



**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Zemědělská fakulta**  
 Studentská 13, 370 05 České Budějovice

## PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

**JMÉNO STUDENTA DSP:** Ing. Božena KUKOLÍKOVÁ

**NAROZEN(A):** 22. 01. 1978 v Kaplici

**STUDIJNÍ PROGRAM:** Fytotechnika

**STUDIJNÍ OBOR:** Speciální produkce rostlinná

**FORMA STUDIA:** Prezenční

**ŠKOLICÍ PRACOVIŠTĚ:** Biotechnologické centrum, ZF JU v Č. Budějovicích

**DATUM A MÍSTO KONÁNÍ ZKOUŠKY:** 28. 11. 2012, ZF JU v Č. Budějovicích

**ZKUŠEBNÍ TERMÍN Č.:** první

### NÁZEV DISERTAČNÍ PRÁCE:

Využití selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky

### VÝSLEDEK OBHAJOBY:

Prospěl(a)

Neprospěl(a)

### ZKUŠEBNÍ KOMISE:

### Podpis:

<b>Předseda:</b> doc. Ing. Pavel Vejl, Dr.; ČZU v Praze, FAPPZ	
<b>Členové:</b> prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
doc. RNDr. Jindřich Bříza, CSc.; BC AV ČR Č. Budějovice	
doc. Ing. Jiří Diviš, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Ing. Vratislav Kučera, CSc.; VÚRV Praha (oponent)	OHUVEN
Ing. Ladislav Kučera, CSc.; VÚRV Praha (oponent)	
doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích (oponent)	



**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Zemědělská fakulta**  
Studentská 13, 370 05 České Budějovice

**OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP**  
**PROTOKOL O HLASOVÁNÍ**

**JMÉNO STUDENTA:** Ing. Božena KUKOLÍKOVÁ  
**NAROZEN(A):** 22. 01. 1978 v Kaplici

**STUDIJNÍ PROGRAM:** Fytotechnika  
**STUDIJNÍ OBOR:** Speciální produkce rostlinná  
**FORMA STUDIA:** Prezenční

**Výsledek hlasování:**

počet členů komise: 7  
počet platných hlasů: 6  
počet neplatných hlasů: 0  
počet přítomných členů komise: 6  
kladných: 6  
záporných: 0

**ZKUŠEBNÍ KOMISE:**

**Podpis:**

<b>Předseda:</b> doc. Ing. Pavel Vejl, Dr.; ČZU v Praze, FAPPZ	
<b>Členové:</b> prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
doc. RNDr. Jindřich Bříza, CSc.; BC AV ČR Č. Budějovice	
doc. Ing. Jiří Diviš, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Ing. Vratislav Kučera, CSc.; VÚRV Praha ( <b>oponent</b> )	
Ing. Ladislav Kučera, CSc.; VÚRV Praha ( <b>oponent</b> )	OHLUVEN
doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích ( <b>oponent</b> )	

## Odpovědi na otázky oponentů:

Ing. Vratislav Kučera, CSc.

- 1) Jak lze vysvětlit rozdíly mezi jednotlivými skupinami rostlin AI kříženců s donory kvality oleje, pokud by se hodnotila shoda obou testů u jednotlivých skupin odděleně?

Vliv genotypu, vliv kombinace křížení a vliv prostředí.

- 2) U hodnocení semenným testem není jasné kritérium AI do deseti semen – je to průměrný počet semen na šešuli nebo na rostlinu?

Je to průměrný počet semen na rostlinu. Získaná data jsou přímo od šlechtitele.

- 3) Jsou data ze semenného testu prováděného ve VÚOL v Opavě v polních podmínkách zcela spolehlivá?

Test byl prováděn v polních podmínkách, a proto je test jistě více ovlivněn prostředím, než by to mu bylo za situace, kdy by byl prováděn brzy na jaře ve skleníku. Toto může být na jedné straně nevýhoda, ale na druhé straně výhoda, protože tak získáme lepší úsudek o chování zkoumaného materiálu v polních podmínkách, využitelný pro následnou výrobu komerčního osiva.

- 4) Nebyly při studiu variability genu *SLG 1* u starších i novějších odrůd typu populace z hlediska praktického využití v hybridním šlechtění identifikovány rostliny, u kterých by byl na základě molekulární analýzy předpoklad fenotypového projevu AI?

Cílem bylo hledání AI alel a ne AI fenotypu jednotlivých rostlin.

- 5) Je analýza *SLG 1* 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?

Specifický marker funguje pouze u materiálů odvozených z Tandemu, u dalších donorů je potřeba ověřit jeho funkčnost a spolehlivost popřípadě vyvinout marker jiný.

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

Ano, mohou se využít markery pro geny *SCR* i *SRK*, zejména ke zpřesnění získaných výsledků. (např. pro potomstva odvozená z odrůdy Tandem je navržen specifický marker *SCR 2a*, který identifikuje rostliny AI.

- 7) Je genetická vzdálenost rodičovských komponent, stanovená uvedenými markerovacími systémy, předpokladem heterózního efektu?

Ano, předpokládá se, že geneticky vzdálenější rodiče budou dosahovat vyššího heterózního efektu, ale vše závisí na specifické kombinační schopnosti rostlin.

- 8) Jaká je pravděpodobnost, že se podaří nalézt spolehlivé markery pro rozlišení rostlin s rozdílným obsahem kyseliny linolenové při zřejmě kvantitativní podstatě znaku?

Proto, aby se mohl vyvíjet marker, je nezbytné sestavit vhodnou mapovací populaci, tato však zatím není k dispozici.

**Ing. Ladislav Kučera, CSc.**

- 1) Statisticky bylo prokázáno, že geny *SCR/SP11* a *SRK* jednoho S-haplotypu u druhů *Brassica oleracea* i *Brassica rapa* se odchyľují souběžně (Sato *et al.*, 2002). Jak lze porozumět formulaci této věty?

Geny se nachází na stejném S lokusu a jsou tudíž pravděpodobně ve vazbě, a proto se dědí společně.

- 2) Byla použita pouze jedna sestava nebo bylo použito pro selektivní amplifikaci použito více kombinací?

Kombinací bylo použito více, ale pouze tato se jevila jako nejlepší s největším počtem markerů.

- 3) Kolik sekvencí bylo pro jednotlivé produkty PCR uskutečněno?

Dvě, jedna probíhala na ÚMBR v Českých Budějovicích a druhá ve firmě Invitrogen v Berlíně.

- 4) K čemu se vztahuje text prvního odstavce na straně 45?

K vyhodnocovaným sekvencím na obrázku č.9.

- 5) Proč byl pro hodnocení míry podobnosti vybrán „Gower General Similarity Coeficient“?

Je to dáno softwarem a tento koeficient se vyskytuje jak clusterové tak i u ordinační analýzy.

- 1) Pěstují se odrůdy podle kvality oleje nebo odrůdy různých genetických typů, jak vyplývá z kapitoly 3.2?

Toto rozdělení mělo poskytovat informaci o vývoji odrůd, jak po stránce kvality oleje, tak po stránce genetických typů. Oba směry se vyvíjely současně vedle sebe.

- 2) Hlavní rozdíly mezi technologiemi pěstování hybridních a liniových odrůd řepky a jaké jsou jejich výhody a nevýhody obou skupin odrůd?

Při technologii pěstování by výrazné rozdíly být neměly. Rozdíly jsou při tvorbě osiva.

- 3) Jaká je skladba odrůd řepky registrovaných v ČR (počet odrůd ozimé a jarní řepky, poměr mezi hybridními a liniovými odrůdami)?

Registrováno je 12 jarních a 94 ozimých odrůd. Z celkového počtu 106 registrovaných odrůd je 38 hybridních. Podrobné údaje jsou uvedeny na webu ÚKZÚZ v Seznamu odrůd olejnin a přadných rostlin, ale neodráží skutečnost o reálně pěstovaných odrůdách a jejich zastoupení.

- 4) Pěstují se u nás jen odrůdy s národní registrací?

Tuto informaci jsem nenašla, ale firmy prodávající osivo nabízí i odrůdy registrované ve Společném katalogu odrůd EU.

- 5) Jaké je současné využití molekulárních markerů při registraci nových odrůd?

Mají pouze doplňkovou funkci, hlavní jsou stále morfo-metrické znaky.

- 6) Nahrazují morfo-metrické znaky při popisu odrůd?

Ne.

- 7) Jaký byl použit pufr pro restriční štěpení?

Odpovídající restričnímu enzymu, je dodáván spolu s enzymem.

- 8) Na str. 29 se pokusem 2 rozumí soubor českých, československých a německých odrůd?

Ano.

- 9) Co znamená R/L pufr a z čeho je složen? Byl koupen hotový nebo připraven v laboratoři?

Restriční a ligační pufr je připravován v laboratoři, složení: 10x RL pufr (10 ml zásobní roztok): 0,121g Tris-acetate do 8 ml H<sub>2</sub>O (100 mM); upravit pH na 7,5 pomocí led. kys. octové; přidat 0,214 g MgAc (octan hořečnatý) (100 mM); 0,491g KAc (octan draselný) (500 mM); 0,077g Dithiothreitol (DTT) (50 mM)

- 10) Které faktory vlivu připadají v úvahu pro možné vysvětlení rozdílných výsledků ve vyhledávání autoinkompatibilních rostlin pomocí molekulárního markerování a semenného testu?

Semenný test probíhá v polních podmínkách, a tudíž může být ovlivněn faktory prostředí.

11) Je v současné době možné doporučit pro praktické využití jinou modernější techniku markerování zastoupení linolenové kyseliny v oleji, která by v sobě skloubila jednoduchost provedení RAPD techniky a při tom by byla citlivější a z hlediska reprodukovatelnosti spolehlivější?

Pro testování lepší techniky markerování by v první řadě bylo potřeba získat odpovídající kontrastní materiál s obsahem kyseliny linolenové (2-20%). Bylo by nejlepší testovat nové markery na experimentálních sesterských liniích, které by se lišily pouze v obsahu kyseliny linolenové, a tím by se výsledky zprůhlednily, neboť by se odstranil vliv genetického pozadí.

12) Jaký byl přímý podíl autorky na prováděných analýzách?

Téměř všechny analýzy jsem prováděla osobně, popřípadě se na nich podílela, kromě sekvenování, které bylo uskutečněno formou služby.

13) Používají se v současné době i jiné molekulární markery pro studium autoinkompatibility než ty, které jsou uvedeny v práci?

SCR a SRK, ale tyto jsou uvedeny v práci.

14) Jak se bude podle autorky v budoucnu vyvíjet uplatnění řepkového oleje z pohledu změn spektra mastných kyselin v oleji?

Složení řepkového oleje je minimum nasycených kyselin palmitové a stearové, 57-68% kyseliny olejové, kyseliny linolové 16-22%, kyseliny linolenové 7-10%. Kyselina linoleová nazývaná též omega 3 esenciální mastná kyselina je pro lidský organismus velmi důležitá a jedním z jejích hlavních zdrojů je právě řepkový olej, nevýhodou je její nízká tepelná namáhatelnost, proto by byl řepkový olej s jejím vyšším obsahem nevyužitelný pro smažení. Jak je patrné jsou zde dva pohledy jeden ze strany lékařů – zvýšit a druhý ze strany zpracovatelů – snížit obsah kyseliny linolenové. Když se šlechtitelům podaří vytvořit obě varianty, bude si moci pěstitel vybrat, pro kterého z cílových odběratelů bude řepku pěstovat.

15) Vysvětlit citaci FAO, 2008.

Stejná citace se objevuje i v článkách o řepce.