



**VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.**



**Metody analýzy DNA využívané ve Výzkumném
a šlechtitelském ústavu Holovousy**
RNDr. Jana Čmejlová, Ph.D.



1951 - Výzkumný ústav ovocnářský Holovousy

1997 - Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

2016 - Laboratorní komplement



Patogeny

- Zaveden systém managementu jakosti podle EN ISO/IEC 17025 pro detekci rostlinných patogenů molekulárně biologickými metodami – akreditace od Českého institutu pro akreditaci, o.p.s. v lednu 2017
- rozhodnutím Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (ÚKZÚZ) jsme referenční laboratoř pro diagnostiku fytoplazem proliferace jabloně a viru šarky švestky



Patogeny

- Zapojení do Národního ozdravovacího programu pro ozdravení rozmnožovacího materiálu (NOPRM) a získal pověření od ÚKZÚZ k provádění testování na přítomnost škodlivých organismů u ovocných druhů
- Komerční nabídka testování zdravotního stavu pro pěstitele a školkaře



Patogeny

- Metody testování: ELISA, RQ-PCR, RQ-RT-PCR, sekvenování
- Využití komerčně dodávaných kitů pro ELISA
- Vývoj vlastních detekčních kitů pro detekci pomocí PCR
- Fuzit: UV32879: Sada pro detekci virů SMYEV, SCV, SVBV, SMoV a SPV-1 v biologickém materiálu
- Fuzit: UV32045: Sada pro detekci virů LChV-1 a LChV-2 v biologickém materiálu
- Fuzit: UV31547: Sada pro detekci mutace G143A způsobující rezistenci ke QoI fungicidům

Diagnostické postupy	
Testování ELISA (komerční)	
PPV	Apple Pear Pear Virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
PDV	Peach dwarf virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
PSRV	Peach necrotic ring spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
ApMV	Apple mosaic virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
ACMV	Apple chlorotic leaf spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
CLRV	Cherry leaf roll virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
RpRV	Raspberry ring spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
SLRV	Strawberry ring spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
AMV	Apple mosaic virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
TRV	Tomato ring spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
Testování PCR (komerční)	
Conidial Phytophthora parasitica	EST (Phytophthora parasitica, meruňka, broskve)
Identifikační metoda	
Testování RT-PCR (komerční)	
LChV-1, -2	Little cherry virus 1, Little cherry virus 2
PPV	Apple Pear Pear Virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
PDV	Peach dwarf virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
PSRV	Peach necrotic ring spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
ApMV	Apple mosaic virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)
ACMV	Apple chlorotic leaf spot virus (virus apple pear virus, meruňka, broskve, vlny číselníku)

Patogeny

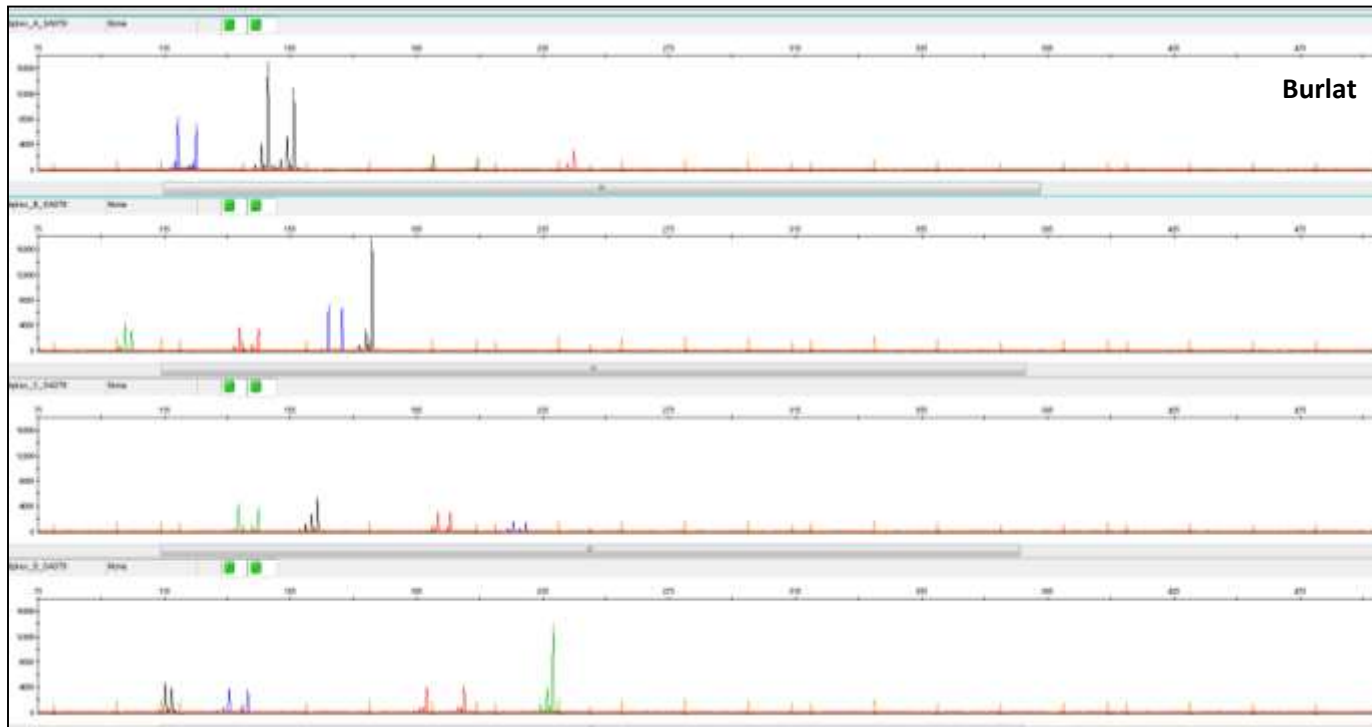
Řešené projekty:

- Název projektu: **Národní program udržitelnosti I.**
Trvání projektu: 1/2016-12/2020
Poskytovatel: MŠMT ČR
- Název projektu: **Výzkum rozšíření, biologických vlastností a škodlivosti virů identifikovaných v rostlinách jahodníku pomocí nejnovějších diagnostických metod (NGS, PCR) jako podklad pro přípravu legislativy**
Trvání projektu: 1/2019-12/2021
Poskytovatel: Národní agentura pro zemědělský výzkum (NAZV) MZe ČR
- Název projektu: **Identifikace příčin předčasného odumírání a jeho omezení při pěstování meruněk v ČR**
Trvání projektu: 1/2019-12/2021
Poskytovatel: Národní agentura pro zemědělský výzkum (NAZV) MZe ČR
- Název projektu: **Vývoj a validace souprav pro diagnostiku vybraných rostlinných virů**
Trvání projektu: 3/2019 – 2/2021
Poskytovatel: Technologická agentura České republiky



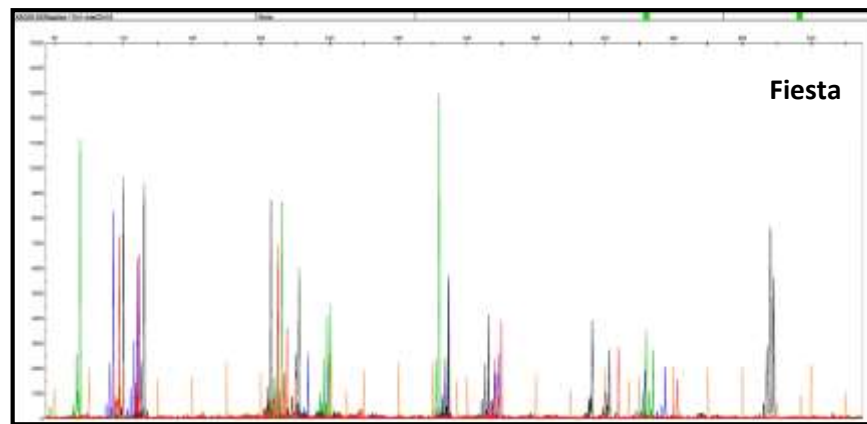
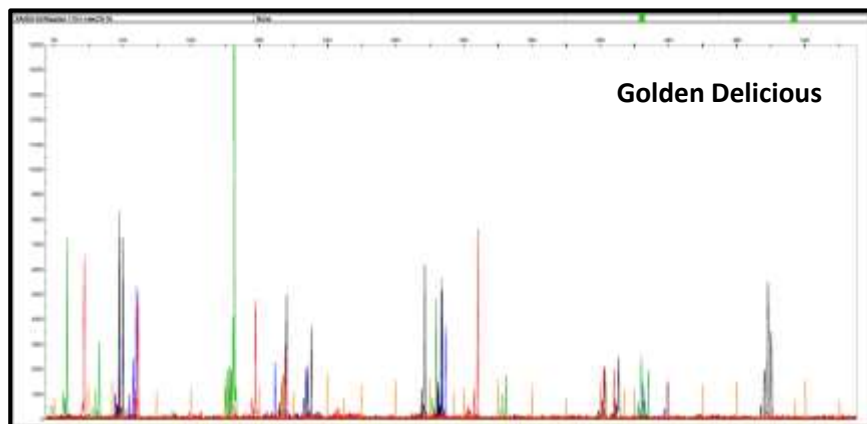
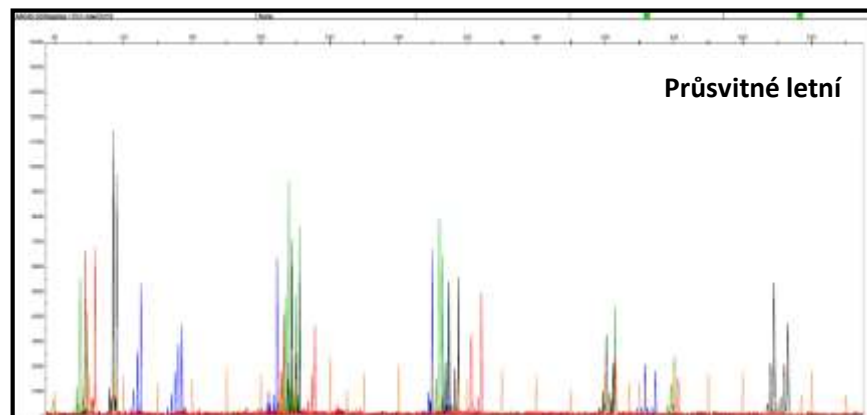
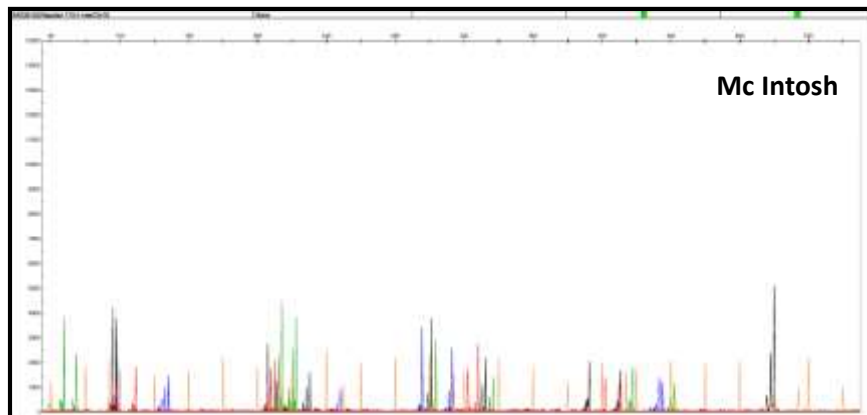
Genetika

- Identifikace rostlinného materiálu pomocí SSR markerů –
třešně, jabloně, meruňky – fragmentační analýza s
fluorescenčně značenými primery na genetickém analyzátoru



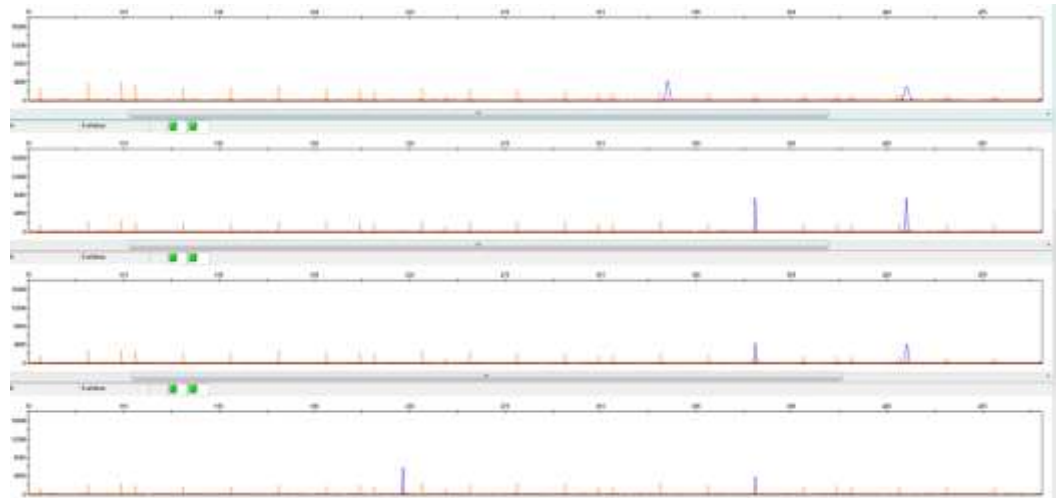
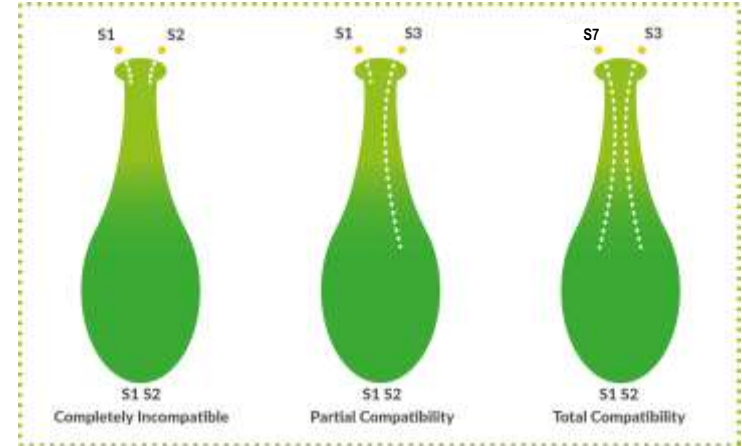
Genetika

- Vývoj sady primerů pro detekci 17 jablečných SSR markerů v jediné reakci – připravováno pro právní ochranu



Genetika

- Detekce cizosprašnosti/
samosprašnosti u třešní –
zodpovědné S-alely –
nerekombinující lokus obsahující
S-RNázu (pestíková část systému
inkompatibility) a SFB gen (pylová
část systému inkompatibility)

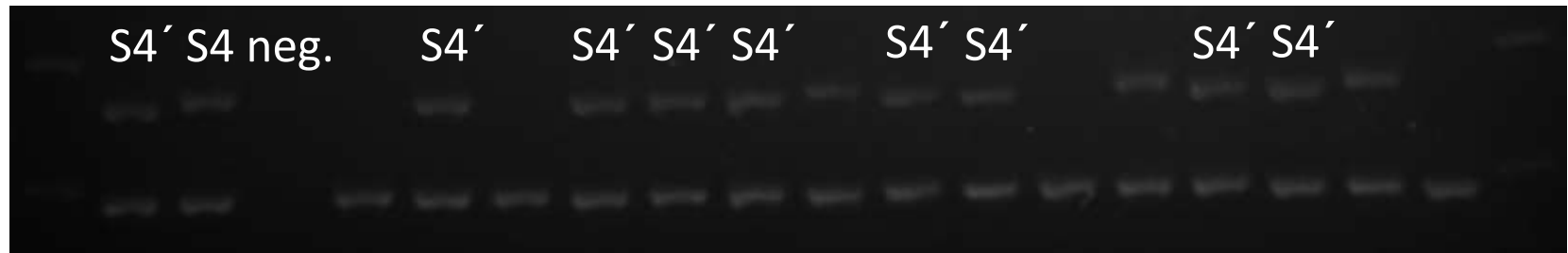


Genetika

- Detekce samosprašné alely S4' u třešní

S4/S4'

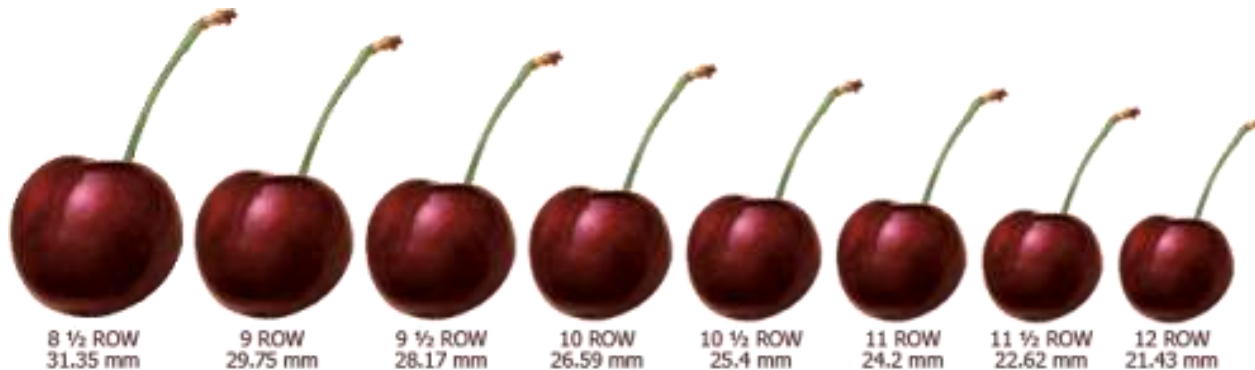
MGST



Genetika

Šlechtění asistované molekulárními markery u třešní:

- Barva třešní – alelická diskriminace (bodová delece v genu PavMyb10.1) metodou RQ-PCR
- Velikost plodů – fragmentační analýza SSR markerů asociovaných s QTL pro velikost plodů



Genetika

Šlechtění asistované molekulárními markery u jabloní:

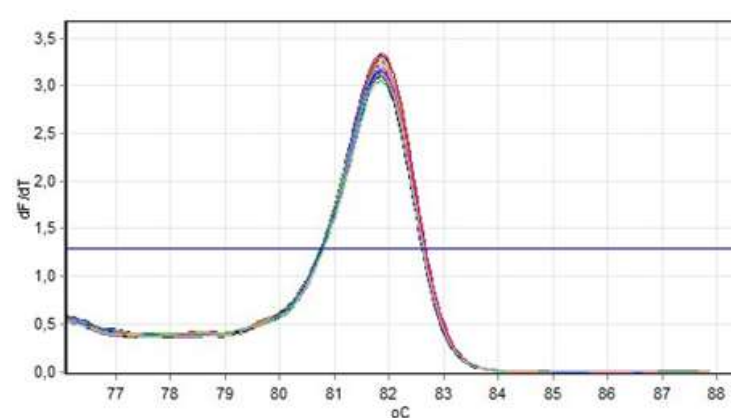
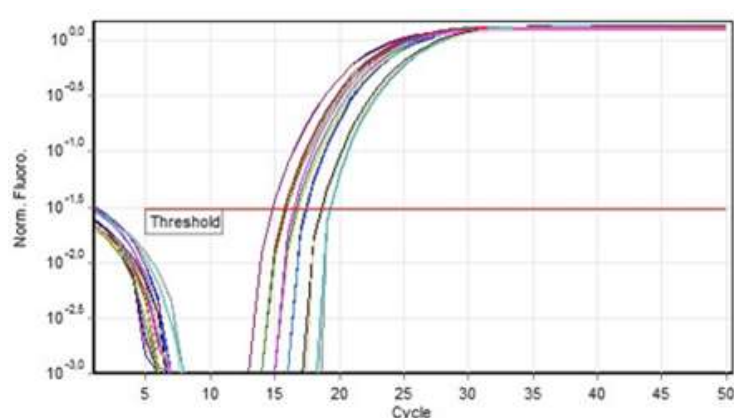
- Markery pro řadu genů – detekce založeny na principu PCR, PCR-RFLP, SSR a SNP

Co	Sloupcový růst
Rvi (2, 4, 6, 11, 12, 15)	Rezistence vůči <i>Venturia inaequalis</i> (strupovitost)
PI	Rezistence vůči padlí
FB	Rezistence vůči <i>Erwinia amylovora</i>
ACS1, ACO1	Produkce etylenu
MYB	Červené zbarvení slupky, dužniny

Genetika

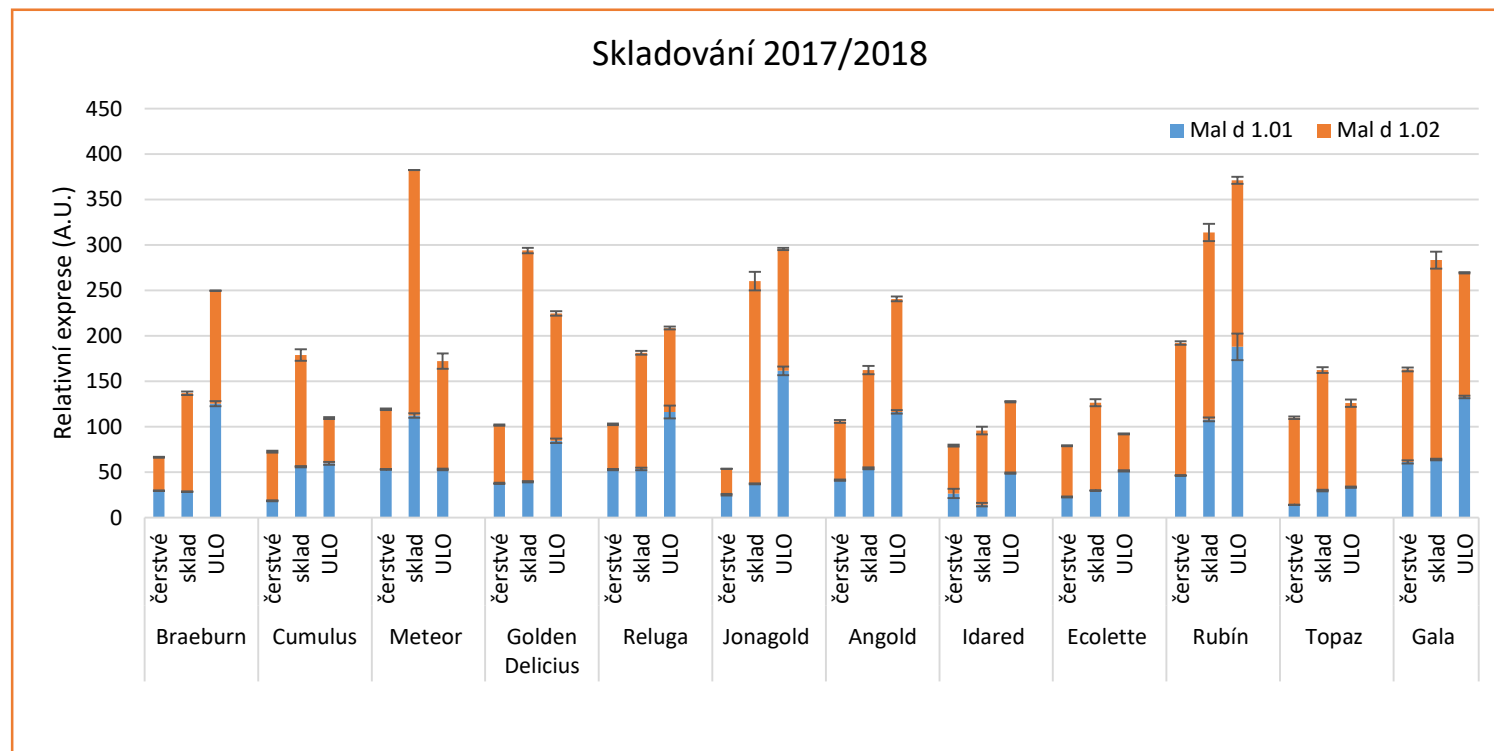
Analýza exprese alergenů u jablek na úrovni mRNA:

- v jablku byly zatím identifikovány čtyři alergenů: Mal d1, Mal d2, Mal d3 a Mal d4, majoritní izoformy jsou Mal d1.01 a Mal d1.02
- relativní kvantifikace vůči aktinu metodou RQ-RT-PCR ve slupce a dužnině, a to bezprostředně po sklizni, tak skladovaných (chlazený sklad nebo podmínky ULO)



Genetika

Analýza exprese alergenů u jablek:



Genetika

Řešené projekty:

- Název projektu: **Národní program udržitelnosti I.**
Trvání projektu: 1/2016-12/2020
Poskytovatel: MŠMT ČR

- Název projektu: **Využití genetických markerů pro ověření odrůdové identity meruněk**
Trvání projektu: 4/2019 – 3/2021
Poskytovatel: Technologická agentura České republiky

- Název projektu: **Rozvoj a aplikace molekulárně genetických metod pro racionalizaci šlechtitelských postupů třešní (Prunus avium L.)**
Trvání projektu: 1/2019-12/2023
Poskytovatel: Národní agentura pro zemědělský výzkum (NAZV) MZe ČR

- Jednání o přistoupení do Národní centra kompetence s názvem **Biotechnologické centrum pro genotypování rostlin**
Předpokládané trvání projektu: 7-8/2019-12/2020 s možnou návazností
Poskytovatel: Technologická agentura České republiky


Genetika

- Název projektu: **Rozvoj a aplikace molekulárně genetických metod pro racionalizaci šlechtitelských postupů třešní (*Prunus avium* L.)**

Trvání projektu: 1/2019-12/2023



- Spolupráce s **Českou zemědělskou univerzitou v Praze a Ústavem experimentální botaniky AV ČR, v.v.i., Centrem strukturní a funkční genomiky rostlin** - Charakterizace šlechtitelských genových zdrojů třešní a hledání genetických markerů spojených s významnými hospodářskými znaky s využitím genome-wide association study (GWAS) – sekvenace cca 300 odrůd třešní (genom 350 Mb) na sekvenátoru Illumina NovaSeq



A photograph of a row of cherry blossom trees in full bloom, creating a tunnel effect over a green lawn. The trees are covered in white blossoms, and the grass is a vibrant green. The scene is bright and sunny, with shadows cast by the trees onto the grass.

Děkuji
za
pozornost