



OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: Ing. Tatiana SARKISOVA
Narozen(a): 8. 2. 1979 v Dushanbe

Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Forma studia: Prezenční

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 6

počet platných hlasů: 6

počet neplatných hlasů: 0

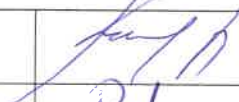
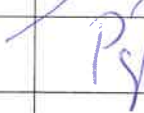

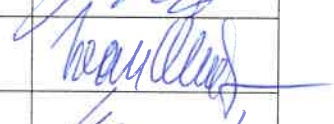

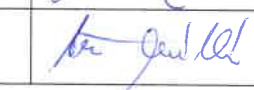
počet přítomných členů komise: 6

kladných: 6

záporných: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.; VÚRV v Praze	
Členové:	prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně (oponent)	
	doc. RNDr. Noemi Čerovská, CSc.; BC AV ČR, ÚEB (oponent)	
	prof. RNDr. Milan Navrátil, CSc.; UP Olomouc (oponent)	
	doc. Ing. Ivan Mráz, CSc.; BC AV ČR, ENTÚ	
	doc. Ing. Evženie Prokinová, CSc.; ČZU v Praze	
	doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.; ZF JU v Č.Budějovicích	



PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Ing. Tatiana SARKISOVA
Narozen(a): 8. 2. 1979 v Dushanbe
Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Forma studia: Prezenční
Školící pracoviště: ÚMBR, BC AV ČR v Č. Budějovicích
KRV, ZF JU v Českých Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 14. 11. 2013, ZF JU v Č. Budějovicích
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

**Molecular analysis and genetic identification of a new potyvirus and
phytoplasma plasmids**

Výsledek obhajoby:

Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.; VÚRV v Praze	
Členové:	prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně (oponent)	
	doc. RNDr. Noemi Čeřovská, CSc.; BC AV ČR, ÚEB (oponent)	
	prof. RNDr. Milan Navrátil, CSc.; UP Olomouc (oponent)	
	doc. Ing. Ivan Mráz, CSc.; BC AV ČR, ENTÚ	
	doc. Ing. Evženie Prokinová, CSc.; ČZU v Praze	
	doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Školitel:	doc. RNDr. Karel Petrzik, CSc.; BC AV ČR, ÚMBR	
Školitel specialista:	prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	

Zápis z průběhu SDZ a obhajoby disertační práce – Ing. Tatiana Sarkisova
14.11.2013

SDZ

prof. Navrátil – genom rostlinných virů

kompaktní genom, obsahuje geny nutné pro život viru

prof. Navrátil – vstup virů do rostliny

přes poškození, kořeny, vektory

prof. Pokorný – co znamená Baltimore systém

klasifikace virů na základě typu jejich genomu a způsobu replikace

prof. Kocourek – jaké geny je možné použít v GMO rostlinách odolných virům

CP, mp, rep

prof. Pokorný – mechanismy replikace a způsoby uspořádání genomů

překrývající se čtecí rámce, tvorba subgenomových mRNA, splicing

prof. Pokorný – co je to druh viru a kvazidruh

populace o podobných vlastnostech; soubor mutantů

prof. Navrátil – jsou viry živé?

mají vlastnosti živých i neživých objektů

doc. Mráz – typy hybridizace NA

Southern, Northern hybridizace, in situ, hybridizace microarrays

doc. Mráz – výhody a nevýhody microarrays

optimalizace práb, drahá metoda, ale vysoce citlivá, velké serie vzorků

prof. Kocourek – transpozony a vliv na detekci virů

diskutována problematika metod detekce, volby metody, její specifity a citlivosti

V rámci vědecké rozpravy k disertační práci byly oponenty a členy komise kladeny doplňující otázky k oponentským posudkům – mají studované viry hospodářský význam v našich podmínkách? Studentka charakterizovala hostitelské organismy a jejich význam ve světě a v ČR, v našich podmínkách se vzhledem k ploše pěstování a významu např. lupiny nejedná o patogeny s velkým významem.

Předseda komise konstatoval, že v obou případech (Mgr. Tonka a Ing. Sarkisova) studenti prokázali úroveň znalostí na velmi vysoké úrovni, o kvalitě práce pak hovoří i všechna kladná posudky oponentů.

Answers to opponents

1. Dr. Navratil.

- Jakou váhu přikládáte molekulárním parametrům umožňujícím popsat 'nový' potyvirus? Brala jste v úvahu jeho biologické-ekologické vlastnosti; pokud ano, kterým dáváte největší význam?

The molecular data are the essential value for any virus group characterization, not only potyviruses. The serological and biological methods, host range study are important as well but phylogeny and taxonomy questions cannot rely only on them now. Also, the high heterogeneity of virus population can be characterized more deeply by using molecular approaches. Virus and its genome structure, gene arrangement, sequences and evaluation of its homology to other species, strains and species demarcation is based on them, nowadays. Production of antibodies for not economically significant viruses is too expensive. Potyvirus group is very big and cannot be estimated based only on serology because of high probability of cross reactions. Thus, molecular technique is fast, sensitive and quite cheap approach today.

- Testovala jste okruh hostitelů LuMV (např. hrách, fazol atd.)?
- No, virus host range was not studied. It was only inoculated to indicator plants as *N.benthamiana* and *Chenopodium* sp. But, it would be nice to perform such work to be able to speak about its ecology.
- Jakou roli hrají fytoplazmové plasmidy v jejich fitness?

- functions of many phytoplasma encoded proteins not understood. No, information about plasmids transfer. However, there are data of possible their role in transmission. The observations of OY-M phytoplasma plasmid. Loss of transmissibility by vectors was correlated with loss of 2 genes: *ssb* and another plasmid encoded membrane protein

- pathogenicity. Kubayama et al., (1998). The pathogenicity reduced line was isolated. Plasmid comparisons from the wild and pathogenicity reduced lines had differences in the amount of eDNA and transcripts and the structure of plasmids between OY-W and OY-M. However, to clarify whether the plasmids are involved in the pathogenicity of phytoplasma, it is still necessary to determine the whole primary structure of plasmid from wild line and the differences in the gene organization between plasmids from both isolates.

2. Dr. Pokorny.

- Why different virus species were used in phylogenetic analysis for different virus proteins and regions of genome?

For every phylogenetic tree were used the same virus species: 63 members from genus *Potyvirus*. View of tree is depending of the type mode. In case, of circular form, all species are included. In

another type form the only its part was used to represent the closest ones to our new virus species.

- Are there any implications of discrepancies between phylogenetic analysis according to plasmids and whole genome for the phytoplasmas taxonomy?

No detailed study has yet been performed on these subject. However, it is already visible that particular phytoplasma strain is associated with certain type of plasmid. Phylogenetic analysis showed that plasmids from different phytoplasma groups could clustering together and opposite.

3. Dr. Čeřovská

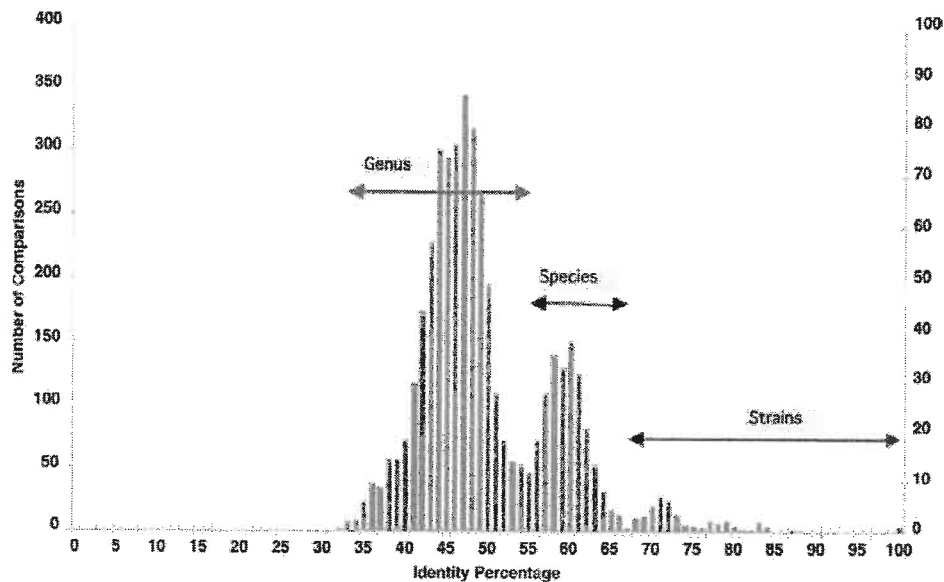
- Jaká jsou obecná pravidla pro určení nového rostlinného viru? Jsou tato pravidla různá pro různé rody?

Assignment of viruses to taxa requires the specification of demarcation criteria. Virus species are polythetic: lists of the criteria used for each family, genus. For instance:

- Family *Papillomaviridae*

- **L1 – structural protein is used for phylogeny**
- **Species demarcation border is no more than 65% of aa identity percentages**

Distribution of pairwise identity percentages calculated for the sequences of the L1 gene of members of the family *Papillomaviridae*



- Family *Potyviridae*

- CP – structural protein is used for phylogeny. Species demarcation border is no more than 80 % of aa identity percentages for CP and less than 85% for the whole genome

- Existují důkazy o možné koexistenci několika různých plazmidů v jednom fytoplazmovém hostiteli? Jsou fytoplazmové plazmidy kompatibilní?

Yes, several plasmids can co-exist together in one phytoplasma genome. The four plasmids of AY-WB (I-IV) were found to be able co-exist in lettuce plants in one phytoplasma genome. So if they co-exist together that point on their compatibility.

- (AYWB-pI and AYWB-pIII) contain *repA* genes similar to geminiviruses *repA*
- the *rep* genes of the other two plasmids (AYWB-pII and AYWB-IV) were unique to AY-WB and OY phytoplasmas
- It is striking that whereas the plasmids encode different Rep proteins, they contain paralogous genes in similar orders
-

B

