

PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Ing. Mgr. Ondřej HEJNA
Narozen(a): 31. 5. 1986 v Českých Budějovicích
Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Forma studia: Prezenční
Školící pracoviště: KSPR ZF JU v Č. Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 13. 11. 2019, ZF JU v Českých Budějovicích
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

Identifikace genů rezistence k nádorovitosti pomocí asociativní transkriptomiky

Výsledek obhajoby:

Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, AF	
Členové:	doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.; Masarykova univerzita v Brně, PŘF (oponent)	
	doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ (oponent)	
	doc. Dr. Ing. Pavel Vejl; ČZU v Praze, FAPPZ (oponent)	
	doc. Ing. Tomáš Vyhnánek, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, AF	
	doc. Mgr. Miroslav Baránek, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, ZF Lednice	
	Ing. Miroslav Klíma, Ph.D.; VÚRV Praha	
	Ing. Martin Žabka, Ph.D.; VÚRV Praha	
	prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích	
Školitel:	prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.; ZF JU v Českých Budějovicích	



OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: Ing. Mgr. Ondřej HEJNA
Narozen(a): 31. 5. 1986 v Českých Budějovicích

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

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 10

počet přítomných členů komise: 9

počet platných hlasů: 9

kladných: 9

záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, AF	
Členové:	doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.; Masarykova univerzita v Brně, PŘF (oponent)	
	doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ (oponent)	
	doc. Dr. Ing. Pavel Vejl; ČZU v Praze, FAPPZ (oponent)	
	doc. Ing. Tomáš Vyhnánek, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, AF	
	doc. Mgr. Miroslav Baránek, Ph.D.; Mendelova univerz. v Brně, ZF Lednice	
	Ing. Miroslav Klíma, Ph.D.; VÚRV Praha	
	Ing. Martin Žabka, Ph.D.; VÚRV Praha	
	prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.; ZF JU v Č. Budějovicích		

Otázky a připomínky doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.

- V úvodu chybí nastínění potenciálu genomických přístupů v rezistentním šlechtění vedle těch klasických.

Nastínění potenciálu genomických přístupů bylo částečně předmětem publikovaného článku a po konzultaci se školitelem bylo usouzeno, že v této práci bude zajímavější orientace na méně známou problematiku rezistence

- V metodice chybí informace o rozdělení testovaných genotypů i podle obsahu glukosinolátů a kyseliny erukové, což je uvedeno ve výsledcích.

Nevhodná formulace ve výsledcích. V rámci kolekce jsou k dispozici pouze informace o tom, zda odrůda obsahuje nízký obsah glukosinolátů a kyseliny erukové či nikoli.

- Chybí důležité metodické postupy pro zpracování sekvenčních dat transkriptomu a programy použité k jejich hodnocení. Je odkázáno na 2 práce, což je obvyklé v publikacích.

Dle cílů je práce zaměřena na testování genotypů k nádorovitosti a využití těchto dat k asocičním analýzám. Zpracování a výsledky sekvenování transkriptomů byly publikovány v jiných studiích na které je odkazováno. Uvedením krátkých částí, které se tímto zabývají slouží jako doplnění celkového pracovního schématu.

Viz následující slide



- **Příprava knihoven** byla provedena pomocí kitu Illumina mRNA-Seq, výrobce není uveden. Např. chybí informace, zda byly **SNP generovány** pro celý transkriptom, což předpokládám. Jak byla provedena **kvantifikace exprese**? Chybí postup, jakým byly **asociované lokusy lokalizovány** na chromozomy řepky olejky.

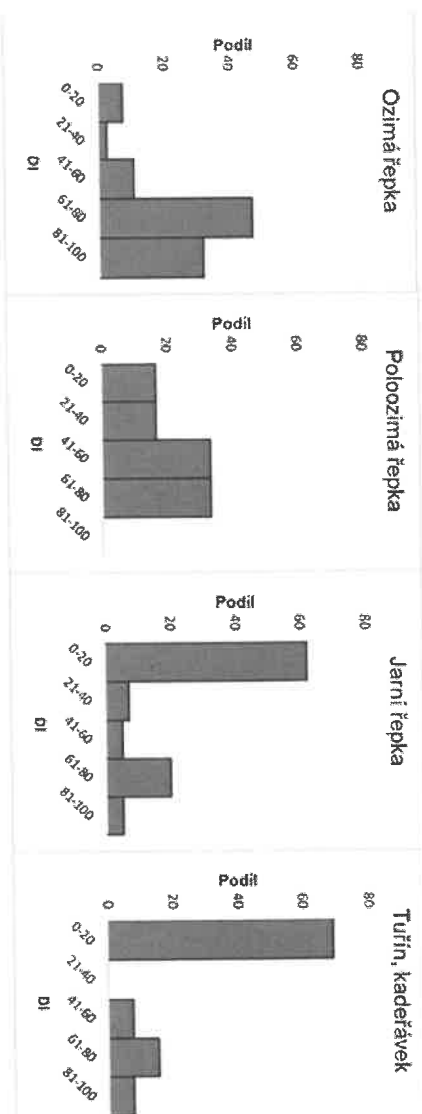
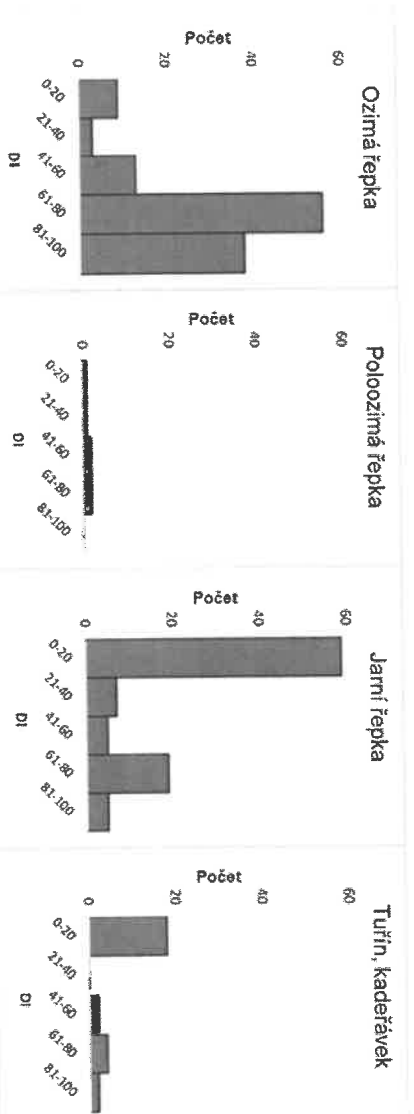
Podobně jako u předchozí otázky, zpracování RNAseq dat, detekce SNP a kvantifikace exprese nepatřilo mezi cíle práce. Tyto data byly publikována v jiných studiích, na které je odkazováno. V textu jsou uvedeny jen velmi stručně jako součást komplexního pracovního postupu. Postup vymezení asociovaných lokusů, ve kterých byly hledány kandidátní geny je popsán v rámci prvního odstavce kapitoly 4.3.3 na stranách 43 a 44. V krátkosti, vymezení probíhalo na základě polohy krajních SNP markerů s hodnotou $-\log_{10} P > 4$ s přidruženou oblastí 100 kb.

- **GEM asociační analýza** je popsána velmi **stručně** pouze na dvou stranách.

Nerovnoměrnost mezi výsledky SNP a GEM asociační analýzy odráží fakt, že u první zmíněné jsou hodnoceny asociované oblasti a v nich obsažené velké množství potenciálních kandidátních genů. V případě GEM asociační analýzy je výsledkem pouze 19 genů. Následně je v diskusi popsáno, že výsledky z této analýzy nespĺnily plně očekávání a zdroje potenciálního problému

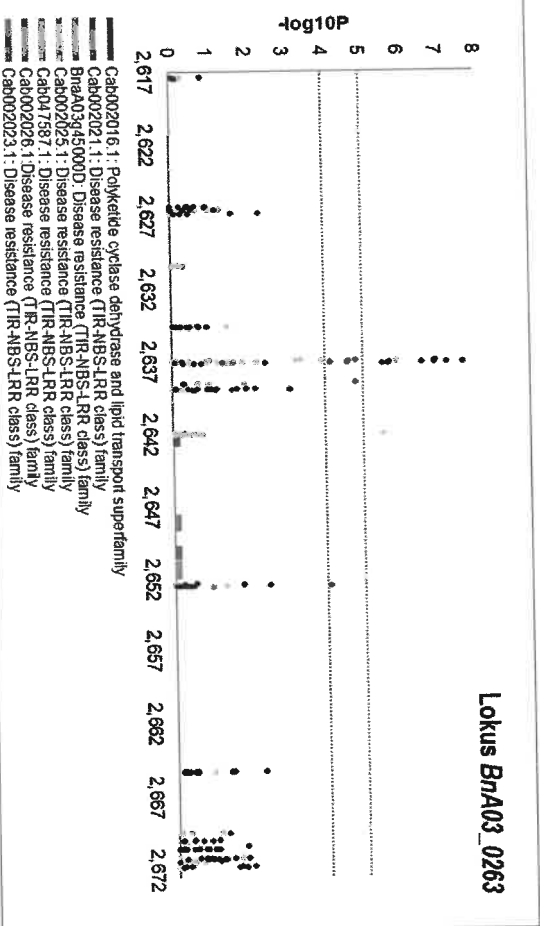
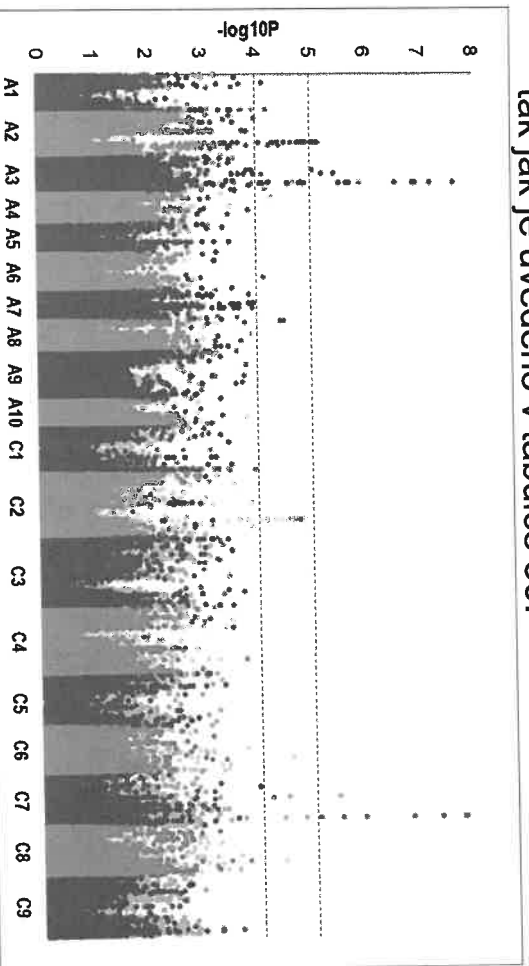
- K výsledkové části mám připomínky formálního charakteru. Nappisy tabulek a obrázků jsou velmi jednoduché – neobsahují všechny potřebné informace. U **obr. 8 a 9** je nutné doplnění **legendy**. Není zřejmé, proč je každá skupina uvedena ve dvou obrázcích. Čtenář si to musí sám vydedukovat.

Každá skupina obsahuje dva diagramy, z nichž jeden zobrazuje počty genotypů v jednotlivých skupinách podle indexu napadení a druhý uvádí podíly. U každého diagramu je na vertikální ose - počet/podíl. K přidání druhého diagramu s podílem jsem se rozhodl z důvodu malého počtu zástupců v některých skupinách. Podíl pak vhodněji zobrazuje zastoupení náchylných/tolerantních genotypů.



- Chybí vysvětlení barev v lokusech a tabulkách (zelená světlá a tmavá, šedá tmavě šedá)

Výsledky ze SNP asociční analýzy obsahují celkem 16 Manhattan plotů. Každý z těchto grafů zobrazuje výsledky z téže analýzy, kde na horizontální ose jsou pozice SNP markerů v genomu a vertikální osa zobrazuje míru asociace. Jednotlivé grafy se liší jen oblastí, kterou zahrnují (celý genom, zájmový chromozom, asociovaný lokus). V případě prvního stěžejního Manhattan plotu, který zahrnuje celý genom, je podrobně popsáno, co zobrazuje, včetně vysvětlení, co znamenají světlejší a tmavší SNP markery str. 50. V případě, že SNP je zobrazen světle, nelze s jistotou říci, zda za natchází na chromozomech A1-A10 nebo C1-C9. Tento problém vychází z alopolyploidního charakteru genomu *B. napus*, který vznikl jako mezidruhový kříženec *B. rapa* a *B. oleracea*. Vzhledem k tomu, že k odlišení druhů *B. rapa* a *B. oleracea* došlo z pohledu evoluce relativně nedávno, obsahují v mnoha případech velmi podobné geny, a ne vždy lze s jistotou říct, zda se SNP marker vyskytuje v konkrétním genu nebo v homoologním genu. Dále je pak tato problematika uvedena v práci v případě popisu homoologních SNP a diskuze o možném stínovém asociovaném lokusu. Vzhledem ke komplexnosti je tento popis uveden v prvním odstavci výsledků SNP analýzy při odkazu na prvním Manhattan plot, ostatní Manhattan ploty pak obsahují jen popis oblasti, kterou v rámci SNP analýzy zobrazují. Tabulky používají stejné barvy, kde intenzita šedé barvy reflektuje míru asociace SNP markeru v konkrétním genu. Zeleně vyznačené geny představují vybrané kandidátní geny, tak jak je uvedeno v tabulce 30.



- **Řada formulací je nepřesná.** Např. na str. 53 „Oba tyto lokusy jsou signifikantně rezistentní“ – nedá se takto formulovat. Jde o signifikantní asociaci s nějakým lokusem, oblastí chromozomu, zde jsou desítky genů. Takových nepřesných formulací je mnoho.

Souhlasím, že samotná formulace by takto nedávala smysl, nicméně v metodice a na začátku výsledků je přesně formulováno, co je v textu označováno signifikantní SNP marker, potenciaálně signifikantní SNP marker, signifikantní lokus apod. Zařazení do jednotlivých kategorií vychází z dvou prahových hodnot. Bylo by nereálné u každého SNP psát přesnou hodnotu asociace apod. Popsaný způsob značení je převzat z práce

Li et al (2016) A Genome-Wide Association Study Reveals New Loci for Resistance to Clubroot Disease in *Brassica napus*

- Tab. 30 – chybí uvedení pozice na chromozomu

Souhlasím, pozice lze dohledat v citované práci

He et al (2015) Construction of Brassica A and C genome-based ordered pan-transcriptomes for use in rapeseed genomic research

➤ Jak byly v práci rozlišeny chromozomy genomů A a C?

Chromozomy v širším slova smyslu nebyly nijak rozlišovány ani porovnávány. Jejich specifita je dána jejich sekvencí DNA. Genomická sekvence druhu *B. napus* byla uveřejněna minimálně ve třech případech. V práci Chalhoub et al. (2014) *Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic Brassica napus oilseed genome* byl osekvenován genom odrůdy darmor-bzh. Zobrazení genomu a jeho rozdělení na příslušné chromozomy lze nalézt zde:

[http://www.genoscope.cns.fr/brassicananapus/cgi-bin/qbrowse/colzal/](http://www.genoscope.cns.fr/brassicananapus/cgi-bin/qbrowse/colzal)

K práci Zhang et al. (2014) *Identification, Expression and Interaction Analyses of Calcium-Dependent Protein Kinase (CPK) Genes in Canola (Brassica Napus L.)* byl přidružen osekvenovaný genom odrůdy zs11. Veřejně dostupný v rámci databáze NCBI. Zobrazení genomu a jeho rozdělení na příslušné chromozomy lze nalézt zde:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/203?genome_assembly_id=335272

Dále byl další genom *B. napus* zveřejněn v publikaci Bayer et al. (2017) *Assembly and Comparison of Two Closely Related Brassica Napus Genomes*. V tomto případě byla publikována celogenomová sekvence odrůdy TAPIDOR DH.

V mém případě byla použita data ze sekvenování transkriptomu, k jejichž poskládání byly jako referenční sekvence využity unigeny dostupné v rámci databáze *Brassica* dostupné zde:

<http://brassicadb.org/brad/>

Rozmístění těchto unigenů na jednotlivé chromozómy bylo provedeno na základě podobnosti sekvencí. Výsledek pak představuje takzvaný „pan-transkriptom“, který vyjadřuje současný pohled na rozmístění genů v genomu *B. napus*. Části pan-transkriptomu jsou zobrazeny v tabulkách 12 až 20 ve výsledkové části. Osobně jsem se na vytvoření tohoto pan-transkriptomu nepodílel. Využil jsem jeho veřejně dostupnou verzi v rámci publikace He et al. (2015) *Construction of Brassica A and C genome-based ordered pan-transcriptomes for use in rapeseed genomic research* a v novější verzi v práci Havlickova et al. (2018) *Validation of an Updated Associative Transcriptomics Platform for the Polyploid Crop Species Brassica Napus by Dissection of the Genetic Architecture of Erucic Acid and Tocopherol Isoform Variation in Seeds*.

➤ V práci se uvádí, že výběr kandidátních genů byl proveden i na základě anotací typu „**abscisic acid**“, „**auxin**“ a „**gibberellin**“. Tyto funkce jsou spojeny nejen s obrannými mechanismy k patogenuům.

„**abscisic acid**“ - Kyselina abscisová (ABA) se mimo začlenění do obranných mechanismů proti patogenuům se podílí hlavně na reakci organismu při abiotickém stresu jako je například sucho, vysoké a nízké teploty, zasolení půdy a těžké kovy. Její funkce je také nepostradatelná při dozrávání semen, iniciace klíčení a zavírání průduchů.

„**auxin**“ - Auxin představuje v užším slova smyslu rostlinný hormon označovaný jako kyselina indol-3-octová (IAA). Jeho hlavní funkce růst a vývoj rostlinného organismu, zajištění apikální dominance a reakce při mechanickém poškození organismu. Zapojení tohoto hormonu do obranných reakcí hlavně v kombinaci s působením kyseliny jasmonové a salicylové je minoritní. Hlavní příčinou, proč byly v rámci výběru kandidátních genů hodnocen, je fakt, že jeho nerovnováha je hlavní příčinou vzniku nádorů na kořenech napadených nádorovkou.

„**gibberellin**“ – Gibberelin představuje rostlinný hormon, jehož hlavní funkce spočívají hlavně v účasti na různých vývojových procesech jako jsou prodlužovací růst, dormance a klíčení semen, vývoj květů a regulace kvetení, dozrávání plodů a stárnutí listů. Na základě anotace týkající se gibberelinu nebyl vybrán žádný kandidátní gen.

- Asociační analýzou prostřednictvím SNP a rozdílných expresních profilů byly identifikovány kandidátní geny. Byly některé geny identifikovány oběma přístupy?

Stanovením striktní prahové hodnoty pro GEM asociační analýzu bylo identifikováno 19 genů, z nichž ani jeden nebyl nalezen v asociovaných lokusech u SNP analýzy. V některých lokusech se nacházely geny, které měly vysoké hodnoty asociace pro GEM, nicméně nepřekročily stanovenou hodnotu $-\log_{10} P > 3,5$. Tento fakt byl hodnocen při výběru kandidátních genů v asociovaných lokusech například v případě R genu *BnaA03g4500D* v lokusu *BnaA03_0263*. V ideálním případě GEM asociační analýza slouží jako hlavní faktor výběru kandidátního genu v asociovaných lokusech SNP analýzy, jak bylo publikováno v podobných studiích například Harper et al. (2012) *Associative Transcriptomics of Traits in the Polyploid Crop Species Brassica Napus* nebo Havickova et al. (2018) *Validation of an Updated Associative Transcriptomics Platform for the Polyploid Crop Species Brassica Napus by Dissection of the Genetic Architecture of Erucic Acid and Tocopherol Isoform Variation in Seeds*. Tato problematika je zmíněna i v samotném závěru práce. Jako možné vysvětlení se nabízí fakt, že RNA, ze které byly měřeny exprese genů, byla odebrána z listů nikoli kořenů, na kterých dochází k interakci mezi rostlinou a patogenem. Dále také skutečnost, že spuštění obranného mechanismu dochází až při napadení patogenem. V našem případě jsou využita data exprese genů u nenapadených rostlin.

- V práci se uvádí, že některé plodiny inhibují životaschopnost trvalých spor *P. brassicae* v půdě (máta peprná, saturejka zahradní nebo tymián obecný). Jaké látky nebo mechanismy zde působí?

V tomto případě je v práci zvolena nevhodná formulace inhibice životaschopnosti. Samotný mechanismus působení těchto zmíněných rostlin spočívá v uvolňování aromatických látek do půdy. Bylo prokázáno, že tyto látky vedou k významné provokaci spor *P. brassicae* ke klíčení. Tyto zoospory nemají možnost infikovat hostitelské rostliny a dochází tak k rychlému snížení dormantních spor na daném území. Z ekonomického hlediska je však tato možnost boje s nádorovitostí značně nevhodná. Dané poznatky jsou uvedeny například v práci Rod (1994) *The effect of some herbs on soil infestation with clubroot*

- Jak lze řešit skutečnost, že monogenně determinovaná rasově specifická **rezistence** je u odrůd **překonána** během několika málo let pěstování?

Tento problém lze řešit na několika úrovních. Primárně vždy na úrovni agrotechnických opatření. Vzhledem k omezené možnosti šíření je prolomení rezistence u rezistentní odrůdy lokalizováno jen na velice malém území, pravděpodobně vznikem nového mutovaného patotypu. Použití chemických přípravků nebo vyřazení této plochy pro pěstování brukvovitých plodin je více než vhodné. Druhou úrovní je samotné šlechtění rezistentní odrůdy. Pokud je rezistence založena jen na jednom R genu, lze předpokládat, že k prolomení dojde v řádu let. Kumulací více R genů v rámci jedné odrůdy se bude výrazně snižovat šance, že rezistence bude překonána. Další možností je kombinace patotypově specifického R genu s R genem patotypově nespecifickým. Pokud je mi známo, do současnosti patotypově nespecifický R gen nebo lokus nebyl nalezen u žádného z druhů *B. napus*, *B. oleracea* ani *B. rapa*. Poslední možností se jeví využití R genu v kombinaci s velkým množstvím genů polygenního účinku. Šlechtění takové odrůdy však bude daleko náročnější než předchozí případy.

- Které části práce zpracoval autor samostatně a na kterých se podílel?

Sekvenování transkriptomů, zpracování těchto dat, jejichž výsledkem byla identifikace SNP markerů a kvantifikace míry exprese, byly již publikovány dříve, tak jak je uvedeno v metodice včetně odkazů na dané publikace. Osobně jsem se podílel na testování genotypů k nádorovitosti a zpracování dat. Samostatně jsem prováděl vše ostatní, tedy primárně provedení asocičních analýzy jejich vyhodnocení a vizualizace.

Viz následující slide

Otázky a připomínky doc. Ing. František Hnilička, Ph.D.

- Prosim o vysvětlení pojmů **vápenaté deriváty** a **nakažené půdy**.

Pojmem „vápenatými deriváty“ zmíněný v kapitole 2.3.3 jsou obecně myšleny popisované látky používané k vápnění proti nádorovitosti (uhlíčitan vápenatý, uhlíčitan vápenatohřečnatý, hydroxid vápenatý, oxid vápenatý, kyanamid vápenatý a kyanid vápenatý). Jsem si vědom, že tento pojem není úplně vhodný, podobně jako pojem „nakažené půdy“, kterým jsem myslel půdu, která obsahuje spory nádorovky.

- Prosim také o vysvětlení **dvojitho psaní fyzikálních jednotek**, kdy jednou je to psáno slovně a podruhé příslušným fyzikálním označením.

Oponent pravděpodobně myslel nejednotnost v psaní „procent“ a „%“. Standardně je v textu použito slovní výraz „procent“ vyjma dvou případů. Značení „%“ je poté používáné v případech tabulek nebo jiných výpisů uzavřených v závorkách jako například AT5G11250.3 Disease resistance protein 75 %, $5e^{-129}$), Bo7g107730.1 (AT5G11250.3, 75 %, $1e^{-118}$) a Bo7g107740.1 (AT5G11250.3, 75 %, $3e^{-125}$) apod.

- Dá se ze získaných výsledků u sledovaných genotypů řepky stanovit nějaký **trend** či **závislost**, která by byla využitelná v rámci **dalšího šlechtění** či výběru šlechtitelského materiálu?

Z fenotypových dat indexu napadení DI lze pozorovat jasné oddělení skupiny rezistentních genotypů $DI < 20$ a vzdáleně normálního rozdělení zbylých genotypů $DI > 20$. Tento fakt vede k domněnce, že rezistence k nádorovitosti je řízena jedním dominantním genem, který je doplněn několika dalšími geny polygenního účinku. Daný problém je také rozveden v diskuzi v kapitole 6.1.

- Závěry jsou shrnující a postihují významné dosažené výsledky, možná bych je uvedl pro přehlednost do bodů a seřadil bych je podle cílů a hypotéz. Poněkud v této části postrádám potvrzení či vyvrácení vědeckých hypotéz a splnění cílů.

Cíle práce:

- Otestování miry odolnosti k nádorovce u kolekce genotypů *B. napus*
- Využití transkriptomických a fenotypových dat k asocičním analýzám (SNP, GEM)
- Vytipování kandidátních genů v obranných reakcích proti nádorovitosti

Závěry práce:

- Testovaná kolekce genotypů *B. napus*, která vykazovala vysokou variabilitu a odhalila genové zdroje rezistence do šlechtění
- Výsledek SNP asociční analýzy představuje 81 SNP markerů asociovaných s odolností k nádorovitosti ve 9 rezistentních lokusech, následnou anotací, GO a InterPro analýzou bylo vybráno 66 kandidátních genů
- Celkový výsledek z GEM asociativní analýzy ukazuje na 19 asociovaných genů, následnými analýzami těchto genů bylo vybráno 12 kandidátních genů

- V uvedené disertační práci však postrádám kapitolu věnovanou rozvoji dané vědní disciplíny a uplatnění výsledků v praxi. Bývá totiž zvykem, že uvedená kapitola je součástí disertační práce. Prosim disertanta, aby se v rámci obhajoby své práce zaměřil také na tuto otázku.

Výsledky této práce přinášejí mnoho nových poznatků jak pro šlechtění proti nádorovitosti, tak i pro samotné pochopení principu obranného mechanismu, který v rostlinném organismu probíhá při napadení tímto patogenem. Fenotypové testování náchylnosti k nádorovitosti ukazuje na mnohé nové genové zdroje rezistence v testované kolekci. Tyto informace mohou být použity přímo šlechtiteli pro vývěr vhodných komponent do šlechtitelského programu při tvorbě odolných odrůd.

Výsledky z SNP asociací analýzy představují mnoho asociovaných SNP markerů, které mohou být dále využity pro marker asistovanou selekci ve šlechtění.

Nakonec GEM asociací analýza společně s SNP analýzou představují přímo návrhy kandidátních genů a podhalují některé možné mechanismy samotné rezistence v genomu *Brassica napus*.

- Bohužel několik literárních pramenů jsem v přehledu literatury nenašel, nebo byl rozpor mezi citováním v textu a v přehledu použité literatury. Jedná se např. o citování zdroje Hwang et al. (2012a; 2012b, kdy v textu je uvedena citace Hwang et al. (2012; 2012a). Dále jsem nenašel citaci Etchells et al. (2012)Liu et al. (2009), Xie et al. (2005). Rozpor byl u citace Capel a Charles et al. (2016) x Copeland et al. (2016). V přehledu chybí také odkaz na citované webové stránky. Naopak několik pramenů jsem nenašel nebo přehlédl v textu (např. Auer et al. (2015); Copeland et al. (2016); Dixen (2006); Hirai et al. (2004); Li et al. (2009); Piao et al. (2004), Porteous et al. (1994) a Sakamoto et al. (2008).

Vzhledem k počtu citovaných zdrojů byl využitý placený citační program, kterým bylo řešeno, jak vkládání citací v průběhu psaní textu, tak i vygenerování citované literatury. V programu byla zvolena citační norma ČSN ISO 690. Po prozkoumání zmíněných citací jsem v práci ve dvou případech našel špatně uvedenou citaci a ve dvou případech chyběla citace v seznamu literatury. Chybějící citované práce jsou uvedeny na opravném listu a ten je vložen do disertace.

➤ Jaké jsou perspektivy šlechtění řepky na nádorovitost?

Na základě rozšiřujících se oblastí zasažených tímto patogenem se v posledních více jak 10 letech věnuje nádorovitosti zvýšená pozornost. Do současnosti byl největší pokrok učiněn v mapování rezistentních lokusů. Budoucnost šlechtění leží hlavně v identifikaci kvalitních rezistentních genotypů, které v ideálním případě budou odolné nejen na úrovni jednoho nebo menšího množství patotypů, ale v ideálním případě vůči všem patotypům *P. brassicae*. Doposud takový zdroj genový nebyl nalezen, a proto se nyní reálněji jeví možnost šlechtění na základě kumulace co možná největšího množství identifikovaných R lokusů/R genů do výsledné rezistentní odrůdy. V neposlední řadě je třeba říci, že samotné šlechtění nebude ani v budoucnosti jediným faktorem potlačujícím tento patogen, vždy bude muset být doplněn vhodnými agrotechnickými opatřeními, které zabráňují šíření na další osevní plochy.

➤ Vysvětlíte pojem hypersenzitivní reakce?

Hypersenzitivní reakce je v práci myšlena jako obranný mechanismus rostlinné buňky, který v případě rozpoznání přítomnosti patogenu aktivuje buněčnou smrt, a tím zamezí jeho vývoji a šíření. Tento signál může být přenesen do okolních buněk případně i vést k systémové rezistenci. Velice účinný je tento mechanismus proti biotrofním patogenům jako je například *Plasmodiophora brassicae*. Naopak některé nekrotrofní patogeny dokáží využít tuto reakci ve svůj prospěch, a proto i tento mechanismus musí být v rostlinných buňkách striktně regulován.

- **Bylo by možné využít regulátory růstu jako možný ochranný prostředek vůči nádorovitosti?**

Vzhledem k tomu, že nádorovitost k tvorbě zduřelin a nádorů na kořenech rostlin využívá narušení růstových hormonů, nabízí se otázka, zda umělé využití růstových regulátorů může sloužit jako ochranný prostředek. I přes intenzivní hledání se mi nepodařilo v literatuře nalézt jediný příklad pozitivního vlivu některého z regulátorů růstu proti nádorovitosti. Jedinou výjimku tvoří přípravek ALGINURE, který dle mého názoru nepatří úplně mezi typické růstové regulátory, nicméně je mezi ně řazen. Tento biologický pomocný prostředek určený pro řepku je vyroben z výtazků mořských řas. Jeho použití je preventivní, kdy po aplikaci dochází v rostlině ke zvýšení obsahu fytoalexinů, PR proteinů a dalších látek, které pozitivně ovlivňují obranyschopnost řepky vůči chorobám včetně nádorovitosti.

Zápis obhajoba DSP

Mgr. Ing. Ondřej Hejna

13.11.2019

Zahájení – prof. Pokorný, představení komise a studenta, představil CV, publikační aktivitu, řešené projekty, byly představeny i ohlasy na disertační práci od pracovníků šlechtitelských firem

O. Hejna - představení tématu DSP a průběhu řešení DSP, dosažené výsledky

Oponenti – doc. Řepková, doc. Hnilička, doc. Vejl – přednesli posudky, vyzdvihli aktuálnost a potřebnost tématu, nové metody a přístupy použité v práci, význam pro praxi a šlechtění, vědecký význam práce, přednesli připomínky a dotazy a doporučili práci k obhajobě

O. Hejna – odpověděl na dotazy a připomínky oponentů, odpovědi byly zcela vyčerpávající

Rozprava k DDP:

doc. Vejl – návrh rychlé detekční metody použitelné pro screening šlechtitelských populací, metoda použitelná i v laboratořích šlechtitelů, návrh sondy pro detekci genů rezistence, identifikace kandidátních genů rezistence

prof. Pokorný – jak se *P. brassicae* šíří, jaký patotyp či smě patotypů byla používána

doc. Vyhnánek – rozdělení testovaných genotypů do skupin a jejich fenotypový popis

doc. Baránek – jakým způsobem byla provedena GEM analýza, jak byly detekovány exprimované geny, korelace mezi expresí u infikovaných a neinfikovaných rostlin

Ing. Žabka – jak byla prováděna inokulace

Ing. Klíma – je možná záměna s jiným patogenem (nádory na kořenech)

prof. Pokorný – vysvětlení termínů rezistence, hodnocení rezistence k patogenům

doktorand zodpověděla na všechny položené dotazy, komise konstatovala, že byl schopna reagovat na dotazy a odpovědi byly v pořádku

13.11.2019
V.S.