

Zápis z vědecké rozpravy – obhajoba disertační práce Ing. Tomáše Nixe,

ZF JU v Č. Budějovicích, 25.3.2009

- Doc. P. Baranyk: Výsledky práce by měly sloužit k praktickým účelům – šlechtění řepky. Jaké jsou perspektivy ve šlechtění a pěstování řepky?
- Výsledky práce jsou využitelné ve šlechtění – v selekci žádaných genotypů, pěstování řepky je perspektivní, přesné plochy neznám.
- Prof. J. Moudrý: Jak reálné jsou šlechtitelské cíle – výnos 5 t/ha, olejnatost 50%
- Tato výnosová hladina je dosažitelná, ale problém je spíše v pěstování a technologii sklizně, co se týče olejnatosti, domnívám se, že tento cíl není v blízké době dosažitelný.
- Ing. V. Kučera Rozdíl mezi AI a CMS v hybridním šlechtění.
- AI zabraňuje prorůstání pylové láčky, sterilita znamená, že pyl se vůbec nevytváří. Rozdíly jsou v množení rodičovských linií a tvorbě hybridní odrůdy.
- Prof. Kužel Výnos a možnosti jeho ovlivnění pomocí elicitorů – nepukavost šesulí, šlechtění n potravinářské a nepotravinářské využití.
- Řepka se šlechtí na výnosovou schopnost, rezistenci, jsou odrůdy technické i potravinářské, ale technické se nepěstují (přetrvávání řepky na poli, zaplevelení a kontaminace potravinářské řepky).
- Prof. J. Moudrý: Je možné pěstovat potravinářskou a technickou řepku?
- Technická řepka se u nás nepěstuje, vlastně všechna řepka je potravinářská a část produkce se používá pro technické nebo energetické účely.
- Doc. P. Baranyk: Transgenní řepka – k jak je s pěstováním u nás.
- U nás ani v Evropě se nepěstuje. Osobně si myslím, že je to výhodné.
- Ing. J. Žaludová Čínští autoři publikovali výsledky AI studií u resyntetizované řepky. Lze porovnat tyto výsledky s výsledky ing. Nixe.
- Výsledky nelze srovnávat, resyntetizovaná a „šlechtěná“ řepka má jinou strukturu genomu, došlo ke změnám v S lokusech.
- Ing. E. Krajníková: Jsou u nás registrované AI hybridní odrůdy.
- Zatím nejsou, AI hybridi jsou v odrůdových zkouškách.

Reakce na otázky a připomínky oponentů disertační práce s názvem

"Využití molekulárních markerů ve šlechtění hybridní řepky"

Autor: Ing. Tomáš Nix

1. oponent Ing. Vratislav Kučera, CSc.

Je analýza *SLG I* genu, osvědčená u linií původem z odrůdy Tandem pro selekci AI/AK rostlin, využitelná i pro další S haplotypy? Jaký vliv na spolehlivost této metody mohou mít modifikační geny či genetické pozadí?

- Ano, teoreticky je tento model selekce AI/AK použitelný i pro další S-haplotypy. Musí být však splněny předpoklady, že autoinkompatibilita je u AI materiálu recesivního typu, všechny dominantní alely jsou nefunkční a pro křížení je AK komponenta dominantní heterozygot a AI komponenta recesivní homozygot. Modifikační geny mohou sílu AI reakce ovlivnit, je nutné mít v patrnosti jejich existenci. V jiném materiálu, zejména po křížení s různými DK, může být odlišné zastoupení alel R-lokusu, které mohou rozdílně interagovat s S-lokusem, a tím měnit sílu fenotypového projevu. Je nutné vždy materiál otestovat a zjistit korelace s fenotypem.

Lze jako selekčního markeru AI/AK rostlin využít i další geny S lokusu?

- Ano, geny *SCR* a *SRK* lze také použít jako marker AI. Jejich produkty se přímo účastní AI reakce a vykazují také vysoký polymorfismus. *SLG* má pouze pomocnou úlohu. Bylo by vhodné používat alespoň dva markery (*SLG* a *SCR*).

V práci je uvedeno, že RAPD markery vykazují horší opakovatelnost. Jaké jsou vaše praktické zkušenosti s tímto problémem?

- Obecně platí, že RAPD vykazuje nízkou opakovatelnost (literatura), zejména při použití stejného protokolu v jiné laboratoři (příp. jinou osobou), ale i při použití ve stejných podmínkách. Metoda je citlivá na změny a nepatrné kontaminace. Z mé zkušenosti to mohu potvrdit. Při hodnocení je dobré brát v úvahu pouze fragmenty, které se objevily při všech pokusech, neměnit podmínky reakcí a analyzovat najednou všechny vzorky, vzorky s jedním primerem analyzovat na jednom gelu. Je třeba si uvědomit, že tato metoda je vhodná jen pro některé účely. Stále se používá např. při druhových identifikacích, populačních studiích (mšice, DH linie in vitro, rákos,...). Je to metoda levná a nenáročná.

Jaká je pravděpodobnost, že se podaří nalézt spolehlivé markery pro odlišení náchylných a odolných genotypů vůči *Phoma lingam* při kvantitativní podstatě odolnosti?

- Pravděpodobnost nalezení jednotlivých konkrétních spolehlivých markerů pro kvantitativní rezistenci je velmi nízká. To plyne ze samotné podstaty této rezistence. Jedná se o polygeně založenou odolnost, účastní se zde velké množství genů, často se jejich účinky sčítají, významný je vliv prostředí, ročníku. Určitě bude možné alespoň vytypovat pomocí několika molekulárních markerů rostliny potenciálně odolné. Pravděpodobně to nebudou markery naprosto spolehlivé a platné pro všechny podmínky pěstování. Šlechtění je náročnější, avšak trvalejší než u rezistence kvalitativní, není zde takový problém s překonáním rezistence ze strany patogena.

2. oponent Ing. Václav Dvořáček, Ph.D.

V této souvislosti bych se zeptal na fenotypovou podstatu dané hranice mezi plně resp. částečně autoinkompatibilními materiály z pohledu počtu vytvořených semen.

- U plně autoinkompatibilních rostlin se pohyboval počet semen na šesuli v průměru od 1 do 4,6; u částečně AI v průměru od 5,1 do 6,8. "

Rovněž bych doporučoval po molekulární stránce zhodnotit u tohoto materiálů s rozdílnou úrovní autoinkompatibility komplexy genů SRK a SCR, pokud se tak již neděje v některých z paralelních prací.

- *SLG* má pouze pomocnou úlohu. Na pracovišti Biotechnologického centra probíhá práce na analýzách genů *SCR* a *SRK*. Nejedná se však o mé výsledky, proto jsem je neuváděl. Pouze některá srovnání jsou konstatována v diskuzi (Žaludová 2007). Data *SLG* a *SCR* jsou podobná, což znovu potvrzuje důležitou úlohu modifikačních genů, které neleží na S-lokusu.

Škoda jen, že se nepodařilo dokončit celou sekvenci těchto odlišných alel. Rozsáhlejší analýza většího počtu materiálů odrůdy Global by možná mohla odhalit i některé další odlišné alely. Pro další hodnocení z pohledu autoinkompatibility by možná bylo zajímavé tyto materiály s odlišnou alelickou skladbou separovat a vyhodnotit jejich vlastnosti včetně křížení s nějakou autoinkompatibilní linií.

- Plně souhlasím, dále na tomto tématu pracují kolegové a již mají nějaké další výsledky (sekvence).

Zařazení problematiky markerování odolnosti materiálů k houbové chorobě *Phoma lingam* mi v kontextu této práce připadá trochu jako zbytečný appendix tříštící zaměření doktoranda na zcela jinou problematiku.

- Ano, je to poněkud odlišné téma. Považuji ho jako méně významné. Konkrétní výzkum dané problematiky vyvstal z potřeby laboratorní práce v rámci grantu. Já jsem dílčí výsledky uvedl do disertace.

V souvislosti s v této práci zjištěnou problematickou opakovatelností některých RAPD primerů bych se rád zeptal zda vytvořený dendrogram genetických vzdáleností odpovídá skutečné fylogenetické příbuznosti hodnocených materiálů případně je více zatížen zvoleným spektrem RAPD primerů. V případě ověřování segregace zvoleného primeru OPA 14 mi nebylo jasné, zda je na obrázku 5.24. zachycena segregace tohoto markeru u F1 kříženců nebo již u F2 štěpící populace vytvořené pylovou embryogenezí. Uvedené rozdíly v infekci u těchto materiálů byly pouze na úrovni 2 stupňů z bonitační stupnice, jaký je tedy běžně používaný rozsah a byly v rámci tohoto testu vyhodnoceny paralelně i výchozí rodičovské materiály? V případě hodnocení shody markerové a fenotypové segregace jste zvolil v případě fenotypové reakce jako segreganční kritérium index napadení 1,5. Je to standardní hodnota, jež běžně odděluje tolerantní a náchylné genotypy nebo to byla hodnota, při které byla získána největší shoda markeru s fenotypem?

- Dle mého názoru dendrogram odpovídá skutečným genetickým vzdálenostem. Je patrné, že vzdálenosti nejsou výrazné (do 6%).
- Jednalo se o R1 generace (chyba v popisu obrázku).
- Test rezistence jsem neprováděl osobně (jak je uvedeno), ale myslím, že rodičovské materiály paralelně hodnoceny nebyly. Byly hodnoceny již dříve.
- Hodnota indexu napadení 1,5 byla jako segreganční kritérium zvolena ve VÚOL Opava, já jsem data pouze srovnal s genotypem.

3. oponent Dr. Ing. Pavel Horčíčka

Oddíl historie šlechtění se věnuje mezníkům ve šlechtění, ale konstatování současných trendů šlechtění s odvoláním na zdroj z roku 1997 se nejeví příliš aktuálně. Jaké jsou šlechtitelské cíle a postupy u řepky v současné době?

- Cíle ve šlechtění řepky jsou stále změny v zastoupení mastných kyselin z hlediska zpracovatelského průmyslu a zdravotního. Stále je aktuální otázka odolnosti proti chorobám a škůdcům. To souvisí se s snížením GSL. Důraz je kladen na šlechtění hybridních odrůd, stále se pracuje na šlechtění žlutosemenné řepky. Pozornost z hlediska celosvětového šlechtění je věnována i odrůdám transgenním (rezistence k hmyzím škůdcům, řízená systém pylové sterility a modifikace spektra mastných kyselin).

V části týkající se rezistence k *Phoma lingam* jednoznačně konstatuje, že založení není komplexně známo, ale je známa řada markeru. Jaké pak je jejich obecné použití?

- Je známo velké množství markerů odolnosti. Markery pro kvantitativní rezistenci jsou použitelné pouze vůči určité rase patogena. Šlechtění odrůd se specifickými geny rezistence je náročné a relativně málo rentabilní, protože tento typ rezistence bývá rychle (většinou během tří let) patogenem překonán zejména díky bodovým mutacím. Markery pro kvantitativní rezistenci jsou použitelné vůči širokému spektru patotypů parazita. Bývají však často ovlivněny prostředím. Pokud shrneme oba aspekty, tak je možné použít určitý typ markerů pro selekci odolných rostlin v závislosti na rase patogena (např. odolnost vůči australskému kmenu patogena) a prostředí pěstování (rostliny s markerem vykazují v daném prostředí odolnost).

Hodnocení rezistence k *Phomě* doporučuji rozšířit o tabulky testu, které umožní čtenáři lépe zhodnotit dosažené výsledky.

- Tabulky testů jsou k dispozici. Zdály se mi však příliš rozsáhlé, proto jsem je v disertační práci neuvedl, pouze okomentoval.

Formulace alespoň částečná shoda bez další kvantifikace nepatří do vědecké práce. Je shoda na 47% ještě shodou? (Dr. Ing. Pavel Horčíčka)

- Ano, tato formulace není nejvhodnější. Statisticky se o shodu nejedná. V markerování kvantitativních znaků je často považováno za pozitivní výsledek, když znak alespoň ze 30 % segreguje s genotypem. Vhodnější formulací by bylo např. to, že ve výsledcích je patrný určitý trend segregace markeru s fenotypem, což bylo potvrzeno u 47 % rostlin.

V Českých Budějovicích, 23.3.2009

Ing. Tomáš Nix





Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: **Ing. Tomáš Nix**
Narozen(a): 20.4.1978 v Jindřichově Hradci

Studijní program: Fytotechnika
Studijní obor: Speciální produkce rostlinná
Forma studia: prezenční

Název disertační práce: Využití molekulárních markerů ve šlechtění hybridní
řepky

Výsledek obhajoby:

Prospěl (a)

~~**Neprospěl(a)**~~

Komise:

	JMÉNO	PODPIS
Předseda:	doc. Ing. Petr Baranyk, CSc., ČZU v Praze	
Členové:	doc. Ing. Jiří Diviš, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
	Ing. Václav Dvořáček, Ph.D., VÚRV Praha Ruzyně (oponent)	
	Dr. Ing. Pavel Horčíčka, SELGEN, a.s. (oponent)	
	Ing. Vratislav Kučera, CSc., VÚRV Praha Ruzyně (oponent)	
	prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
	prof. Ing. Jan Moudrý, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
Školitel:	prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D., ZF JU v Českých Budějovicích	

V Českých Budějovicích dne 25.3.2009



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta:

Ing. Tomáš Nix

Narozen(a):

20.4.1978 v Jindřichově Hradci

Studijní program:

Fytotechnika

Studijní obor:

Speciální produkce rostlinná

Forma studia:

prezenční

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 7

počet přítomných členů komise: 5

počet platných hlasů: 5

kladných: 5

záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

Komise:

	JMÉNO	PODPIS
Předseda:	doc. Ing. Petr Baranyk, CSc., ČZU v Praze	
Členové:	doc. Ing. Jiří Diviš, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
	Ing. Václav Dvořáček, Ph.D., VÚRV Praha Ruzyně (oponent)	
	Dr. Ing. Pavel Horčíčka, SELGEN, a.s, (oponent)	
	Ing. Vratislav Kučera, CSc., VÚRV Praha Ruzyně (oponent)	
	prof. Ing. Stanislav Kužel, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
	prof. Ing. Jan Moudrý, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	
Školitel:	prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D., ZF JU v Českých Budějovicích	

V Českých Budějovicích dne 25.3.2009