Proceedings of the Mendel Centenary Congress. <i>Votr. Pflanzenzüchg.</i> 48: 247-256, 2000.	-
135	<u>Hanuš J., Kryštof V., Hajdúch M., Veselý J., Strnad M.:</u> Substituted nitrogen heterocyclic derivatives, way of their preparation, these derivatives for uses as drugs, pharmaceutical composition and combined pharmaceutical preparation containing these derivatives and uses of these derivatives for drug production. PCT/CZ00/00002, Czech Patent Application, January 25 th , 2000.	-
136	<u>Havlíček L., Kryštof V., Siglerová V., Lenobel R., Van Onckelen H., Slegers H., Esmans E., Strnad M.:</u> New heterocyclic compounds with anticancer, immunosuppressive, antiviral and antiinflammatory properties, processes for their preparation and methods for therapy. BE-1307-00, Patent Application, January 14 th 2000	-
137	<u>Hoyerová K., Kamínek M., Březinová A., Dobrev P., Gaudinová A.:</u> Comparison of different methods of extraction, purification and determination of cytokinins. <i>Biol. Listy</i> 65: 237-230, 2000.	-
138	<u>Kamínek M., Gaudinová A., Dobrev P.:</u> Cytokinin-binding proteins in cereal grains: Specific physiological functions and methodological approaches. <i>Biol. Listy</i> 65: 240-242, 2000.	-
139	<u>Malá J., Cvikrová M., Kálal J., Cvrčková H., Eder J.:</u> The influence of PVP on rooting of oak microcuttings. <i>Comm. Inst. Forest.</i> 19: 5-14, 2000.	-
140	<u>Malá J., Cvrčková H., Březinová A., Hrubcová M., Eder J., Vágner M., Cvikrová M.:</u> Endogenous contents of phytohormones and phenylpropanoids in sessile oak somatic embryos in relation to their conversion potential. <i>J. Forestry Sci.</i> 46(5): 197-204, 2000.	-
141	<u>Malá J., Kálal J., Cvrčková H., Cvikrová M., Eder J.:</u> The effect of reduction of exuded phenolic substances level on rooting of oak microcuttings. Proc. Int. Symp. Methods and Markers for Quality Assurance in Micropropagation. (Eds. Cassels A.C., Doyle B.M., Curry P.F.), <i>Acta Hort.</i> 530: 353-360, 2000.	-
142	<u>Martínek J., Feltl T., Nokhrina E., Zažímalová E., Macháčková I.:</u> Plant inositol signaling – biochemical study of phospholipase C and D-myoinositol-1,4,5-trisphosphate receptor. <i>Korean J. Plant Tissue Cult.</i> 27(5): 375-377, 2000.	-
143	<u>Motyka V., Kamínek M.:</u> Extraction and determination of cytokinin oxidase activity in wheat grains and tobacco callus culture. <i>Biol. Listy</i> 65: 248-250, 2000.	-
144	<u>Motyka V.:</u> Methods for determination of cytokinin oxidase and zeatin reductase activity in plant tissues - and overview. <i>Biol. Listy</i> 65: 245-247, 2000.	-
145	<u>Sedlářová M., Binarová P., Lebeda A.:</u> Imunochemical methods in plant cytopathology. <i>Biol. Listy</i> 65(3-4): 262-263, 2000.	-
146	<u>Soukupová J., Cvikrová M., Albrechtová J., Rock B.N., Eder J.:</u> Influence of air pollution on phenolic compound composition in needles of Norway spruce. In: Polyphenols Communications 2000, Freising-Weihenstephan (Germany), September 11-15, pp. 599-601, 2000.	-
147	<u>Strnad, M.:</u> Regulation of cell division by growth substances. <i>Proceedings, Hormonal Regulation of Plant Growth and Development</i> , Brno, MZLU Press, pp. 30-32, 2000.	-

148	Svirshchevskaya A.M., Doležel J.: Production and performance of gynogenetic sugarbeet lines. <i>J. Sugarbeet Res.</i> 37: 117-133, 2000.	-
149	Trčková, M., Kamínek, M.: Nitrate uptake and nitrogen allocation in wheat as affected by exogenous cytokinins. In: <i>Nitrogen and Sustainable Ecosystems</i> . M.A. Martins-Loucao & S.H. Lips, pp. 261-268, 2000.	-
150	Vaňková R., Kuncová G.: Two dimensional fluorescence spectroscopy – non-traditional method for determination of cell viability. <i>Biol. Listy</i> 65: 299 - 301, 2000.	-
151	Zažímalová E., Petrášek J.: Estimation of activity of auxin uptake and efflux carriers in the cells of VBI-0 tobacco strain. <i>Biol. Listy</i> 65: 253-257, 2000.	-
152	Zonia L.: The actin cytoskeleton during differentiation of microspores to mature pollen. In: <i>Actin: A Dynamic Framework for Multiple Plant Cell Functions</i> . Eds. Staiger, C.J., Baluška, F., Volkmann, D., Barlow, P.W. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. Pp. 361-371, 2000.	-
153	Žárský V., Soukupová H.: Stress as a trigger of pollen embryogenesis. <i>Korean J. Plant Tissue Cult.</i> 27: 411-413, 2000.	-

2001:

IMPAKTOVANÉ ČASOPISY:

č.	<i>citace</i>	<i>IF 2001</i>
154	Blažková A., Macháčková I., Eder J., Krekule J.: Benzyladenine-induced inhibition of flowering in <i>Chenopodium rubrum in vitro</i> is not related to the level of isoprenoid cytokinins. <i>Plant Growth Regul.</i> 34: 159-166, 2001.	0.761
155	Bubner M., Fuksová K., Matucha M., Heise K. H., Bernhard G.: Synthesis of [1,2-C-14]trichloroacetic acid. <i>J. Labelled Comp. & Radiopharm.</i> 44(11): 811-814, 2001.	0.839
156	Čeřovská N., Moravec T., Filigarová M., Petrzik, K.: Nucleotide sequences of 5' terminal parts of coat protein genes of various isolates of NTN strain of Potato virus Y. <i>Acta Virologica</i> 45: 55-59, 2001.	0.644
157	Čeřovská N., Moravec T., Velemínský J.: Expression of Potato virus A (PVA) coat protein in <i>Escherichia coli</i> and possibility of its use as foreign antigen carrier. <i>Eur. J. Biochem.</i> 268(1): 214, 2001.	2.849
158	Eliáš M., Cvrčková F., Obermeyer G., Žárský V. Microinjection of guanine nucleotide analogues into lily pollen tubes results in isodiametric tip expansion. <i>Plant Biol.</i> 3(5): 489-492, 2001.	1.828
159	Engstová, H., Žáčková M., Růžička M., Meinhardt A., Hanuš J., Kramer R., Ježek P.: Natural and azido fatty acids inhibit phosphate transport and activate fatty acid anion uniport mediated by the mitochondrial phosphate carrier. <i>J. Biol. Chem.</i> 276(7): 4683-4691, 2001.	7.258
160*	Fellner M., Sawhney V.K.: Seed germination in a tomato male-sterile mutant is resistant to osmotic, salt and low-temperature stresses. <i>Theor. Appl. Genet.</i> 102: 215-221, 2001.	2.438

161*	Fellner M., Zhang R., Pharis R.P., Sawhney V.K.: Reduced de-etiolation of hypocotyl growth in a tomato mutant is associated with hypersensitivity to, and high endogenous levels of, abscisic acid. <i>J. Exp. Bot.</i> 52: 725-38, 2001.	2.433
162	Fidlerová A., Smýkal P., Tupý J., Čapková V.: Glycoproteins 66 and 69 kDa of pollen tube wall: properties and distribution in angiosperms. <i>J. Plant Physiol.</i> 158 : 1367-1374, 2001.	1.018
163	Forczek S.T., Matucha M., Uhlířová H., Albrechtová J., Fuksová K., Schröder H.P.: Biodegradation of trichloroacetic acid in Norway spruce/soil system. <i>Biol. Plant.</i> 44(2): 317-320, 2001.	0.426
164	Franěk F., Strnad M., Havlíček L., Siglerová V., Eckschlager T.: Concentration- and time-dependent activities of boheminine, a novel cytostatic agent. <i>Cytotechnology</i> 36: 115-122 (2001).	0.703
165	Gichner T., Stavreva D.A., Van Breusegem F.: o-Phenylenediamine-induced DNA damage and mutagenicity in tobacco seedlings is light-dependent. <i>Mutat. Res.</i> 495(1-2): 117-125, 2001.	1.624
166	Haisel D., Hofman P., Vágner M., Lipavská H., Tichá I., Schäfer C., Čapková V.: <i>Ex vitro</i> phenotype stability is affected by <i>in vitro</i> cultivation. <i>Biol. Plant.</i> 44(3): 321-324, 2001.	0.426
167	Henselová M., Vizárová, G., Macháčková I.: The effect of growth regulator Rastim 30DKV on the level of endogenous phytohormones in tomato (<i>Solanum lycopersicum</i> L.). <i>Rostlinná Výroba</i> 47: 411-417, 2001.	0.237
168	Honys D.: Isolation of proteins comprising native gene-specific messenger ribonucleoprotein particles using paramagnetic beads. <i>Plant Sci.</i> : 161(3) 605-611, 2001.	1.384
169	Horký M., Wurzer G., Kotala V., Anton M., Vojtěšek B., Vácha J., Wesierska-Gadek J.: Segregation of nucleolar components coincides with caspase-3 activation in cisplatin-treated HeLa cells. <i>J. Cell Sci.</i> 114: 663-670, 2001.	6.213
170	Chmela Z., Veselý J., Lemr K., Rypka M., Hanuš J., Havlíček L., Kryštof V., Michnová L., Fuksová K., Lukeš J.: <i>In vivo</i> metabolism of 2,6,9-trisubstituted purine-derived cyclin-dependent kinase inhibitor boheminine in mice: Glucosidation as the principal metabolic route. <i>Drug Metabol. Dispos.</i> 29: 326-334, 2001.	2.989
171	Kadleček P., Tichá I., Haisel D., Čapková V., Schäfer Ch.: Importance of <i>in vitro</i> pretreatment for <i>ex vitro</i> acclimation and growth. <i>Plant Sci.</i> 161: 695-701, 2001.	1.384
172	Kejnovský E., Vrána J., Matsunaga S., Souček P., Šíroky J., Doležel J., Vyskot B.: Localization of male-specifically expressed MROS genes of <i>Silene latifolia</i> by PCR on flow-sorted sex chromosomes and autosomes. <i>Genetics</i> 158: (3) 1269-1277, 2001.	4.803
173	Kotala V., Uldrijan S., Horký M., Trbušek M., Strnad M., Vojtěšek B.: Potent induction of wild-type p53-dependent transcription in tumour cells by a synthetic inhibitor of cyclin-dependent kinases. <i>Cell Mol. Life Sci.</i> 58: 1333-1339, 2001.	4.539
174	Kryštof V., Strnad M.: Inhibitors of cyclin-dependent kinases. <i>Chem. Listy</i> 95: 295-300, 2001.	0.317

175	Maloň M., Trávníček Z., Maryško M., Zbořil R., Mašláň M., Marek J., Doležal K., Rolčík J., Kryštof V., Strnad M.: Metal complexes as anticancer agent 2. Iron(III) and copper(II) bio-active complexes with 6-benzylaminopurine derivatives. <i>Inorg. Chim. Acta</i> 323(1-2): 119-129, 2001.	1.394
176	Matucha M., Uhlířová H., Bubner M.: Investigation of uptake, translocation and fate of trichloroacetic acid in Norway spruce (<i>Picea abies</i> /L./ Karst.) Using ¹⁴ C-Labeling. <i>Chemosphere</i> 44(2): 217-222, 2001.	1.181
177	Menke M., Cheng I-P., Angelis K.J., Schubert I.: DNA damage and repair in <i>Arabidopsis thaliana</i> as measured by the Comet Assay after treatment with different classes of genotoxins. <i>Mutat. Res.</i> 493(1-2): 87-93, 2001.	1.624
178	Mužáková V., Kandar R., Vojtíšek P., Skalický J., Vaňková R., Cegan A., Červinková Z.: Antioxidant vitamin levels and glutathione peroxidase activity during ischemia/reperfusion in myocardial infarction. <i>Physiol. Res.</i> 50(4): 389-396, 2001.	1.027
179	Pospíšilová J., Rulcová J., Vomáčka L.: Effect of benzyladenine and hydroxybenzyladenosine on gas exchange of bean and sugar beet leaves. <i>Biol. Plant.</i> 44(4): 523-528, 2001.	0.426
180	Procházková D., Sairam R., Srivastava G.C., Singh D.V.: Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. <i>Plant Sci.</i> 161: 765-771, 2001.	1.384
181	Ptáček O., Stavreva D. A., Jin Kyu Kim, Gichner T.: Induction and repair of DNA damage as measured by the Comet assay and the yield of somatic mutations in gamma-irradiated tobacco seedlings. <i>Mut. Res.</i> 491: 17-23, 2001.	1.624
182	Roux N., Doležel J., Swennen R., Zapata-Arias F.J.: Effectiveness of three micropropagation techniques to dissociate cytochimeras in <i>Musa</i> spp. <i>Plant Cell Tissue Org. Cult.</i> 66(3): 189-197, 2001.	0.631
183	Rulcová J., Pospíšilová J.: Effect of benzylaminopurine on rehydration of bean plants after water stress. <i>Biol. Plant.</i> 44: 75-81, 2001.	0.426
184	Sedlářová M., Binarová P., Lebeda A.: Changes in microtubular alignment in <i>Lactuca</i> spp. (<i>Asteraceae</i>) epidermal cells during early stages of infection by <i>Bremia lactucae</i> (<i>Peronosporaceae</i>). <i>Phyton - Ann Rei Bot.</i> 41(1): 21-34, 2001.	0.275
185	Suda J., Lysák M.A.: A taxonomic study of the <i>Vaccinium</i> sect. <i>Oxycoccus</i> (Hill) W.D.J. Koch (<i>Ericaceae</i>) in the Czech Republic and adjacent territories. <i>Folia Geobot.</i> 36(3): 303-320, 2001.	0.467
186	Synková H., Valcke R.: Response to mild water stress in transgenic <i>Pssu-ipt</i> tobacco. <i>Physiol. Plant.</i> 112: 513-523, 2001.	1.760
187	Šesták Z., Čatský J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis – 84. <i>Photosynthetica</i> 39 (1): 131-160, 2001.	0.807
188	Šesták Z., Čatský J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis – 85. <i>Photosynthetica</i> 39 (4): 615-640, 2001.	0.807
189	Šindelářová M., Šindelář L.: Changes in composition of soluble intercellular proteins isolated from healthy and TMV-infected <i>Nicotiana tabacum</i> L. cv. Xanthi-nc. <i>Biol. Plant.</i> 44, 567- 572, 2001.	0.426

190	Široký J., Lysák M.A., Doležel J., Kejnovský E., Vyskot B.: Heterogeneity of rDNA distribution and genome size in <i>Silene</i> spp. <i>Chromosome Res.</i> 9: 387-393, 2001.	1.835
191	Temsch E.M., Obermayer R., Doležel J., Greilhuber J.: Application of an optical immersion-gel in a flow cytometer with horizontally oriented objective. <i>Biotechnic & Histochemistry</i> 76: 11-14, 2001.	0.614
192	Trávníček Z., Maloň M., Šindelář Z., Doležal K., Rolčík J., Kryštof V., Strnad M., Marek J.: Preparation, physicochemical properties and biological activity of copper(II) complexes with 6-(2-chlorobenzylamino)purine (HL1) or 6-(3-chlorobenzylamino)purine (HL2). The single-crystal X-ray structure of [Cu(H+L2)(2)Cl-3]Cl-2H(2)O. <i>J. Inorg. Biochem.</i> 84 (1-2): 23-32, 2001.	1.729
193	Vagera J., Nesvadba Z., Martinek P., Ohnoutková L.: <i>In vitro</i> haploid zygotic embryogenesis due to pollination with maize pollen and induced <i>in vitro</i> androgenesis in Czech wheat breeding genotypes. <i>Rostlinná Výroba</i> 47(5): 193-200, 2001.	0.237
194	Vaňková R., Kuncová G., Opatrná J., Süssenbeková H., Gaudinová A., Vaněk T.: Two-dimensional fluorescence spectroscopy - a new tool for the determination of plant cell viability. <i>Plant Cell Rep.</i> 20(1): 41-47, 2001.	1.375
195	Werner T., Motyka V., Strnad M., Schmölling T.: Regulation of plant growth by cytokinin. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 98: 10487-10492, 2001.	10.896
196	Wolf K., Kolář J., Witters E., Van Dongen W., Van Onckelen H., Macháčková I.: Daily profile of melatonin levels in <i>Chenopodium rubrum</i> L. depends on photoperiod. <i>J. Plant Physiol.</i> 158: 1491-1493, 2001.	1.018
197	Zonia L., Cordeiro S., Feijo J. A.: Ion dynamics and hydrodynamics in the regulation of pollen tube growth. <i>Sex. Plant Reprod.</i> 14(1-2): 111-116, 2001.	1.753

OSTATNÍ:

198	Bubner M., Meyer M., Heise K.H., Jander R., Matucha M., Vlasáková V., Fuksová K., Nitsche H.: Radiolabelling of Polychlorinated Biphenyls: Synthesis of [¹⁴ C]PCB Congeners 11 and 77. Proc. Seventh Int. Symp. on the Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds, June 18 - 22, 2000, Dresden, Germany, (R. Voges and U. Pleiss, Eds.), J. Wiley, pp.260-263, 2001.	-
199	Cvrčková F., Eliáš M., Hála M., Obermeyer G., Žárský V.: Small GTPases and Conserved Signalling Pathways in Plant Cell Morphogenesis: From Exocytosis to the Exocyst. <i>In "Cell Biology of Plant and Fungal Tip Growth"</i> (A. Geitmann, M. Cresti, B. Heath eds.). IOS Press Amsterdam, pp. 105-122, 2001.	-
200	Doležel J., Lysák M., Doleželová M., Valárik M., Šimková H., Vrána J.: Analysis of Musa genome using flow cytometry and molecular cytogenetics. - In: Cellular Biology and Biotechnology Including Mutation Techniques for Creation of New Useful Banana Genotypes. Report of the Third FAO/IAEA Research Co-ordination Meeting. Pp. 85-93. IAEA, Vienna, 2001.	-
201	Doležel J., Lysák M.A., Kubaláková M., Šimková H., Macas J., Lucretti S.: Sorting of Plant Chromosomes. - In: Darzynkiewicz, Z., Crissman, H.A., Robinson, J.P. (eds): <i>Methods in Cell Biology</i> . Vol. 64. Third Edition, Part B. Pp. 3 - 31. Academic Press, San Diego, 2001.	-

202	Forczek S.T., Matucha M., Uhlířová H., Albrechtová J., Fuksová K., Schröder P.: Distribution and Fate of Trichloroacetic Acid in Norway Spruce (<i>Picea Abies</i> (L.) Karst.) Using ¹⁴ C-Labeling. In: Proc. Seventh Int. Symp. on the <i>Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds</i> (U. Pleiss, R. Voges, Eds.) J. Wiley, p. 610-613, 2001.	-
203	Franěk F., Katinger H.: Specific effects of synthetic oligopeptides in animal cell culture. Independent modulation of production and growth. Animal Cell Technology: From Target to Market. Proc. 17th ESACT Meeting Tylosand, Sweden, June 10-14, 2001, Kluwer Acad. Publ., The Netherlands, pp.164-167, 2001.	-
204	Kolář J., Macháčková I.: Occurrence and possible function of melatonin in plants. A review. <i>Endocytobiosis & Cell Res.</i> 14: 75-84, 2001.	-
205	Kolářová H., Kubínek R., Navrátil L., Strnad M., Réblová K., Škopek J.: Laser-induced photodynamic effect. In: <i>Laser Florence 2000: A window on the laser Medicine World</i> , Lonog, L., Hofstetter, A.G., Pascu, M.L., Waidelich, W.R.A. (eds.), Proceedings of SPIE, vol. 4606: 144-147, 2001.	-
206	Krekule J., Macháčková I.: The localization of endogenous rhythm of flowering in <i>Chenopodium rubrum</i> . Evidence gained in experiments with direct electric current. <i>Endocytobiosis & Cell Res.</i> 14: 51-56, 2001.	-
207	Kubaláková M., Vrána J., Čihalíková J., Lysák M.A., Doležel J.: Localisation of DNA sequences on plant chromosomes using PRINS and C-PRINS. <i>Methods Cell Sci.</i> 23: 71-82, 2001.	-
208	Lebeda A., Doležalová I., Křístková E., Janeček J., Vinter V., Vránová O., Doležal K., Tarkowski P., Petrželová I., Trávníček B., Novotný R.: Biodiversity of genetic resources of wild <i>Lactuca</i> spp. In: Swiecicki, W., Naganowska, B., Wolko, B. (Eds.): Broad Variation and Precise Characterization – Limitation for the Future. Eucarpia, Section Genetic Resources, Poznan (Poland), 53-56, 2001.	-
209	Macháčková I., Krekule J.: Úloha světla v regulaci růstu rostlin. <i>Zprávy Čes. Bot. Společ. Praha</i> 36: 31-47, 2001	-
210	Martínek P., Ohnoutková L., Bednář J., Vyhnaněk T.: Increasing grain quality parameters by intra- and interspecific hybridisation in wheat. <i>Proceeding of International Conference of Genetic Collections, Isogenic and Alloplasmic Lines</i> , Novosibirsk, Russia, July 30 - August 03, 195-197, 2001.	-
211	Martínek P., Ohnoutková L., Bednář J., Vyhnaněk T.: Vlastnosti Tritordea v podmínkách České republiky a možnosti jeho využití. (Characteristic of tritordeum and its potential use in the Czech Republic). Nové poznatky z genetiky a šlechtění poľnohospodárskych rastlín. <i>Zborník zo 6. odborného seminára VÚRV Piešťany</i> 10. Máj 2001, (6):49-53, 2001 (ISBN 80-88790-19-0)	-
212	Matucha M., Uhlířová H., Fuksová K., Bubner M.: Application of ¹⁴ C-Labeling In Investigation Of Forest Decline: Uptake, Translocation And Fate Of Trichloroacetic Acid In Norway Spruce (<i>Picea Abies</i> (L.) KARST.) Proc. Seventh Int. Symp. on The Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds, June 18 - 22, 2000, Dresden, Germany, (U. Pleiss, J. Voges, Eds.) J. Wiley 2001, pp. 604-609. 2001.	-
213	Matucha M., Uhlířová H., Lomský B., Fuksová K., Forczek S.T., Albrechtová J.: Těkávé chlorované uhlovodíky a zdravotní stav lesa: účinek kyseliny trichloroctové na smrk ztepilý (<i>Picea abies</i> /L./ Karst), <i>Konf. Ovzduší 2001</i> , Brno, 14.-16.5.2001, Sborník konf. Recetox Brno 2001, str. 182-188, 2001.	-

214	Moravec T., Filigarová M., Dědič P., Čeřovská N.: Possibility of the use of recombinant coat protein of Potato Mop-top virus (PMTV) for virus characterization. In: 11-th EAPR Virology section meeting, Book of abstracts 80-82, Třešť, Czech Republic, 7-13-th October 2001.	-
215	Müllerová E., Novotný J., Vagera J., Harwood W.A., Ohnoutková L.: Induction of androgenesis in transgenic barley plants. In: Bohanec, B., Ed. <i>Biotechnological Approaches for Utilization of Gametic Cells</i> . Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. 29-32, 2001.	-
216	Němcová L., Faragó J., Ohnoutková L., Müllerová E.: High-frequency regeneration through somatic embryogenesis from immature scutellum-derived calli in Slovak and Czech cultivars of barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.). In: <i>Book of Abstracts of 4th International Symposium in the Series "Recent Advances in Plant Biotechnology"</i> , Třeboň, Czech Republic, September 17-21, 130, 2001.	-
217	Ohnoutková L., Müllerová E., Faragó J.: Transgenóze ječmene – současný stav a perspektivy. (Genetic Transformation of barley – situation and perspective. Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. <i>Zborník zo 6. odborného seminára VÚRV Piešťany</i> 10. Máj 2001, pp. 25-28, 2001.	-
218	Ohnoutková L., Novotný J., Vagera J., Kučera L.: Is a could pre-treatment needed for induction of in vitro androgenesis in barley and wheat? In: Bohanec, B., Ed. <i>Biotechnological Approaches for Utilization of Gametic Cells</i> . Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg. 33-37, 2001.	-
219	Svirshchevskaya A.M., Doležel J.: Karyological characterization of sugar beet gynogenetic lines cultured <i>in vitro</i> . <i>J. Appl. Genet.</i> 42: 21-32, 2001.	-
220	Štorchová H., Procházka F., Horn K., Pavlíčko A. <i>Diphasiastrum oellgardii</i> - nový druh moravské květeny. (<i>Diphasiastrum oellgardii</i> - a new species of Moravian flora). <i>Zprávy Čes. Bot. Spol.</i> 36: 77 - 80, 2001.	-
221	Uldrijan S., Nenutil R., Fait V., Kotala V., Rejthar A., Vojtěšek B.: Melanomové fragmenty a jejich krátkodobá kultivace jako nástroj pro sledování odezvy na cytotoxické látky s rozdílným mechanismem účinku. <i>Klin. Onkologie</i> 1, 25-30, 2001.	-
222	Vrána J., Šimková H., Kubaláková M., Čihalíková J., Lysák M., Doležel J.: Sorting of mitotic chromosomes in common wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) using flow cytometry. In: Bedö, Z., Láng, L. (eds.): <i>Wheat in a Global Environment</i> . Pp. 531-536. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001.	-

2002:

IMPAKTOVANÉ ČASOPISY:

č.	cítace	IF 2002
223	Ayaz F.A., Glew R.H., Huang H.S., Chuang L.T., VanderJagt D.J., Strnad M.: Evolution of fatty acids in mediar (<i>Mespilus germanica</i> L.) mesocarp at different stages of ripening. <i>Grasas Aceites</i> 53: 352-356, 2002.	0.286
224	Baroja-Fernandez E., Aguirreolea J., Martínková H., Hanuš J., Strnad M.: Aromatic cytokinins in micropropagated potato plants. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 40(3): 217-224, 2002.	1.582

225	Bavrina T.V., Milyaeva E.L., Macháčková I., Pustovoitova T.N., Gurko N.A., Kasumova I.V., Zhdanova N.E.: Effect of phytohormone biosynthesis genes (ipt and iaaM plus iaaH) on the sexual reproduction of transgenic tobacco plants. <i>Russ. J. Plant Physiol.</i> 49(4): 484-491, 2002.	0.102
226	Čeřovská N., Filigarová M., Hadámková R.: Optimum conditions for the storage of potato virus Y ^{NTN} strain. <i>Biol. Plant.</i> 45: 315-316, 2002.	0.583
227	Čeřovská N., Moravec T., Velemínský J.: Polyclonal antibodies to a recombinant coat protein of Potato virus A. <i>Acta Virologica</i> 46: 31; 2002.	0.660
228	Dobrev P., Kamínek M.: Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction. <i>J. Chromatography A</i> 950(1-2): 21-29, 2002.	3.098
229	Dobrev P., Motyka V., Gaudinová A., Malbeck J., Trávníčková A., Kamínek M., Vaňková R.: Transient accumulation of cis and trans-zeatin type cytokinins and its relation to cytokinin oxidase activity during cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 40(4): 333-337, 2002.	1.582
230	Doležal K., Astot C., Hanuš J., Holub J., Peters W., Beck E., Strnad M., Sandberg G.: Identification of aromatic cytokinins in suspension cultured photoautotrophic cells of <i>Chenopodium rubrum</i> by capillary liquid chromatography/frit - fast atom bombardment mass spectrometry. <i>Plant Growth Regul.</i> 36(2): 181-189, 2002.	0.850
231	Doležalová I., Lebeda., Janeček J., Čihalíková J., Křístková E., Vránová O.: Variation in chromosome numbers and nuclear DNA contents in genetic resources of <i>Lactuca</i> L. species (<i>Asteraceae</i>). <i>Genet. Resources Crop Evol.</i> 49(4): 383-395, 2002.	0.579
232	Fellner M., Sawhney V.K.: The 7B-1 mutant in tomato shows blue-light-specific resistance to osmotic stress and abscisic acid. <i>Planta</i> 214: 675-682, 2002.	2.960
233	Filek M., Biesaga-Koscielniak J., Marcinska I., Krekule J., Macháčková I.: Direct electric current partly replaces the chilling effect in vernalisation of winter wheat. <i>J. Plant Physiol.</i> 159(7): 795-797, 2002.	0.941
234	Franěk F., Fismolová I., Eckschlager T.: Antiapoptotic and proapoptotic action of various amino acids and analogs in starving MOLT-4 cells. <i>Arch. Biochem. Biophys.</i> 398(1): 141-146, 2002.	2.606
235	Franěk F., Katinger H.: Specific effects of synthetic oligopeptides on cultured animal cells. <i>Biotechnol. Progress</i> 18(1): 155-158, 2002.	1.734
236	Franěk F., Siglerová V., Havlíček L., Strnad M., Eckschlager T., Weigl E.: Effect of the purine derivative myoseverin and of its analogues on cultured hybridoma cells. <i>Coll. Czech. Chem. Comm.</i> 67(2): 257-266, 2002.	0.848
237	Gichner T., Mühlfeldová Z.: Induced DNA damage measured by the Comet assay in 10 weed species. <i>Biol. Plant.</i> 45 (4): 509-516, 2002.	0.583
238	Govindjee, Šesták Z., Peters W.R.: The early history of "Photosynthetica", "Photosynthesis Research", and their publishers. <i>Photosynthetica</i> 40(1), 1-11, 2002.	0.773

239	Hartung F., Angelis K.J., Meister A., Schubert I., Melzer M., Puchta H.: An archaeobacterial topoisomerase homolog not present in other eucaryotes is indispensable for cell proliferation of plants. <i>Curr. Biology</i> 12: 1787-1791, 2002.	7.007
240	Hofman P., Haisel D., Komenda J., Vágner M., Tichá, I., Schaffer C., Čapková V.: Impact of in vitro cultivation conditions on stress responses and on changes in thylakoid membrane proteins and pigments of tobacco during <i>ex vitro</i> acclimation. <i>Biol. Plant.</i> 45: 189-195, 2002.	0.583
241	Janas K.M., Cvikrová M., Palagiewicz A., Szafranska K., Posmyk M.M.: Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoids in soybean roots at low temperature. <i>Plant Sci.</i> 163(2): 369-373, 2002.	1.556
242	Kolář Z., Murray P.G., Maďarová J., Lukešová M., Hlobilková A., Řiháková P., Flavell J.R., Strnad M., Student V., Vojtěšek B.: Nuclear receptors in early hormone refractory prostate cancer and their relationship to apoptosis-related proteins. <i>Neoplasma</i> 49: 172-177, 2002.	0.679
243	Kryštof V., Lenobel R., Havlíček L., Kuzma M., Strnad M.: Synthesis and biological activity of olomoucine II. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 12(22): 3283-3286, 2002.	2.051
244	Kubaláková M., Vrána J., Čihalíková J., Šimková H., Doležel J.: Flow karyotyping and chromosome sorting in bread wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.). <i>Theor. Appl. Genet.</i> 104(8): 1362-1372, 2002.	2.249
245	Link V.L., Hofmann M.G., Sinha A.K., Ehness R., Strnad M., Roitsch T.: Biochemical evidence for the activation of distinct subsets of mitogen-activated protein kinases by voltage and defense-related stimuli. <i>Plant Physiol.</i> 128(1): 271-281, 2002.	5.800
246	Maďarová J., Lukešová M., Hlobilková A., Strnad M., Vojtěšek B., Lenobel R., Hajdúch M., Murray P.G., Perera S., Kolář Z.: Synthetic inhibitors of CDKs induce different responses in androgen sensitive and androgen insensitive prostatic cancer cell lines. <i>J. Clin. Pathol.</i> 55: 227-234, 2002.	2.549
247	Macháčková I., Krekule J.: Sixty-five years of searching for the signals that trigger flowering. <i>Russ. J. Plant Physiol.</i> 49(4): 451-459, 2002.	0.102
248	Maloň M., Trávníček Z., Marysko M., Marek J., Doležal K., Rolčík J., Strnad M.: Synthesis, characterization and antitumour activity of copper(II) 6-(4-chlorobenzylamino)purine complexes. X-ray structure of 6-(4-chlorobenzylamino)purinium perchlorate. <i>Transit. Metal Chem.</i> 27(6), 580-586, 2002.	0.949
249	Matschke J., Macháčková I.: Changes in the content of indole-3-acetic acid and cytokinins in spruce, fir and oak trees after herbicide treatment. <i>Biol Plant.</i> 45(3): 375-382, 2002.	0.583
250	Mes T.H.M., Kuperus P., Kirschner J., Štěpánek J., Oosterveld P., Štorchová H., Nijs den J.C.M.: Detection of genetically divergent clone mates in apomictic dandelions. <i>Mol. Ecol.</i> 11(2): 253-265, 2002.	3.014
251	Neumann P., Požárková D., Vrána J., Doležel J., Macas J.: Chromosome sorting and PCR-based physical mapping in pea (<i>Pisum sativum</i> L.). <i>Chrom. Res.</i> 10(1): 63-71, 2002.	1.828
252	Petrášek J., Březinová A., Holík J., Zažímalová E.: Excretion of cytokinins into the cultivation medium by suspension-cultured tobacco cells. <i>Plant Cell Rep.</i> 21(1): 97-104, 2002.	1.340

253	Petrášek J., Elčknér M., Morris D.A., Zažímalová E.: Auxin efflux carrier activity and auxin accumulation regulate cell division and polarity in tobacco cells. <i>Planta</i> 216(2): 302-308, 2002.	2.960
254	Piruzian E.S., Goldenkova I.V., Lenets A.A., Cvikrová M., Macháčková I., Kobets N.S. Mett V.L. Musiichuk K.A.: Physiological and biochemical characteristics of tobacco transgenic plants expressing bacterial dioxygenase. <i>Russ. J. Plant Physiol.</i> 41(6): 817-822, 2002.	0.102
255	Požárková D., Koblížková A., Roman B., Torres A.M., Lucretti S., Lysák M., Doležel J., Macas J.: Development and characterization of microsatellite markers from chromosome 1-specific DNA libraries of <i>Vicia faba</i> . <i>Biol. Plant.</i> 45(3): 337-345, 2002.	0.583
256	Ptáček O., Mühlfeldová Z., Dostálek J., Čechák T., Gichner T.: Monitoring DNA damage in wood small-reed (<i>Calamagrostis epigejos</i>) plants growing in a sediment reservoir with substrates from uranium mining. <i>J. Environ. Monitoring</i> 4(4): 592-595, 2002.	1.348
257	Rolčík J., Lenobel R., Siglerová V., Strnad M.: Isolation of melatonin by immunoaffinity chromatography. <i>J. Chromatography B</i> 775(1): 9-15, 2002.	1.913
258	Rypka M., Veselý J., Chmela Z., Riegrová D., Červenková K., Havlíček I., Lemer K., Hanuš J., Černý B., Lukeš J., Michalíková K.: <i>In vitro</i> biotransformations of 2,6,9-trisubstituted purine derived cyclin-dependent kinase inhibitor bohemine by mouse liver microsomes. <i>Xenobiotica</i> 32: 1017-1031, 2002.	1.919
259	Semorádová Š., Synková H., Pospíšilová J.: Responses of tobacco plantlets to change of irradiance during transfer from <i>in vitro</i> to <i>ex vitro</i> conditions. <i>Photosynthetica</i> 40(4): 605-614, 2002.	0.773
260	Scherer G.F.E., Paul R.U., Holk A., Martinec J.: Down-regulation by elicitors of phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipase C and up-regulation of phospholipase A in plant cells. <i>Biochem Biophys. Res. Comm.</i> 293(2): 766-770, 2002.	2.935
261	Soukupová J., Albrechtová J., Svobodová H., Opatrná J.: Anatomical and histochemical changes of Norway spruce buds induced by simulated acid rain <i>Biol. Plant.</i> 45: 77-84, 2002.	0.583
262	Stavreva D.A., Gichner T.: DNA damage induced by hydrogen peroxide in cultured tobacco cells is dependent on the cell growth stage. <i>Mutation Res.</i> 514: 147-152, 2002.	1.636
263	Synková H., Pospíšilová J.: <i>In vitro</i> precultivation of tobacco affects the response of antioxidative enzymes during acclimation to <i>ex vitro</i> . <i>J. Plant Physiol.</i> 159(7): 781-789, 2002.	0.941
264	Šesták, Z., Čatský, J.: Bibliography of reviews and methods of photosynthesis - 86. <i>Photosynthetica</i> 40: 453-480, 2002.	0.773
265	Šindelář L., Šindelářová M.: Correlation of viral RNA biosynthesis with glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and host resistance. <i>Planta</i> 215: 862-869, 2002.	2.960
266	Šindelář L., Šindelářová M.: Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase/6-phosphogluconate dehydrogenase ratio and the glucose-6-phosphate, 6-phosphogluconate and fructose-6-phosphate contents in tobacco plants infected with potato virus Y. <i>Biol. Plant.</i> 45(4): 575-580, 2002.	0.583

267	Šindelářová M., Šindelář L., Burketová L.: Glucose-6-phosphate dehydrogenase, ribonucleases and esterases upon tobacco mosaic virus infection and benzothiadiazole treatment in tobacco. <i>Biol. Plant.</i> 45(3): 423-432, 2002.	0.583
268	Štorchová H., Chrtek J., Bartish I.V., Tetera M., Kirschner J., Štěpánek J.: Genetic variation in agamosperous taxa of <i>Hieracium sect. Alpina</i> (<i>Compositae</i>) in Tatry Mts. (Slovakia). <i>Plant Syst. Evol.</i> 235(1-4): 1-17, 2002.	1.114
269	Trávníček Z., Maloň M., Popa I., Doležal K., Strnad M.: Preparation and cytotoxic activity of nickel (II) complexes with 6-benzylaminopurine derivatives. <i>Transit. Metal Chem.</i> 27(8): 918-923, 2002.	0.949
270	Uldrijan S., Kotala V., Vojtěšek B.: Regulation of the p53 tumour suppressor stability and activity. <i>Chem. Listy</i> 96: 145-149, 2002.	0.336
271	Valárik M., Šimková H., Hřibová E., Šafář J., Doleželová M., Doležel J.: Isolation, characterization and chromosome localization of repetitive DNA sequences in bananas (<i>Musa</i> spp.). <i>Chrom. Res.</i> 10: 89-100, 2002.	1.828
272	Vermeulen K., Strnad M., Havlíček L., van Onckelen H., Lenjou M., Nijs G., Van Bockstaele D.R., Berneman Z.N.: Plant cytokinin analogues with inhibitory activity on cyclin dependent kinases exert their antiproliferative effect through induction of apoptosis initiated by the mitochondrial pathway: determination by a multiparalalic flow cytometric analysis. <i>Exp. Hematol.</i> 30(10): 1107-1114, 2002.	3.366
273	Vermeulen K., Strnad M., Kryštof V., Havlíček L., Van der Aa A., Lenjou M., Nijs G., Rodrigus I., Stockman B., van Onckelen H., Van Bockstaele D.R., Berneman Z.N.: Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. <i>Leukemia</i> 16(3): 299-305, 2002.	4.693
274	Vítová L., Stodůlková E., Bartoničková A., Lipavská H.: Mannitol utilisation by celery (<i>Apium graveolens</i>) plants grown under different conditions <i>in vitro</i> . <i>Plant Sci.</i> 163(4): 907-916, 2002.	1.556
275	Vláčilová K., Ohri D., Vrána J., Čihalíková J., Kubaláková M., Kahl G., Doležel J.: Development of flow cytogenetics and physical genome mapping in chickpea (<i>Cicer arietinum</i> L.) <i>Chrom. Res.</i> 10(8): 695-706, 2002.	1.828
276	Zonia L., Cordeiro S., Tupý J., Feijo J.A.: Oscillatory chloride efflux at the pollen tube apex has a role in growth and cell volume regulation and is targeted by inositol 3,4,5,6-tetrakisphosphate. <i>Plant Cell</i> 14: 2233-2249, 2002.	10.751
277	Zubko E., Adams C.J., Macháčková I., Malbeck J., Scollan C., Meyer P.: Activation tagging identifies a gene from <i>Petunia hybrida</i> responsible for the production of active cytokinins in plants. <i>Plant J.</i> 29(6): 797-808, 2002.	5.850

OSTATNÍ:

278	Ajalín I., Kobza F., Doležel J.: Ploidy identification of doubled chromosome number plants in <i>Viola x wittrockiana</i> Gams. M1-generation. . <i>Hort. Sci. (Prague)</i> 29: 35-40, 2002.	-
-----	---	---

279	Cvikrová M., Binarová P., Cenková V., Eder J., Doležel J., Macháčková I.: Effect of 2-aminoindan-2-phosphonic acid on cell cycle progression in synchronous meristematic cells of <i>Vicia faba</i> roots. Polyphenols Communications, pp. 55-57, Marrakech-Morocco, 2002.	-
280	Čeřovská N., Moravec T., Synková H., Velemínský J., Pokorná D., Šmahel M.: Engineering of the recombinant coat protein of potato virus A (PVA) as a carrier for foreign antigen. Zborník XVIII. Biochemický Zjazd. pp. 7-10, Stará Lesná 2002.	-
281	Doležel J., Alkhimova O., Janda J., Valárik M., Hřibová E., Bartoš J., Doleželová M., Šafář J., Šimková H.: Physical mapping and comparative karyotype analysis in <i>Musa</i> . In: Abstracts of the 3 rd International Symposium on the Molecular and Cellular Biology of Banana. Pp. 16-17. Catholic University Leuven, Leuven, 2002.	-
282	Doležel J., Valárik M., Vrána J., Šafář J., Hřibová E., Gasmanová N., Van den Hoew I., Doleželová M., Swennen R., Šimková H.: Analysis of <i>Musa</i> genome using flow cytometry and molecular cytogenetics. In: Abstracts of the FAO/IAEA 4 th Research Co-ordination Meeting on Cellular Biology and Biotechnology Including Mutation Techniques for Creation of New Useful Banana Genotypes. <i>Infomusa</i> 11 (Promusa 9): 16 – 17, 2002.	-
283	Eliáš M., Potocký M., Cvrčková F., Žárský V.: Molecular diversity of phospholipase D in angiosperms. <i>BMC Genomics</i> 3: art. no.2, 1-15, 2002.	-
284	Franěk F., Strnad M., Havlíček L., Siglerová V.: Antiproliferative and growth-stimulating activities of synthetic cytokinin analogs. In: Shirata, S., et al. (eds.), Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects. Vol. 12. Kluwer Acad. Publ., The Netherlands, pp. 315-319, 2002.	-
285	Haisel D., Tichá I.: The effect of irradiance on growth parameters and photosynthetic pigments content during acclimatization of micropropagated plants to ex vitro. In: Zima, M., Černá, K. (ed.): Ecophysiology on Plant Stress, pp. 88-89. SPU, Nitra 2002.	-
286	Krekule J., Čulafić L.: Control of flowering : past and present with special consideration of photoperiodism and phytohormones. In : Quarrie, A., Krstić, B. and V. Janjić (eds): Plant Physiology in the New Millennium. Pp. 77-84, Vizartis, Belgrade, 2002.	-
287	Malá J., Cvrčková H., Březinová A., Hrubcová M., Eder J., Vágner M., Cvikrová M.: Endogenous contents of phytohormones and phenylpropanoids in sessile oak somatic embryos in relation to their conversion potential. Polyphenols Communications, pp. 47-49, Marrakech-Morocco, 2002.	-
288	Matucha M., Uhlířová H.: Volatile chlorinated hydrocarbons and forest decline. <i>Biol. Listy</i> 67: 161-176, 2002.	-
289	Ohnoutková L., Mullerová E., Vagera J., Martinek P.: Anther culture response of <i>Triticum</i> (<i>Triticum</i> Ascherson et Graebner) and its comparison with wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) and barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.) Proceedings of "Triticeae 4 th International Symposium 2001, Cordoba, Spain, September 10-12., pp. 269 – 271, 2002.	-
290	Ondřej V., Navrátilová B., Tarkowski P., Doležal K., Lebeda A.: <i>In vitro</i> pollination as a tool of overcoming crossing barriers between <i>Cucumis sativus</i> L. and <i>Cucumis melo</i> L. <i>Acta Fac. Rerum Nat. Univ. Comenianae Bot.</i> 41: 81-88, 2002.	-

291	Pospíšilová J., Vágner M.: Vliv kyseliny abscisové a benzyladeninu na rychlost fotosyntézy a transpirace a na vodivost průduchů během vodního stresu. (Effect of abscisic acid and benzyladenine on photosynthetic and transpiration rates and stomatal conductance during water stress.. In: Hnilička F. (ed.): Vliv abiotických a biotických stresů na vlastnosti rostlin, pp. 106-110. ČZU, Praha 2002.	-
292	Pospíšilová J.: Can cytokinins interact with abscisic acid during regulation of stomatal opening? In: Zima, M., Černá, K. (ed.): Ecophysiology of Plant Stress. pp. 34-36, SPU, Nitra 2002.	-
293	Procházková D., Wilhelmová N.: Comparison of resistance to water stress of two wheat cultivars. <i>Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych</i> 2002: 217-221, 2002.	-
294	Roux N., Toloza A., Doležel J., Swennen R., Lepoivre P., Zapata-Arias F.J.: Usefulness of embryogenic cell suspension for the induction and selection of mutants in <i>Musa</i> spp. In: Abstracts of the FAO/IAEA 4 th Research Co-ordination Meeting on Cellular Biology and Biotechnology Including Mutation Techniques for Creation of New Useful Banana Genotypes. <i>Infomusa</i> 11 (Promusa 9): 17 – 18, 2002.	-
295	Šafář J., Piffanelli P., Glaszmann J.C., Doležel J.: Construction of BAC library for the B genome of banana (<i>Musa balbisiana</i>). In: Abstracts of the 3 rd International Symposium on the Molecular and Cellular Biology of Banana, pp. 18-19, Catholic University Leuven, Leuven, 2002.	-
296	Šafář J.: Construction of BAC DNA libraries and their characterization using DNA markers. In: Proceedings of the workshop "The Use of Molecular Markers in Plant Biology, Breeding and Germplasm Conservation. Pp. 197-204. Agritec, Ltd., Šumperk, 2002 (in Czech).	-
297	Uhlířová H., Matucha M., Forczek S.T.: Účinky chloroctových kyselin na smrk ztepilý (<i>Picea abies</i> /L./ Karst.) <i>Zprávy lesnického výzkumu</i> 47, 16-20, 2002.	-
298	Valárik, M., Hřibová, E., Alkhimova, O., Bartoš, J., Doleželová, M., Šafář, J., Janda, J., Šimková, H., Doležel, J.: Repetitive DNA sequences and karyotype evolution in the genus <i>Musa</i> . In: Abstracts of the 3 rd International Symposium on the Molecular and Cellular Biology of Banana, pp. 20-21. Catholic University Leuven, Leuven, 2002.	-

2003 + přijaté práce v tisku:

IMPAKTOVANÉ ČASOPISY:

č.	cítace	IF 2002
299	Binarová P., Cenklová V., Sulimenko V., Dryková D., Volc J., Dráber P.: Distribution of gamma-tubulin in cellular compartments of higher plant cells. <i>Cell Biol. Int.</i> 27(3): 167-169, 2003.	1.017
300	Blagoeva E., Malbeck J., Gaudinová A., Vaněk T., Vaňková R.: Cyclin-dependent kinase inhibitor, roscovitine, in combination with exogenous cytokinin, N-6-benzyladenine, causes increase of cis-cytokinins in immobilized tobacco cells. <i>Biotechnol. Lett.</i> 25(6): 469-472, 2003.	0.802
301	Burketová L., Štillerová K., Feltlová M.: Immunohistological localization of chitinase and β -1,3-glucanase in rhizomania-diseased and benzothiadiazole treated sugar beet roots. <i>Physiol. Molec. Plant Pathol.</i> (in press)	1.634

302	Burketová L., Štillerová K., Feltlová M., Šindelářová M.: Immunohistological analysis of chemically induced proteins in sugar beet. <i>Biol. Plant.</i> 47: 243-251, 2003/2004.	0.583
303	Cenklová V., Binarová P., Havel L.: Actin distribution in mitotic apparatus of Norway spruce (<i>Picea abies</i> (L.) Karst.) somatic embryos. <i>Biol. Plant.</i> 46 (2): 167-174, 2003.	0.583
304	Cvikrová M., Binarová P., Cenklová V., Eder J., Doležel J., Macháčková I.: Effect of 2-aminoindan-2-phosphonic acid on cell cycle progression in synchronous meristematic cells of <i>Vicia faba</i> roots. <i>Plant Sci.</i> 164(5): 823-832, 2003.	1.556
305	Cvikrová M., Malá J., Hrubcová M., Eder J., Zoň J., Macháčková I.: Effect of inhibition of biosynthesis of phenylpropanoids on sessile oak somatic embryos. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> 41(3): 251-259, 2003.	1.582
306	Červenková K., Belejová M., Chmela Z., Rypka M., Riegrová D., Michnová K., Michalíková K., Surová I., Brejcha A., Hanuš J., Černý B., Fuksová K., Havlíček L., Veselý J.: <i>In vitro</i> glycosidation potential towards olomoucine-type cyclin-dependent kinase inhibitors in rodent and primate microsomes. <i>Physiol. Res.</i> 52 (4): 467-474, 2003.	0.984
307	Čeřovská N., Moravec T., Rosecká P., Dědič P., Filigarová M.: Production of polyclonal antibodies to a recombinant coat protein of potato mop-top virus (PMTV). <i>J. Phytopathol.</i> 151(4): 195-200, 2003.	0.567
308	Čeřovská N., Moravec T., Rosecká P., Filigarová M., Pečenková T.: The nucleotide sequences of the coat protein coding regions of six <i>Potato mop-top virus</i> (PMTV) isolates. <i>Acta Virologica</i> 47(1): 37-40, 2003.	0.660
309	Doležel J., Bartoš J., Voglmayer H., Greilhuber J.: Nuclear DNA content and genome size of trout and human. <i>Cytometry</i> 51: 127-128, 2003.	1.933
310	Doležel J., Carter N.P., Ferguson-Smith M.: Chromosomes go with the flow. <i>Chrom. Res.</i> (in press).	1.828
311	Doležel J., Kubaláková M., Bartoš J., Macas J.: Flow cytogenetics and plant genome mapping. <i>Chrom. Res.</i> (in press)	1.828
312	Dryková D., Cenklová V., Sulimenko V., Volc J., Dráber P., Binarová P.: Plant γ -tubulin interacts with α -, β -tubulin dimers and forms membrane associated complexes. <i>Plant Cell</i> 15(2): 465-480, 2003.	10.751
313	Eliáš M., Drdová E., Žiak D., Bavlnka B., Hála M., Cvrčková F., Soukupová H., Žárský V.: The exocyst complex in plants. <i>Cell Biol. Int.</i> 27(3): 199-201, 2003.	1.017
314*	Fellner M., Horton L.A., Cocke A.E., Stephens N.R., Ford E.D., Van Volkenburgh E.: Light interacts with auxin during leaf elongation and leaf angle development in young corn seedlings. <i>Planta</i> 216: 366-376, 2003.	2.960
315	Filek M., Biesaga-Koscielniak J., Marcinska I., Krekule J., Macháčková I., Dubert F.: The effects of electric current on flowering of grafted of non-vernalized winter rape. <i>Biol. Plant.</i> 46(4): 625-628, 2003.	0.583

316	Franěk F., Eckschlager T., Katinger H.: Enhancement of monoclonal antibody production by lysine-containing peptides <i>Biotechnol. Progr.</i> 19(1): 169-174, 2003.	1.734
317	Franěk F., Eckschlager T., Kohout L.: 24-Epibrassinolide at subnanomolar concentrations modulates growth and production characteristics of a mouse hybridoma. <i>Collect. Czech Chem. Commun.</i> 68(11): 2190-2200, 2003.	0.848
318	Gichner T.: DNA damage induced by indirect and direct acting mutagens in catalase-deficient transgenic tobacco. Cellular and acellular Comet assays. <i>Mutation Res.</i> 535(2): 187-193, 2003.	1.636
319	Gichner T., Patková Z., Kim J.K.: DNA damage measured by the Comet assay in eight agronomic plants. <i>Biol. Plant.</i> 47(2): 185-188, 2003/2004.	0.583
320	Gichner T.: Differential genotoxicity of ethyl methanesulphonate, N-ethyl-N-nitrosourea and maleic hydrazide in tobacco seedlings based on data of the Comet assay and two recombination assays. <i>Mutat. Res. – Genet. Toxicol. Env. Mutag.</i> 538(1-2): 171-179, 2003.	1.636
321	Honys D., Twell D.: Comparative analysis of <i>Arabidopsis</i> pollen transcriptome. <i>Plant Physiol.</i> 132(2): 640-652, 2003.	5.800
322	Kamínek M., Trčková M., Fox J.E., Gaudinová A.: Comparison of cytokinin-binding proteins from wheat and oat grains. <i>Physiol. Plant.</i> 117(4): 453-458, 2003.	1.565
323	Kirschner J., Štěpánek J., Mes T.H.M., den Nijs J.C.M., Oosterveld P., Štorchová H., Kuperus P.: Principal features of the cpDNA evolution in <i>Taraxacum</i> (Asteraceae, Lactuceae): a conflict with taxonomy. <i>Plant Syst. Evol.</i> 239(3-4): 231-255, 2003.	1.114
324	Kolář J., Johnson C.H., Macháčková I.: Exogenously applied melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) affects flowering of the short-day plant <i>Chenopodium rubrum</i> L.. <i>Physiol. Plant.</i> 118(4): 605-612, 2003.	1.565
325	Kubaláková M., Valárik M., Bartoš J., Vrána J., Číhalíková J., Molnár-Láng M., Doležel J.: Analysis and sorting of rye (<i>Secale cereale</i> L.) chromosomes using flow cytometry. <i>Genome</i> 46: 893-905, 2003.	1.815
326	Lalanne E., Honys D., Johnson A., Borner G., Dupree P., Grossniklaus U., Twell D.: AtPIGC and AtPIGA, two components of the glycosylphosphatidylinositol anchor biosynthetic pathway, are required for pollen germination and tube growth in <i>Arabidopsis</i> . <i>Plant Cell</i> 2003, (accepted).	10.751
327	Laukens K., Lenobel R., Strnad M., Van Onckelen H., Witters E.: Cytokinin affinity purification and identification of a tobacco BY-2 adenosine kinase. <i>FEBS Lett.</i> 533(1-3): 63-66, 2003.	3.912
328	Lexa M., Genkov T., Malbeck J., Macháčková I., Brzobohatý B.: Dynamics of endogenous cytokinin pools in tobacco seedlings: a modeling approach. <i>Ann. Bot.</i> 91: 585-597, 2003.	1.476
329	Kuthanová A., Gemperlová L., Zelenková S., Eder J., Macháčková I., Opatrný Z., Cvikrová M.: Cytological changes and alterations in polyamine contents induced by cadmium in tobacco BY-2 cells. <i>Plant Physiol. Biochem.</i> (accepted)	1.582

330	Mandák B., Pyšek P., Lysák M., Suda J., Krahulcová A., Bímová K.: Variation in DNA-ploidy levels of <i>Reynoutria taxa</i> in the Czech Republic. <i>Ann. Bot.</i> 92(2): 265-272, 2003.	1.476
331	Matsunaga S., Isono E., Kejnovský E., Vyskot B., Doležel J., Kawano S., Charlesworth D.: Duplicative transfer of a MADS box gene to a plant Y chromosome. <i>Mol. Biol. Evol.</i> 20(7): 1062-1069, 2003.	5.271
332	Matucha M., Forczek S.T., Gryndler M., Uhlířová H., Fuksová K., Schroder P.: Trichloroacetic acid in Norway spruce/soil-system I. Biodegradation in soil. <i>Chemosphere</i> 50(3): 303-309, 2003.	1.461
333	Moravcová D., Kryštof V., Havlíček L., Moravec J., Lenobel R., Otyepka M., Strnad M.: Pyrazolo[4,3-d]pyrimidines as new generation of cyclin-dependent kinase inhibitors. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 13(18): 2989-2992, 2003.	2.051
334	Moravec J., Kryštof V., Hanuš J., Havlíček L., Moravcová D., Fuksová K., Kuzma M., Lenobel R., Otyepka M., Strnad M.: 2,6,8,9-Tetrasubstituted purines as new CDK1 inhibitors. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 13(18): 2993-2996, 2003.	2.051
335	Moravec T., Čeřovská N., Boonham N.: The detection of recombinant, tuber necrosing isolates of Potato virus Y (PVYNTN) using a three-primer PCR based in the coat protein gene. <i>J. Virol. Meth.</i> 109: 63-68; 2003.	1.938
336	Motyka V., Vaňková R., Čapková V., Petrášek J., Kamínek M., Schmulling T.: Cytokinin-induced upregulation of cytokinin oxidase activity in tobacco includes changes in enzyme glycosylation and secretion. <i>Physiol. Plant.</i> 117(1): 11-21, 2003.	1.565
337	Naganowska B., Doležel J., Świecicki W.K.: Development of molecular cytogenetics and physical mapping of ribosomal RNA genes in <i>Lupinus</i> . <i>Biol Plant.</i> 46(2): 211-215, 2003.	0.583
338	Novák J., Vlasáková V., Tykva R., Ruml T.: Degradation of juvenile hormone analog by soil microbial isolate. <i>Chemosphere</i> 52: 151-159, 2003.	1.461
339	Novák O., Tarkowski P., Tarkovská D., Doležal K., Lenobel R., Strnad M.: Quantitative analysis of cytokinins in plants by liquid chromatography/single quadrupole mass spectrometry. <i>Anal. Chimica Acta</i> 480(2): 207-218, 2003.	2.114
340	Novotná Z., Hynek R., Martinec J., Potocký M., Valentová O.: Plant PIP2-dependent phospholipase D activity is regulated by phosphorylation. <i>FEBS Lett.</i> 554(1-2): 50-54, 2003.	3.912
341	Novotná Z., Martinec J., Profotová B., Žďárová Š., Kader J.-C., Valentová O.: <i>In vitro</i> distribution and characterization of membrane associated PLD and PI-PLC in <i>Brassica napus</i> . <i>J. Exp. Bot.</i> 54: 691-698, 2003.	2.852
342	Palomino G., Doležel J., Méndez I., Rubluo A.: Nuclear genome analysis in <i>Agave tequilana</i> Weber through flow cytometry. <i>Caryologia</i> 56(1): 37-46, 2003.	0.267
343	Pechová R., Kutík J., Holá D., Kocová M., Haisel D., Vičánková A.: The ultrastructure of chloroplasts, content of photosynthetic pigments, and photochemical activity of maize (<i>Zea mays</i> L) as influenced by different concentrations of the herbicide amitrole. <i>Photosynthetica</i> 41(1): 127-136, 2003.	0.773
344	Petrášek J., Černá A., Schwarzerová K., Elčknér M., Morris D.A., Zažímalová E.: Do Phytotropins Inhibit Auxin Efflux by Impairing Vesicle Traffic? <i>Plant Physiol.</i> 131: 254-263, 2003.	5.800

345	Pokorná J., Schwarzerová K., Zelenková S., <u>Petrášek J.</u>, Janotová I., <u>Čapková V.</u>, Opatrný Z.: Sites of actin filament initiation and re-organization in cold-treated tobacco cells. <i>Plant Cell Environ.</i> , in press 2004.	3.015
346	Pospíšilová J.: Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. <i>Biol. Plant.</i> 46(4): 491-506, 2003.	0.583
347	Pospíšilová J.: Interaction of cytokinins and abscisic acid during regulation of stomatal opening in bean leaves. <i>Photosynthetica</i> 41: 49-56, 2003.	0.773
348	Potocký M., Eliáš M., Novotná Z., Profotová B., Valentová O., <u>Žárský V.</u>: Phosphatidic acid produced by PLD is necessary for pollen tube growth. <i>Planta</i> 217(1): 122-130, 2003.	2.960
349	Procházková, D., <u>Wilhelmová, N.</u>: Changes in antioxidative protection in bean cotyledons during natural and continuous irradiation-accelerated senescence. <i>Biol. Plant.</i> 48: accepted, 2004	0.583
350	Roman B., Satovic Z., Požárková D., Macas J., <u>Doležel J.</u>, Cubero J.I., Torres A.M.: Development of a composite map in <i>Vicia faba</i> , breeding applications and future prospects. <i>Theor. Appl. Genet.</i> (in press).	2.264
351	Roux N., Toloza A., Radecki Z., Zapata-Arias F.J., <u>Doležel J.</u>: Rapid detection of aneuploidy in <i>Musa</i> using flow cytometry. <i>Plant Cell Rep.</i> 21: 483-490, 2003.	1.340
352	Ryšlavá H., Muller K., <u>Semorádová Š.</u>, Synková H., <u>Čeřovská N.</u>: Photosynthesis and activity of phosphoenolpyruvate carboxylase in <i>Nicotiana tabacum</i> L. leaves infected by <i>Potato virus A</i> and <i>Potato virus Y</i> . <i>Photosynthetica</i> (in press)	0.773
353	Sáenz L., Jones L.H., Oropeza C., Vláčil D., <u>Strnad M.</u>: Endogenous isoprenoid and aromatic cytokinins in different plant parts of <i>Cocos nucifera</i> (L.). <i>Plant Growth Regul.</i> 39(3): 205-211, 2003.	0.850
354	San Martin A.P.M., Adamec L., Suda J., Mes T.H.M., <u>Štorchová H.</u>: Genetic variation within the endangered species <i>Aldrovanda vesiculosa</i> (Droseraceae) as revealed by RAPD analysis. <i>Aquatic Bot.</i> 75(2): 159-172, 2003.	1.014
355	Schröder P., <u>Matucha M.</u>, <u>Forczek S.T.</u>, Uhlířová H., Fuksová K., <u>Albrechtová J.</u>: Uptake, translocation and fate of trichloroacetic acid in Norway spruce/soil system. <i>Chemosphere</i> 52(2): 437-442, 2003.	1.461
356	Schwarzerová K., Pokorná J., <u>Petrášek J.</u>, Zelenková S., <u>Čapková V.</u>, Janotová I., Opatrný Z.: The structure of cortical cytoplasm in cold-treated tobacco cells: the role of the cytoskeleton and the endomembrane system. <i>Cell Biol. Int.</i> 27(3): 263-265, 2003.	1.017
402	Stirk W.A., Novák O., <u>Strnad M.</u>, van Staden J.: Cytokinins in makroalgae. <i>Plant Growth Regul.</i> 41(1):13-24, 2003.	0.850
357	Strnad M., Kohout L.: Simple brassinolide analogue 2 α ,3 α -dihydroxy-17 β -(3methylbutyryloxy)-7-oxa-B-homo-5 α -androstane-6-one inducing the bean second internode splitting. <i>Plant Growth Regul.</i> 40(1): 39-47, 2003.	0.850

358	Sun J., Niu Q.W., Tarkowski P., Zheng B., Tarkowská D., Sandberg G., Chua N.-H., Zuo J.: The <i>Arabidopsis AtIPT8/PGA22</i> gene encodes an isopentenyltransferase that is involved in <i>de novo</i> cytokinin biosynthesis. <i>Plant Physiol.</i> 131: 167-176, 2003.	5.800
359	Synková H., Pechová R., Valcke R.: Changes in the chloroplast structure in PSSU-ipt tobacco during plant ontogeny. <i>Photosynthetica</i> 41: 117-126, 2003.	0.773
360	Šimková H., Čihalíková J., Vrána J., Lysák M., Doležel J.: Preparation of high molecular weight DNA from plant nuclei and chromosomes isolated from root tips. <i>Biol. Plant.</i> 46(3): 369-373, 2003.	0.583
361	Šindelář L., Šindelářová M.: Hexokinases of tobacco leaves: changes in the cytosolic and non-cytosolic isozyme complexes induced by tobacco mosaic virus infection. <i>Biol. Plant.</i> 47: 413-419, 2003/2004.	0.583
362	Šindelářová M., Šindelář L.: Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase, ribonucleases and esterases and content of viruses in potato virus Y infected tobacco superinfected with tobacco mosaic virus. <i>Biol. Plant.</i> 47: 99-104, 2003/2004.	0.583
363	Šindelářová M., Šindelář L.: Influence of antiviral factor on tobacco mosaic virus RNA biosynthesis in tobacco. <i>Biol. Plant.</i> 46(1): 95-100, 2003.	0.583
364	Tarkowská D., Doležal K., Tarkowski P., Ástot C., Schmölling T., Holub J., Fuksová K., Sandberg G., Štrnad M.: Identification of new aromatic cytokinins in <i>Arabidopsis thaliana</i> , poplar leaves and <i>Agrobacterium tumefaciens</i> strains by LC-(+)ESI-MS and capillary liquid chromatography/frit - fast atom bombardment mass spectrometry. <i>Physiol. Plant.</i> 117(4): 579-590, 2003.	1.565
365	Tarkowská D., Kotouček M., Doležal K.: Electrochemical reduction of 6-benzylaminopurine at mercury electrodes and its analytical application. <i>Coll. Czechoslovak Chem. Comm.</i> 68(6): 1076-1093, 2003.	0.848
366	Trávníček B., Lysák M.A., Čihalíková J., Doležel J.: Karyo-taxonomic study of the genus <i>Pseudolysimachion</i> (<i>Scrophulariaceae</i>) in the Czech Republic and Slovakia. <i>Folia Geobot.</i> (in press).	0.564
367	Trávníček Z., Maloň M., Zatloukal M., Doležal K., Štrnad M., Marek J.: Mixed ligand complexes of platinum(II) and palladium(II) with cytokinin-derived compounds Bohemine and Olomoucine: X-ray structure of [Pt(BohH(+)-N7)Cl-3]center dot 9/5H(2)O {Boh=6-(benzylamino)-2-[(3-(hydroxypropyl)-amino]-9-isopropylpurine, Bohemine} <i>J. Inorg Biochem.</i> 94: (4) 307-316, 2003.	2.204
368	Tykva R., Šimek P., Benetová B., Holík J., Hlaváček J., Havlíček L.: Comparison for following the metabolism of oostatic peptides in <i>Neobellieria bullata</i> by mass spectrometry and radiolabelling. <i>Coll. Czechoslovak Chem. Comm.</i> (in press)	0.848
369	Tykva R., Vlasáková V., Novák J., Havlíček L.: RadioHPLC for ecotoxicity assessment of insect growth regulators. <i>J. Chromatography A</i> (in press)	3.098
370	Überal I., Vrána J., Bartoš J., Šmerda J., Doležel J., Havel L.: Isolation of chromosomes from <i>Picea abies</i> L. and their analysis by flow cytometry. <i>Biol. Plant.</i> (in press).	0.564

371	Vagera J., Novotný J., Ohnoutková L.: Induced androgenesis <i>in vitro</i> in mutated populations of barley, <i>Hordeum vulgare</i> L. <i>Plant Cell, Tissue Org. Cult.</i> (in press) 2003	0.632
372	Valárik M., Bartoš J., Kovářová P., Kubaláková M., de Jong J.H., Doležel J.: High-resolution FISH of super-stretched flow sorted plant chromosomes. <i>Plant J.</i> (in press)	5.850
373	Veach Y., Martin R.C., Mok D.W.S., Malbeck J., Vaňková R., Mok M.C.: O-glukosylation of <i>cis</i> -zeatin in maize: characterization of genes, enzymes, and endogenous cytokinins. <i>Plant Physiol.</i> 131: 1374-1380, 2003.	5.800
374	Vomáčka L., Pospíšilová J.: Rehydration of sugar beet plants after water stress: effect of cytokinins. <i>Biol. Plant.</i> 46(1): 57-62, 2003.	0.583
375	Werner T., Hanuš J., Holub J., Schmölling T., van Onckelen H., Strnad M.: New cytokinin metabolites in ipt transgenic <i>Arabidopsis thaliana</i> plants. <i>Physiol. Plant.</i> 118(1): 127-137, 2003.	1.565
376	Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., van Onckelen H., Schmölling T.: Cytokinin-deficient transgenic <i>Arabidopsis</i> plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in regulating shoot and root meristem activity. <i>Plant Cell</i> 15: 2532-2550, 2003.	10.751
377	Zažímalová E., Napier R.: Points of regulation for auxin action. <i>Plant Cell Rep.</i> 21(7): 625-634, 2003.	1.340
378	Zonia L., Feijó J.A.: State and spectral properties of chloride oscillations in pollen. <i>Biophys. J.</i> 84(2): 1387-1398, 2003.	4.643

OSTATNÍ:

379	Blagoeva E., Dobrev P. I., Vaňková R.: Inhibition of cytokinin-glucose conjugation in derooted radish, tobacco and bean seedlings. <i>Bulg. J. Plant Physiol.</i> 29: (1-2), in press.	-
380	Coufal D., Matucha P., Uhlířová H., Lomský B., Forczek S.T., Matucha M.: GUHA analysis of coniferous forest damage: Effects of trichloroacetic acid, sulphur, fluorine and chlorine on needle loss of Norway spruce. <i>Neural Network World</i> 13: 89-102, 2003.	-
381	Dobrev P.I., Motyka V.: Stanovení aktivity cytokininoxidasy/dehydrogenasy v rostlinách pomocí HPLC spojené s průtokovým radioaktivním detektorem. (In Czech) <i>Biol. listy</i> 68: 163-166, 2003.	-
382	Doležel J., Kubaláková M., Vrána J., Bartoš J.: Flow cytogenetics. In: Goodman R.M. (ed.): <i>Encyclopedia of Plant and Crop Science</i> . Marcel Dekker Inc., New York (in press)	-
383	Doležel J., Macas J., Lysák M., Neumann P., Kubaláková M., Nouzová M., Šimková H., Koblížková A., Požárková D., Číhalíková J., Lucretti S.: Sorting of Plant Chromosomes and Construction of Chromosome-Specific DNA Libraries. In: Speel, E.J.M. and Hopman, A.H.N. (eds.): <i>Chromosome Analysis Protocols</i> , Humana Press, Totowa, USA (in press).	-
384	Doležel J., Šafář J., Janda J., Bartoš J., Kubaláková M., Číhalíková J., Šimková H., Sourdille P., Bernard M., Chalhou B.: Development of flow cytogenetics for wheat genome mapping. In: <i>Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium</i> . Pp. 65-68. Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, 2003.	-

385	Galbraith D.W., Bartoš J., Doležel J.: Flow cytometry and cell sorting in plant biotechnology. In: Sklar L.A. (ed.): Flow Cytometry in Biotechnology. Oxford Univ. Press, Inc., New York (in press)	-
386	Gaudinová A., Vaňková R., Dobrev P.I., Motuyka V.: Extrakce a stanovení aktivity cytokinin N- a O-glukosyltransferas v rostlinných pletivech. (In Czech) Biol. Listy 68: 176-179, 2003.	-
387	Genkov T., Vágner M., Dubová J., Malbeck J., Moore I., Brzobohatý B.: Increased ethylene production can account for some of the phenotype alterations accompanying activation of a cytokinin biosynthesis gene, during germination and early seedling development in tobacco. In: Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III, Eds.: Vendrell M., Klee H., Pech J.C., Romojaro F., Proc. of the NATO Advanced Workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene, 23-27 April 2002, IOS Press, Amsterdam, 2003.	-
388	Honys D., Twell D.: Male gametophyte. In Goodman R.M. (ed.): Encyclopedia of Plant and Crop Science, Marcell Dekker Inc., New York, USA (in press)	-
389	Chalhoub B., Allouis S., Šafář J., Janda J., Bellec A., Sarda X., Arar C., Lefèvre A., Rouault P., Pateyron S., Dupin A., Burgio G., Georget C., Sourdille P., Faivre-Rampant, Caboche M., Moore G., Bernard M., Doležel J.: Towards precise analysis of the wheat genome: preparation of genomic resources for structural and functional characterization. In: Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium. Pp. 229-233. Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Rome, 2003.	-
390	Kolář J., Macháčková I.: Diurnal rhythms in plants and melatonin. In: Macháčková I., Romanov G.A. (eds.), Phytohormones in Plant Biotechnology and Agriculture. Proc. of the NATO - Russia Workshop, May 2002, Moscow, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 79-87 (in press)	-
391	Krinke O., Novotná Z., Valentová O., Martinec J.: Fluorimetrická metoda pro <i>in vitro</i> měření ligandem otevíraných iontových kanálů pro Ca ²⁺ v rostlinách. <i>Biol. listy</i> 68(3): 195-199, 2003.	-
392	Lebeda, A., Doležalová, I., Dziechciarková, M., Doležal, K., Frček, J.: Morphological variability and isozyme polymorphisms in maca and yacon. <i>Czech J. Genet. Plant Breed.</i> 39: 1-8, 2003.	-
393	Matucha M., Gryndler M., Forczek S.T., Uhlířová H., Fuksová K., Schröder P.: Chloroacetic acids in environmental processes. <i>Environ. Chem. Letters</i> 1,127-130,2003.	-
394	Morris D.A., Friml J., Zažímalová E.: The transport of auxins. In Davies P.J. (ed): <i>Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!</i> New edition. Kluwer Acad. Publ., NY. (in press).	-
395	Morris D.A., Zažímalová E.: Physiological and molecular genetic aspects of auxin transport: recent developments. In: Macháčková I., Romanov G.A. (eds): <i>Phytohormones in Plant Biotechnology and Agriculture</i> . Kluwer Acad. Publ. In press 2003.	-
396	Pejchar P., Valentová O., Martinec J.: Stanovení aktivit rostlinných fosfolipas <i>in situ</i> s využitím fluorescenčně značených substrátů. <i>Biol. listy</i> 68(3): 227-234, 2003.	-
397	Pospíšilová J., Dodd I.C.: Role of plant growth regulators in stomatal limitation of photosynthesis during water stress. In: Pessaraki, M. (ed.): <i>Handbook of Photosynthesis</i> , Second Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, New York, in press.	-

398	Uhlířová H., Novotný R., Matucha M.: Projevy poškození lesních dřevin pod vlivem abiotických stresů. Seminář „Vliv abiotických a biotických stresů na vlastnosti rostlin“, Výzk. úst. rostlinné výroby a ČZU Praha, 8.10.2003, Sborník přednášek, str. 76-89, 2003.	-
399	Vágner M., Fischerová L., Špačková J., Vondráková Z.: Somatic embryogenesis of Norway spruce. In: Protocols of Somatic Embryogenesis – Woody Trees, Eds. Jain S.M., Gupta P.K., Kluwer Acad. Publ. (in press)	-
400	Vaňková R., Gaudinová A.: Využití dvojrozměrné fluorescenční spektroskopie pro stanovení množství a viability buněk tabáku. <i>Biol. listy</i> 68(3): 250-253, 2003.	-
401	Zažimalová E., Petrášek J., Morris D.A.: The dynamics of auxin transport in tobacco cells. <i>Bulg. J. Plant Physiol., Spec. Iss.</i> , 207-224, 2003.	-

* - označuje práce M. Fellnera, které publikoval během zahraničního studijního pobytu a kde není uvedena adresa ÚEB (v soupisu jsou uvedeny proto, že na ně navazuje další výzkum v ÚEB)

PATENTY A LICENCE UDĚLENÉ V LETECH 1999-2003:

patenty:

FUKSOVÁ, K., HAVLÍČEK, L., KRYŠTOF, V., LENOBEL, R., STRNAD, M.: Azapurine derivatives. PO12166GB NJN.

HANUŠ, J., KRYŠTOF, V., HAJDÚCH, M., VESELÝ, J., STRNAD, M.: Substituted nitrogen heterocyclic derivatives and pharmaceutical use thereof. WO 00/43394.

DOLEŽAL, K., POPA, I., HOLUB, J., LENOBEL, R., WERBROUCK, S., STRNAD, M.: Heterocyclic derivatives on the basis of N⁶-substituted adenine, methods of their preparation, these derivatives for use as drugs, cosmetic preparations and growth regulators. PV 2001-2818.

HAVLÍČEK, L., KRYŠTOF, V., SIGLEROVÁ, V., LENOBEL, R., VAN ONCKELEN, H., RERNEMAN, Z., SLEGGERS, H., ESMANS, E., STRNAD, M., WERMEULEN, K.: Purine derivatives, process for their preparation and use thereof. WO 01/49688.

MORAVCOVÁ, D., HAVLÍČEK, L., LENOBEL, R., KRYŠTOF, V., STRNAD, M.: Novel pyrazolo-pyrimidine derivatives with antiinflammatory, anticancer, immunosuppressive and neurogenerative properties and their use thereof. EP 24128-099.

MORAVCOVÁ, D., HAVLÍČEK, L., LENOBEL, R., KRYŠTOF, V., STRNAD, M.: Disubstituted pyrazolo-pyrimidine derivatives with CDK inhibitory activity and their use thereof. EP 37456-099.

DOLEŽAL, K., POPA, I., ZATLOUKAL, M., LENOBEL, R., HRADECKÁ, D., VOJTĚŠEK, B., ULDRIJAN, S., MLEJNEK, P., WERBROUCK, S., STRNAD, M.: "Substituted derivatives of N⁶-adenosine, methods of their preparation, their use for preparation of drugs, cosmetic preparations and growth regulators, cosmetic preparations and growth regulators themselves containing them. PV 2002-4273

DOLEŽAL, K., POPA, I., HOLUB, J., LENOBEL, R., WERBROUCK, S., STRNAD, M.: "Heterocyclic compounds based on N⁶-substituted adenine. PCT/CZ02/00045

Patenty a licence na odrůdy jabloně vyšlechtěné v ÚEB:

Patenty:

Maďarsko – 3 rostlinné patenty: TOPAZ P 9800450; RAJKA P 9800585; RUBINOLA P 9800586

Šlechtitelská osvědčení (Plant Breeder's Rights) – obdoba rostlinných patentů udělována v souladu s "Mezinárodní konvencí o ochraně nových odrůd rostlin" vydanou mezinárodní organizací UPOV (Union internationale pour la protection des obtentions végétales):

Evropská unie – 5 certifikátů o udělení "Community Plant Variety Rights": RUBINOLA EU 5824; GOLDSTAR EU 7380; OTAVA EU 7381; RAJKA EU 8880; LENA EU 10713

Švýcarsko – 4 Plant Breeder's Rights: RUBINOLA 00.20.1293; OTAVA 01.20.1393; RAJKA 02.20.1474; GOLDSTAR 01.20.1394

Polsko – 4 Plant Breeders Rights: TOPAZ OS 00001; RUBINOLA OS 00002; RAJKA OS 00003; GOLDSTAR OS 00004

Slovenská republika – 4 šlechtitelská osvědčení s osvědčením o registraci odrůdy: OTAVA 4528; SVATAVA 4755; GOLDSTAR 5161; RAJKA 5169

Česká republika – 2 šlechtitelská osvědčení: BIOGOLDEN 647; LENA 54/2002

Licence - zahraniční (výlučné):

<i>stát</i>	<i>počet smluv</i>	<i>počet odrůd</i>	<i>rok udělení</i>
Belgie	1	1	1999
Nizozemí	2	7	2002,2003
Německo	3	3	2001,2003
Polsko	2	3	2000,2001
USA	1	1	1999
Velká Británie	1	1	2000
<i>celkem</i>	<i>10</i>	<i>16</i>	

Licence pro ČR (nevýlučné):

<i>stát</i>	<i>počet smluv</i>	<i>počet odrůd</i>	<i>rok udělení</i>
ČR	41	4	1999-2003