



Univerzita Hradec Králové
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: **Biologie**

Studijní obor: **Aplikovaná biologie a ekologie**

Témata disertačních prací v roce 2019

Schválená oborovou radou ABE 13.2. 2019



Změny v primárním a sekundárním metabolismu rostlin po napadení hmyzími herbivory

Changes of the primary and secondary plant metabolism after the insect herbivores attack

Školitel: **doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.**

Konzultantka : RNDr. Zuzana Kovalíková (Dučaiová), Ph.D.

Při napadení býložravým hmyzem zvyšují rostliny produkci některých látek sekundárního metabolismu. Jejich detergentní nebo přímo toxické účinky na herbivorní hmyz, jsou jednou z celé škály obranných reakcí rostlin. Syntéza těchto látek vychází z několika málo prekurzorů primárního metabolismu (např. acetyl-CoA, aminokyselin, organických kyselin, které jsou součástí hlavní metabolické osy glykolýzy a Krebsova cyklu). Primární a sekundární metabolismus je tak navzájem úzce propojen a nelze mezi nimi udělat ostrou hranici. Význam řešení této problematiky je značný jednak v tom, že napomáhá vyvíjet nové insekticidy založené na přírodní bázi a na druhé straně se může podílet na omezování použití chemických přípravků v ochraně rostlin.

Cílem práce je výzkum závislosti mezi napadením rostlin vybranými herbivory a produkcí některých primárních metabolitů např. aminokyselin, včetně změn jejich poměru, sledovány budou i vybrané organické kyseliny (např. fumarová, šikimová, citronová, askorbová aj.), látky související s oxidačním stresem (např. superoxid, peroxid vodíku, MDA aj.). U sekundárních metabolitů budou např. stanoveny vybrané signální látky a látky fenolického charakteru, jejichž účinek není zcela prozkoumán. Dalším cílem jsou změny v zastoupení látek hormonální povahy u sledovaných rostlin. Využity budou různé laboratorní metody (HPLC, fotometrické metody, ELISA, TLC, cytometrické) a další metody molekulární biologie. Výzkum bude probíhat ve spolupráci s vybranými pracovišti v ČR i zahraničí.

Literatura:

- WAR A.R. et al. (2012): Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*, 7(10): 1306–1320. DOI: [10.4161/psb.21663](https://doi.org/10.4161/psb.21663)
- FÜRSTENBERG-HÄGG J. et al. (2013): Plant Defense against Insect Herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5): 10242–10297. DOI: [10.3390/ijms140510242](https://doi.org/10.3390/ijms140510242)
- Li X.Q. et al. (2016): Plant genotypes affect aboveground and belowground herbivore interactions by changing chemical defense. *Oecologia* 182 (4):1107-1115. DOI:10.1007/s00442-016-3719-x
- AHUJA I. et al. (2010) Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. *Agronomy Sustainable Development* . 30: 311–348. DOI:10.1051/agro/2009025
- SINGH B.K. et al. (1999): *Plant amino acids*. Biochemistry and Biotechnology. Marcel Dekker Ing. ISBN 0824702042.

Struktura a funkce xylému ovocných dřevin s různou růstovou a výnosovou charakteristikou

Structure and function of xylem of fruit trees with different growth and yield characteristics

Školitel: **RNDr. Lenka Plavcová, Ph.D.**, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

Konzultant: Ing. Martin Mészáros, Ph.D., Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy

Strukturně-funkční vlastnosti xylému (dřeva) ovlivňují růstový potenciál dřevin a jejich odolnost vůči environmentálnímu stresu (zejména suchu a mrazu). Z hlediska růstového potenciálu a stresové odolnosti dřevin jsou klíčové především transportní a konstrukční vlastnosti xylému, jeho náchylnost k embolii a jeho schopnost akumulovat zásobí látky. Důležitým faktorem je též celková synchronizace mezi vegetativním růstem a tvorbou plodů (např. vzájemné načasování olistění, xylogeneze, kvetení a růstu plodů). Tyto faktory mohou významným způsobem ovlivňovat produkci ovoce.

Cílem práce je porovnání strukturně-funkčních vlastností xylému u vybraných druhů a podnožových kombinací ovocných dřevin. Materiálem pro tento výzkum bude spektrum druhů ovocných dřevin z čeledi Rosaceae. Testováno bude též několik odrůd jabloní a hrušní pěstovaných na různých podnožích, které se vzájemně liší růstovou a výnosovou charakteristikou (konkrétně podnože indukující slabý vs. bujný růst a odrůdy s vysokou/nízkou náchylností ke střídavé plodnosti). Odběry vzorků a terénní měření budou probíhat ve výsadbách ovocných stromů na pozemcích Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského, Holovousy. Hydraulická a anatomická měření budou prováděna v laboratořích PřF Univerzity Hradec Králové. Výstupem práce bude podrobná charakteristika vybraných druhů a podnožových kombinací z hlediska jejich stresové odolnosti a růstových a výnosových vlastností. Výsledky budou přínosné pro šlechtitelství a pomohou vytipovat odrůdy odolné vůči stresovým faktorům, které současně vykazují vhodnou bujnost růstu a poskytují nejvyšší výnos. Výsledky rovněž přispějí k fundamentálnímu porozumění ekofyziologie dřevin.

Literatura:

- Atkinson, C. J., Else, M. A., Taylor, L., & Dover, C. J. (2003). Root and stem hydraulic conductivity as determinants of growth potential in grafted trees of apple (*Malus pumila* Mill.). *Journal of Experimental Botany*, 54(385), 1221-1229.
- Beikircher, B., De Cesare, C., & Mayr, S. (2013). Hydraulics of high-yield orchard trees: a case study of three *Malus domestica* cultivars. *Tree physiology*, 33(12), 1296-1307.
- Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, 4(2), 97-115.
- Tombesi, S., Johnson, R. S., Day, K. R., & DeJong, T. M. (2009). Relationships between xylem vessel characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size-controlling capacity of peach rootstocks. *Annals of Botany*, 105(2), 327-331.

Struktura a funkce dřevního parenchymu v závislosti na podmínkách prostředí Structure and function of wood parenchyma and how it is driven by environment

Školitel: RNDr. Lenka Plavcová, PhD

Dřevo neboli sekundární xylém představuje specializované rostlinné pletivo, které plní řadu funkcí, mezi něž patří především funkce transportní, mechanická a zásobní. Tyto funkce jsou zajištěny třemi typy buněk, ze kterých je dřevo složeno. Jedná se o cévy a cévice podílejícími se na transportu vody a v ní rozpuštěných živin, dále pak o vlákna, která mají podpůrnou mechanickou funkci, a v neposlední řadě o buňky radiálního a axiálního parenchymu, které jsou zodpovědné za skladování a transport zásobních látek. Zatímco struktura a funkce xylémových cév a vláken již byly poměrně dobře prostudovány, o parenchymatických buňkách máme mnohem méně informací. Celkové množství i jemnější anatomické vlastnosti parenchymatických buněk se u různých druhů dřevin značně liší, přičemž studium těchto rozdílů napomáhá k porozumění ekofyziologických funkcí těchto buněk. Z dosavadního výzkumu vyplývá, že více dřevního parenchymu mají druhy rostoucí v teplejších a sušších oblastech. Není ale jasné, jaký je funkční význam této variability (např. změněná kapacita pro akumulaci zásobních látek) a zda podobné rozdíly existují i na vnitrodruhové úrovni (tj. při porovnání jedinců téhož druhu rostoucích na gradientu teploty a srážek). Zajímavým aspektem biologie dřevního parenchymu je také změna v metabolické aktivitě během vegetačního cyklu, která souvisí se akumulací a mobilizací zásobních látek, zejména nestrukturálních sacharidů. Studovány proto budou sezónní změny v koncentraci sacharidů a aktivity klíčových enzymů sacharidového metabolismu v závislosti na podmínkách prostředí a načasování důležitých fenofází (rašení pupenů, kvetení, senescence listů).

Cílem práce je zjistit, jak se liší struktura a funkce radiálního a axiálního parenchymu ve dřevě vybraných druhů (např. *Fagus sylvatica*, *Quercus robur*) v závislosti na teplotě a srážkách. Pro tento účel budou vybrány vhodné lokality na gradientu prostředí, na kterých budou provedeny odběry vzorků dřeva z kmene, větví a kořenů. Na menším počtu lokalit budou také prováděny opakované sezónní odběry. Laboratorní analýzy budou zahrnovat přípravu a studium anatomických preparátů, měření obsahu sacharidů a měření enzymatické aktivity.

Literatura:

- Hacke, U. G., & Sperry, J. S. (2001). Functional and ecological xylem anatomy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2), 97-115.
- Martínez-Cabrera, H. I., Jones, C. S., Espino, S., & Schenk, H. J. (2009). Wood anatomy and wood density in shrubs: responses to varying aridity along transcontinental transects. *American Journal of Botany*, 96(8), 1388-1398.
- Morris, H., Plavcová, L., Cvecko, P., Fichtler, E., Gillingham, M. A., Martínez-Cabrera, H. I., ... & Jansen, S. (2016). A global analysis of parenchyma tissue fractions in secondary xylem of seed plants. *New Phytologist*, 209(4), 1553-1565.
- Plavcová, L., & Jansen, S. (2015). The role of xylem parenchyma in the storage and utilization of nonstructural carbohydrates. In *Functional and Ecological Xylem Anatomy* (pp. 209-234). Springer International Publishing.
- Schrader, S., & Sauter, J. J. (2002). Seasonal changes of sucrose-phosphate synthase and sucrose synthase activities in poplar wood (*Populus× canadensis* Moench 'robusta') and their possible role in carbohydrate metabolism. *Journal of Plant Physiology*, 159(8), 833-843.

Optimalizace závlahového režimu v ovocných sadech: zhodnocení vlivu různých závlahových režimů na růst a vodní provoz ovocných dřevin
Optimizing irrigations of fruit orchards: the effect of different irrigation regimes on growth and water relations of fruit trees

Školitel: **RNDr. Lenka Plavcová, Ph.D.**, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Hradec Králové

Konzultant: Ing. Martin Mészáros, Ph.D., Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy

Očekávaný nárůst četnosti, trvání a intenzity epizod sucha přináší vyšší potřebu aplikace umělých závlah v ovocných sadech. Použití závlah však často naráží na omezenou dostupnost disponibilních vodních zdrojů v suchých obdobích. Z tohoto důvodu, a současně i z ekonomického hlediska, je klíčové vodní zdroje využívat s maximální efektivitou. Zavlažování v režimu regulated deficit irrigation (RDI) teoreticky umožňuje úsporu vody při současném zachování objemu a kvality produkce. RDI je založeno na principu sníženého dávkování závlahy (70 – 75 %) s ohledem na aktuální evapotranspirační potřebu (ETa) ovocné dřeviny v určité fázi vývoje v průběhu růstu. Ovocné dřeviny mají s ohledem na výnos ovoce obecně nejvyšší potřebu na zásobování vodou v období po odkvětu, kdy dochází k růstu mladých plůdků. Optimální nastavení řízení závlah však vyžaduje co nejpřesnější zmapování a kvantifikaci významných vazeb v systému atmosféra-půda-produkční sad v cílené oblasti.

Cílem práce proto je zhodnotit vybrané varianty závlahových režimů z hlediska jejich vlivu na růst a vodní provoz ovocných dřevin. Testovány proto budou následující varianty závlahových režimů: 1) nezavlažovaná kontrola, 2) režim plné závlahy, 3) režim se sníženou závlahou v průběhu vegetační sezóny, 4) režim se sníženou závlahou ve fázi plného růstu letorostů a pomalého růstu plodů s opětovným obnovením plné dávky závlahy v dalších fázích vývoje, 5) režim se sníženou závlahou v době po ukončení růstu letorostů a plného růstu plodů. Během vegetační sezóny budou v pokusných porostech měřeny parametry listové výměny plynů, vodní potenciál, hydraulická vodivost a výskyt embolie ve vodivých pletivech. Terénní měření a odběry vzorků budou probíhat na pozemcích Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského, Holovousy, kde budou aplikovány jednotlivé závlahové varianty. Hydraulická a anatomická měření pak budou prováděna v laboratořích PřF Univerzity Hradec Králové. Naměřená data umožní zhodnocení přínosu jednotlivých závlahových režimů pro prospívání ovocných stromů a poslouží jako vstupní a validační parametry do modelů vláhové bilance ovocných sadů.

Literatura:

- Bodner, G., Nakhforoosh, A., & Kaul, H. P. (2015). Management of crop water under drought: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 401-442.
- Goodwin, I., & Boland, A. M. (2002). Scheduling deficit irrigation of fruit trees for optimizing water use efficiency. In *Deficit irrigation practices* FAO.
- Fichot, R., Barigah, T. S., Chamaillard, S., Le Thiec, D., Laurans, F., Cochard, H., & Brignolas, F. (2010). Common trade-offs between xylem resistance to cavitation and other physiological traits do not hold among unrelated *Populus deltoides* × *Populus nigra* hybrids. *Plant, Cell & Environment*, 33(9), 1553-1568.
- Pérez-Sarmiento, F., Mirás-Avalos, J. M., Alcobendas, R., Alarcón, J. J., Mounzer, O., & Nicolas, E. (2017). Effects of regulated deficit irrigation on physiology, yield and fruit quality in apricot trees under Mediterranean conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(4), 1205.

Věkově a velikostně závislé změny intenzity růstových disturbancí stromů Age and size dependent changes of trees growth disturbances intensities

Školitel: doc. RNDr. Karel Šilhán, Ph.D.

Růstové disturbance stromů jsou základními formami odezev na anomální externí vlivy. Patří mezi nejdůležitější indikátory měnících se ekologických podmínek, i existence stresových eventů během historie života stromu. Jejich studium je stěžejní v rámci dendroekologických disciplín, zaměřených na dynamiku vývoje lesních společenstev, analýzu frekvence historických přírodních disturbancí, nebo studium probíhajících environmentálních změn. V minulosti bylo již několikrát naznačeno, že intenzita i typ růstových disturbancí se mění v závislosti na stáří stromu, ale i velikosti stromu (průměru kmene). Změna schopnosti stromu reagovat na externí vlivy je nejčastěji přisuzována narůstající tloušťce borky, ztrátě elasticity kmenu nebo obecně se snižujícím ročním tloušťkovým přírůstkům. Odhalení závislostí změn intenzity a typů růstových disturbancí na stáří/velikosti stromů je jedním z klíčů k zefektivnění dendroekologických metodických postupů.

Cílem práce je odhalit schéma měnících se intenzit a typů růstových odezev vybraných druhů stromů (*Picea abies* (L.) Karst.; *Larix decidua* Mill.; *Fagus sylvatica* L.) v závislosti na změně stáří a velikosti stromů, ale i intenzitě externích vlivů. Ke splnění cíle práce budou využity standardní dendrochronologické letokruhové analýzy a mikroskopické analýzy anatomie dřevních vzorků na mikrořezech. Analyzovány budou stromy s viditelnými projevy externích disturbancí (nakloněný kmen, zajizvení, pohřbení báze kmene atd.).

Literatura:

- ARBELLAY, E., FONTI, P., STOFFEL, M.: Duration and extension of anatomical changes in wood structure after cambial injury. *Journal of Experimental Botany*. **2012**, 63: 3271–3277.
- BALLESTEROS-CANOVAS, J., A., STOFFEL, M., BODOQUE DEL POZO, J., M., BOLLSCHWEILER, M., HITZ, O. M., DIEZ-HERRERO, A.: Changes in wood anatomy in tree rings of *Pinus pinaster* Ait. following wounding by flash floods. *Tree-Ring Research*. **2010**, 66: 93–103.
- KOGELNIG, B., STOFFEL, M., SCHNEUWLY-BOLLSCHWEILER, M.: Four-dimensional growth response of mature *Larix decidua* to stem burial under natural conditions. *Trees – Structure and Function*. **2013**, 27: 1217–1223.
- SCHNEUWLY, D., M., STOFFEL, M., DORREN, L., K., A., BERGER, F.: Three-dimensional analysis of the anatomical growth response of European conifers to mechanical disturbance. *Tree Physiology*, **2009**, 29: 1247–1257.
- STOFFEL, M., CORONA, C.: Dendroecological dating of geomorphic disturbance in trees. *Tree-Ring Research*, **2014**, 70: 3–20.
- ŠILHÁN, K., STOFFEL, M.: Impacts of age-dependent tree sensitivity and dating approaches on dendrogeomorphic time series of landslides. *Geomorphology*, **2015**, 236: 34–43.
- ŠILHÁN, K., PÁNEK, T., HRADECKÝ, J.: Implications of spatial distribution of rockfall reconstructed by dendrogeomorphological methods. *Natural Hazards and Earth System Sciences*, **2013**, 13: 1817–1826.

Přenos insekticidů do pylu, larev a těl zednic využívaných k opylování ovocných stromů Transfer of insecticides into the pollen, larvae and adults of mason bees used for pollination of fruit trees

Školitel: **doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D.**

Konzultant: PharmDr. Rudolf Andrýs, Ph.D.

Cílem práce je studium obsahu účinných látek běžně používaných insekticidů využívaných v chemické ochraně jablek a dalších ovocných stromů, které se běžně pěstují. Studium proběhne za využití hnízdních bloků pro zednice *Osmia bicornis* a *Osmia cornuta*, z nichž budeme získávat pyl a larvy hnízdících druhů. Budeme srovnávat obsah účinných látek v různých typech sadů a v sadech s různým typem ochrany – biosady bez chemické ochrany, sady s využitím IPM, a sady s vyloženě chemickou ochranou. Proběhne i kontrola obsahu těchto látek v ovoci. Obsah účinných látek budeme měřit s využitím kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Kromě České republiky proběhnou srovnávací studie i v sadech v okolí města Lleida ve Španělsku (Katalánsko), ve spolupráci s IRTA Lleida a CREA Barcelona. Z českých institucí budeme spolupracovat s VÚO Holovousy, pěstitelskými firmami a Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích. Studie bude významná především v tom, že testování akumulace těchto látek se zatím málo studovalo, a když, tak na včele medonosné nebo čmeláku zemním, zatímco u těchto alternativních druhů opylovačů, kteří jsou čím dále více využíváni, se dosud podrobně nestudovalo.

Literatura:

- Alston D. G., Tepedino V. J., Bradley B. A., Roler T. R., Griswold T. L., Messinger S. M. 2007: Effects of the Insecticide Phosmet on Solitary Bee Foraging and Nesting in Orchards of Capitol Reef National Park, Utah. *Environmental Entomology* 36: 811–816.
- Biddinger D. J., Robertson J. L., Mullin C., Frazier J., Ashcraft S. A., Rajotte E. G., Joshi N. K., Vaughn M. 2013: Comparative Toxicities and Synergism of Apple Orchard Pesticides to *Apis mellifera* (L.) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski). *PLoS ONE* 8(9): e72587.
- Bosch J., Kemp W. P. 2002: Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. *Bulletin of Entomological Research* 92: 3–16.
- Piechowicz P., Woś I., Podbielska M. & Grodzicki P. 2018: The transfer of active ingredients of insecticides and fungicides from an orchard to beehives. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 53: 18-24.
- Wade A., Lin C.H., Kurkul C., Regan E.R., Johnson R. M. 2019: Combined Toxicity of Insecticides and Fungicides Applied to California Almond Orchards to Honey Bee Larvae and Adults. *Insects* 10: 20.

Specializace včel (Hymenoptera: Apoidea) na sběr pylu **Specialization of bees (Hymenoptera: Apoidea) for pollen collecting**

Školitel: **doc. Mgr. Petr Bogusch, Ph.D.**

Konzultant: doc. RNDr. Petr Kuneš, Ph.D., Katedra botaniky, Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Karlova v Praze

Včely (Apoidea) a medovosy (Vespidae: Masarinae) jsou jedinými skupinami blanokřídlých, které krmí své potomstvo v hnízdech rostlinnou potravou, jejíž hlavní složkou je především pyl. Mnoho druhů včel sbírá pyl na řadě druhů rostlin, jsou však druhy, které jsou striktně specializované na sběr pylu z jednoho druhu rostliny, nebo druhy vázané na květy rostlin jedné čeledi nebo rodu. Literárních údajů je hodně, ale je nutné je brát s rezervou, protože často obsahují údaje o návštěvách květů samci, kteří pyl nesbírají, a obvykle nejsou specializovaní i u specializovaných druhů.

Zatímco většina dat o vazbě konkrétního druhu včely na konkrétní druh rostliny byla získána pozorováním včel na rostlinách, v současnosti se začínají uplatňovat palynologické metody při vyhodnocování vztahu včela-rostlina.

Cílem práce je právě pomocí palynologických metod odpovědět na některé základní otázky specializace včel na pyl rostlin:

- 1) Jaké je procento specializovaných (monolektických nebo oligolektických) druhů v rámci střeoevropských včel a jak souvisí specializace včel s jejich ohrožením?
- 2) Jsou samice polylektických druhů opravdu nesespecializované nebo každá létá na jeden druh rostliny? Bude vyhodnoceno u vybraných běžných druhů včel.
- 3) Jak se mění zastoupení pylu během hnízdní sezóny? Některé druhy jsou známé jako striktně specializované, ale létají i hnízdí i v době, kdy jejich známá živná rostlina již nekvete. Kde sbírají pyl?

Dílčím cílem práce bude zjištění pylové specializace u druhů, u nichž se to dosud nevědělo nebo nestudovalo. Předpokladem je publikace hlavních výsledků ve 3-4 člancích s IF (časopisy *Arthropod-Plant Interactions*, *Journal of Insect Conservation* a další), přednáška či poster na vědecké konferenci a odborná stáž na zahraničním pracovišti.

Literatura:

- Beug H.J. 2004: Leitfaden der Pollenbestimmung für Mitteleuropa und angrenzende Gebiete. Friedrich Pfeil, Munich.
- Macek J., Straka J., Bogusch P., Bezděčka P., Dvořák L., Tyrner P. 2010: Blanokřídlí České republiky. I - Žahadloví. Academia, Praha.
- Scheuchl E. & Willmer W. 2016: Taschenlexikon der Wildbienen Mitteleuropas. Quelle & Meyer Verlag, Wiebelsheim.

Vliv fungicidních látek na necílové organismy **The influence of fungicides non-target organisms**

Školitel: **RNDr. Pavel Pech, Ph.D.**

Fungicidní přípravky jsou široce používané v zemědělství, zahradnictví i potravinářství. Přestože jejich toxicita na necílové organismy je testována na modelových druzích, subletální efekty na necílové organismy (např. snižování plodnosti) jsou prozkoumány velice málo.

Cíle práce:

Testovat vliv vybraných běžně používaných fungicidních látek na vybrané bezobratlé živočichy, zejména s ohledem na jejich plodnost, případně změny jejich mikrobiomu. Možné je věnovat se i samostatně změnám společenstev půdních a vodních mikroorganismů vlivem těchto fungicidů - záleží na dohodě školitele a zájemce.

Fungicides are widely used in agriculture, horticulture and food processing industry. Their toxicity is extensively tested on model species. On the other hand, sublethal effects on non-targeted organisms (e.g. the effect on the fecundity) are poorly known.

Aims: To test the effect of selected fungicides on fecundity and/or microbiome changes of selected invertebrate animals. The study of effects of these fungicides on water or soil microorganisms is also possible.

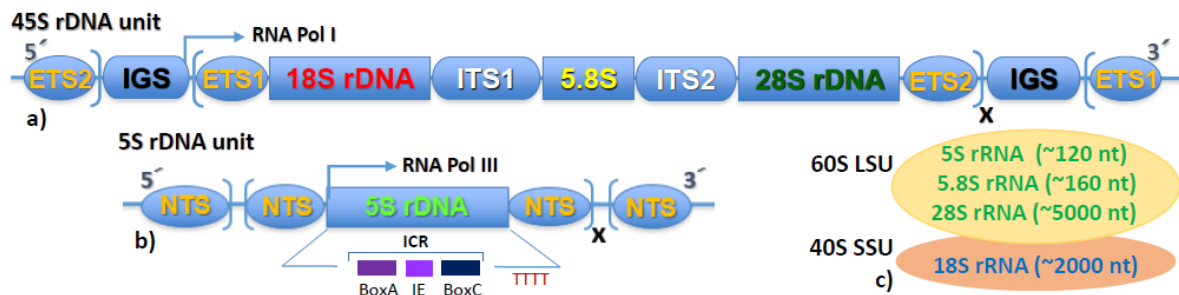
Literatura:

- Heneberg P., Svoboda J. & Pech P. 2018: Benzimidazole fungicides are detrimental to common farmland ants. – *Biological Conservation*, 221: 114–117.
- Pech P. & Heneberg P. 2015: Benomyl treatment decreases fecundity of ant queens. – *Journal of Invertebrate Pathology*, 130: 61–63.

Evoluce rDNAomu ryb Evolution of rDNAome in fish

Školitelka: **Mgr. Radka Symonová, Ph.D.**

Jaderné geny kódující rRNA (tj. rDNA, viz obr. 1) tvoří jednu z nejarchaičtějších a nejuniverzálnějších frakcí eukaryotického genomu. Vlastní rRNA se pak podílí 60-80% na celkové buněčné RNA, což ilustruje potřebu masivní transkripce rDNA spolu se skutečností, že obratlovčí buňka má až milion ribozomů. Z těchto důvodů se v genomu eukaryot vyskytuje rDNA ve velkém a někdy velmi variabilním počtu kopií. U některých prvků a třeba i ryb jde o desítky až stovky tisíc kopií rDNA, čímž vytváří vlastní (sub)genom, rDNAome. Tento repetitivní charakter rDNA má však za následek značné komplikace při sekvenování a assemblování genomů. Vypořádat se s tímto problémem se začíná dařit až v posledních letech díky rozmachu technologií umožňujících tzv. long-read sekvenování. Další zásadní vlastností rDNA je její extrémní obohacení o GC nukleotidy. Jestliže lidský genom globálně obsahuje ca. 40.9 % GC (a tedy ca. 59.1 % AT), tak rDNA může obsahovat až kolem 80 % GC. Existují hypotézy této GC bohatosti, zatím však v této otázce chybí obecný konsenzus. Proveditelnost tohoto PhD projektu je v současnosti umožněna skutečností, že jsou veřejně k dispozici genomy 200 druhů ryb a několik stovek druhů savců a ptáků.



Obr. 1 Brief guide to rDNA (Symonová, *in press*).

Cíle práce:

Kvantifikace počtu rDNA kopií z genomů a transkriptomů ryb

Kvalitativní analýza sekvencí rDNA s cílem určení míry sekvenční homogenity

Fylogenetická/fylogenomická analýza GC obsahu a délky 45S a 5S rDNA obratlovců s důrazem na ryby

Komparativní analýza sekundární struktura 5S rRNA a ITS2 na vnitro- a mezi-druhové úrovni

Literatura:

HIGGS PG, ATTWOOD TK.: Bioinformatics and Molecular Evolution. 2005, Blackwell Publishing

KUPRIYANOVA N et al.: Vertebrate evolution reflected in the evolution of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 2. *Gene* 2012, 508: 85-91

PEVSNER J.: Bioinformatics and Functional Genomics. 2015, 3rd Ed. Willey

SYMONOVÁ R, HOWELL WM.: Vertebrate Genome Evolution in the Light of Fish Cytogenomics and rDNAomics. *Genes* 2018, 9(2)

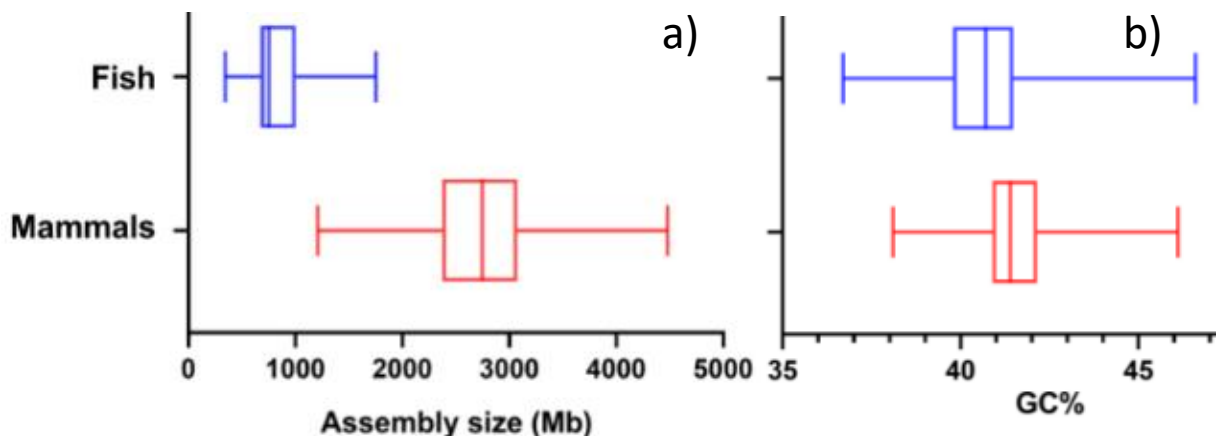
SYMONOVÁ R.: Integrative rDNAomics – importance of the oldest repetitive fraction of the eukaryote genome. *Genes in press*

Bioinformatická a biostatistická analýza genomu obratlovců – vztah délky kódujících oblastí DNA a regulačních elementů a jejich GC obsahu

Bioinformatics and biostatistics analysis of vertebrate genome – relationship between length and GC content of coding regions and regulatory elements

Školitelka: Mgr. Radka Symonová, Ph.D.

Na fylogenetickém stromu obratlovců existují pozoruhodné a dosud nepochopené rozdíly ve velikosti genomu a v obsahu a distribuci nukleotidů GC vs. AT (viz Obr. 1). Ryby, které prošly 3. celogenomovou duplikací mají podstatně menší genom než savci, jejichž genom byl v historii obratlovců duplikován pouze dvakrát. Genom ryb je GC homogenizován oproti savčímu AT/GC heterogennímu genomu, kde se střídají cytogeneticky a bioinformaticky rozlišitelné AT-bohaté úseky s GC-bohatými. Navíc u ryb ke zvýšení celkové proporce GC nukleotidů (GC%) dochází redukcí velikosti genomu. Tato závislost mezi GC% a velikostí genomu u savců neplatí. Jedním potenciálním vysvětlením těchto rozdílů je délka a GC% exonů a intronů a dále délka a GC% regulačních elementů jako jsou promotory, enhancery, UTRs. Dalším nezanedbatelným faktorem je proporcionalita repetitivních úseků, zejm. transpozonů. Proveditelnost tohoto PhD projektu je v současnosti umožněna skutečností, že jsou veřejně k dispozici genomy 200 druhů ryb a několik stovek druhů savců a ptáků.



Obr. 1 Porovnání velikostí genomů a) a GC% b) ryb (modře) a savců (červeně). (Symonová, unpubl).

Cíle práce:

Automatizovaná identifikace kódujících a regulačních oblastí DNA v osekvenovaných genomech obratlovců

Analýza GC obsahu a délky jednotlivých frakcí genomu obratlovců v komparačně fylogenetickém kontextu

Literatura:

- CANAPA A, BARUCCA M, BISCOTTI MA, FORCONI M, OLMO E. 2015: Transposons, Genome Size and Evolutionary Insights in Animals. Cytogenetic and Genome Research
MORIM T, SMAERS J, SYMONOVÁ R.: Genome Size Evolution on Fish Phylogenetic Tree (*in prep*)
PEVSNER J.: Bioinformatics and Functional Genomics. 2015, 3rd Ed. Willey

Příprava a hodnocení nových povrchově aktivních sloučenin **Preparation and evaluation of novel surfactants**

Školitel: **prof. Ing. Kamil Kuča, Ph.D.**

Konzultant: RNDr. Dávid Maliňák, PhD.

Povrchově aktivní sloučeniny (surfaktanty) mají v biologických aplikacích mnoho použití. Mají účinky ochranné, antimikrobní, antineoplastické ad. Základem jejich účinku je micelární efekt, kdy jsou schopny tvořit micely na rozhraní dvou fází. Surfaktanty mohou mít neutrální, anionický nebo kationický charakter. Kationické surfaktanty jsou dobře známé pro své antimikrobní účinky a jako povrchové modifikace nanočástic. Z tohoto důvodu jsou často využívány jako povrchová desinficiencia nebo modifikace povrchů různých nanočástic za účelem teranostiky.

Cíle práce:

Příprava nových sloučenin

Testování nových sloučenin

Literatura:

- Malinak, D.; Dolezal, R.; Marek, J.; Salajkova, S.; Soukup, O.; Vejsova, M.; Korabecny, J.; Honegr, J.; Penhaker, M.; Musilek K.; Kuca, K.* 6-Hydroxyquinolinium salts differing in the length of alkyl side-chain: Synthesis and antimicrobial activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2014, vol. 24, no. 22, p. 5238–5241. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.09.060
- Zarska, M.; Sramek, M.; Novotny, F.; Havel, F.; Babelova, A; Mrazkova, B.; Benada, O.; Reinis, M.; Stepanek, I.; Musilek, K.; Bartek, J.; Ursinyova, M.; Novak, O.; Dzijak, R.; Kuca, K.; Proska, J.; Hodny, Z. Biological safety and tissue distribution of (16-mercaptohexadecyl)trimethylammonium bromide-modified cationic gold nanorods. *Biomaterials*. 2018, vol. 154, no. 1, p. 275-290. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.044

Design, příprava a hodnocení malých molekul pro neurodegenerativní onemocnění **Design, preparation and evaluation of small molecules for neurodegenerative diseases**

Školitel: **prof. Ing. Kamil Kuča, Ph.D.**

Konzultant: Mgr. Eugenie Nepovimová, Ph.D.

Stárnutí je komplexní proces. Pouhým pozdržením nástupu jednotlivých pro stáří specifických symptomů nemůžeme docílit zpomalení procesu stárnutí jako takového. Stejně principy platí i v případě neurodegenerativních onemocnění, tj. ovlivněním jediného proteinu nelze zastavit či předejít vzniku demence. V současné době dostupná senolytika a antidementiva vykazují řadu nežádoucích účinků: diabetes-připomínající vedlejší účinky, krátkodobý efekt, gastrointestinální potíže nebo slabý přechod přes hematoencefalickou bariéru. Vzhledem k tomu, že populace neustále stárne a zároveň přibývá starších lidí trpících některou z forem demence, design a syntéza nových molekul se zlepšenými účinky je velmi žádoucí.

Cíle práce:

Design nových sloučenin

Příprava nových sloučenin

Testování nových sloučenin

Literatura:

MARESOVA, P. – MOHELSKA, H. – KUČA, K. Drugs and Health Care Expenditure on the Aging Population. *Česká a Slovenská Farmacie*. 2015, 64(5), p. 173-177.

ZEMEK, F. – DRTINOVA, L. – NEPOVIMOVA, E. – SEPSOVA, V. – KORABECNY, J. – KLIMES, J. – KUČA, K. Outcomes of Alzheimer's disease therapy with acetylcholinesterase inhibitors and memantine. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2014, 13(6), p. 759-774. DOI: 10.1517/14740338.2014.914168.

Lipidomická analýza pomocí superkritické fluidní chromatografie a hmotnostní spektrometrie

Lipidomic analysis using supercritical fluid chromatography and mass spectrometry

Školitel: **doc. Ing. Miroslav Lída, Ph.D.**

Lipidy jsou biologicky aktivní látky, které mají v lidském organismu řadu důležitých funkcí a jejich nerovnováha může mít vliv na vznik a vývoj řady závažných onemocnění, jako jsou obezita, nádorová onemocnění nebo diabetes. Cílem lipidomické analýzy je kvalitativní a kvantitativní popis složení lipidů (lipidomu) v organismu, tkáni nebo buňce a sledování jejich interakcí s ostatními lipidy, proteiny a metabolity. Lipidy představují širokou škálu látek s velkými rozdíly ve struktuře a fyziologických koncentracích, což klade vysoké nároky na použité analytické techniky. Hlavním cílem této disertační práce je studium využití superkritické fluidní chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií pro cílenou i necílenou lipidomickou analýzu rostlinných i živočišných vzorků.

Cíle práce:

Vývoj metod pro přípravu vzorků.

Vývoj metod pro analýzu celkového lipidomu, vybraných tříd lipidů a izomerů lipidů.

Popis retenčního a fragmentačního chování lipidů.

Analýza lipidomických vzorků.

Literatura:

- T. Čajka, O. Fiehn, Toward Merging Untargeted and Targeted Methods in Mass Spectrometry-Based Metabolomics and Lipidomics. *Analytical Chemistry* 2016 (88) 524–545.
- M. Lída, M. Holčapek, High-Throughput and Comprehensive Lipidomic Analysis Using Ultrahigh-Performance Supercritical Fluid Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 2015 (87) 7187–7195.
- M. Lída, E. Cífková, M. Khalikova, M. Ovčáčíková, M. Holčapek, Lipidomic Analysis of Biological Samples: Comparison of Liquid Chromatography, Supercritical Fluid Chromatography and Direct Infusion Mass Spectrometry Methods, *Journal of Chromatography A* 1525 (2017) 96-108.

Metabolomická analýza pomocí hmotnostní spektrometrie

Metabolomic analysis using mass spectrometry

Školitel: **doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.**

Metabolomická analýza se zabývá analýzou metabolomu v buňkách, tkáních, orgánech nebo organismu. Metabolom představuje velmi rozmanitou skupinu látek, metabolitů, které vstupují do metabolických reakcí a jsou důležité pro růst a normální funkci buňky. Znalost složení metabolomu je důležitá z hlediska správného pochopení funkce metabolitů v buněčné biologii. Hlavním cílem disertační práce je vývoj cílených a necílených metod pro analýzu polárních i nepolárních metabolitů pomocí hmotnostní spektrometrie.

Cíle práce:

Vývoj metod pro přípravu vzorků polárních a nepolárních metabolitů.

Vývoj metod pro cílenou a necílenou metabolomickou analýzu.

Studium retenčního a fragmentačního chování metabolitů.

Analýza metabolitů ve vzorku.

Literatura:

- T. Čajka, O. Fiehn, Toward Merging Untargeted and Targeted Methods in Mass Spectrometry-Based Metabolomics and Lipidomics. *Analytical Chemistry* 2016 (88) 524–545.
- M. Lísa, M. Holčapek, High-Throughput and Comprehensive Lipidomic Analysis Using Ultrahigh-Performance Supercritical Fluid Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* 2015 (87) 7187–7195.
- M. Lísa, E. Cífková, M. Khalikova, M. Ovčáčiková, M. Holčapek, Lipidomic Analysis of Biological Samples: Comparison of Liquid Chromatography, Supercritical Fluid Chromatography and Direct Infusion Mass Spectrometry Methods, *Journal of Chromatography A* 1525 (2017) 96-108.

Využití nových derivatizačních činidel při analýze aminokyselin v biologických vzorcích Application of new derivatizing agents in analysis of amino acids in biological samples

Školitel: **doc. Ing. Miroslav Lísa, Ph.D.**

Konzultant: PharmDr. Rudolf Andrys, Ph.D.

Anotace:

β -N-methylamino-L-alanin (BMAA) je nekódovaná aminokyselina produkovaná některými druhy sinic, rozsivek a obrněnek. Jedná se o neurotoxin a potenciální agens hrající roli v rozvoji neurodegenerativních onemocněních jako je např. amyotrofická laterální skleróza (ALS). BMAA vykazuje schopnost bioakumulace v potravním řetězci, čímž se z ní stává potenciální zdravotní riziko pro širokou veřejnost. Její přítomnost byla potvrzena u mlžů, korýšů, ryb a některých rostlin, běžně dostupných v obchodních řetězcích. Dostatečně citlivé a přesné analytické metody mají tedy zásadní význam při monitorování hladiny této aminokyseliny v prostředí. Hlavním cílem této disertační práce je studium využití nových derivatizačních činidel, připravených na Katedře chemie, Přírodovědecké Fakulty Univerzity Hradec Králové, při analýze aminokyselinového složení vybraných biologických vzorků s využitím kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Cíle práce:

Optimalizace přípravy biologických vzorků a derivatizačního protokolu.

Vývoj LC-MS/MS metod.

Porovnání nově připravených testovaných látek s komerčně dostupnými činidly.

Literatura:

- R. Andrys, J. Zurita, N. Zguna, K. Verschueren, W.M. De Borggraeve, L.L. Ilag, Improved detection of β -N-methylamino-L-alanine using N-hydroxysuccinimide ester of N-butylnicotinic acid for the localization of BMAA in blue mussels (*Mytilus edulis*), *Anal. Bioanal. Chem.* 407 (2015) 3743–3750.
- L. Jiang, N. Kiselova, J. Rosén, L.L. Ilag, Quantification of neurotoxin BMAA (β -N-methylamino-L-alanine) in seafoods from Swedish markets, *Nat. Sci. Reports.* (2014).
- E.J. Faassen, Presence of the neurotoxin BMAA in aquatic ecosystems: what do we really know?, *Toxins* (Basel). 6 (2014) 1109–38.

Příprava modifikovaných reaktivátorů cholinesteras a jejich *in vitro* hodnocení **Preparation of modified acetylcholinesterase reactivators and their *in vitro* evaluation**

Školitel: **doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.**

Konzultant: RNDr. Dávid Maliňák, PhD.

Organofosforové sloučeniny (OF) patří do skupiny vysoce toxických ireverzibilních inhibitorů acetylcholinesterasy (AChE) a butyrylcholinesterasy (BChE). Díky inhibici AChE a BChE způsobují OF v organismu narušení cholinergních funkcí, které může v závislosti na jejich dávce způsobit až úmrtí organismu. Kauzálními léčivy při intoxikacích OF jsou oximové reaktivátory cholinesteras (ChE). Reaktivátory ChE jsou schopny štěpit OF kovalentně navázaný do aktivního místa ChE, a tak obnovit přirozenou funkci ChE. Pro každý typ OF je vhodný jiný druh reaktivátoru ChE. Současné reaktivátory ChE také mají omezenou účinnost. Z tohoto důvodu je nutný výzkum nových účinnějších a širokospektrých reaktivátorů.

Cíle práce:

Příprava nových sloučenin

Testování nových sloučenin *in vitro*

Literatura:

- Musilek, K.; Dolezal, M.; Gunn-Moore, F.; Kuca, K. Design, Evaluation and Structure-Activity Relationship Studies of the AChE Reactivators Against Organophosphorus Pesticides. *Medicinal Research Reviews*. 2011, vol. 31, no. 4, p. 548-575. DOI: 10.1002/med.20192
- Zorbaz, T.; Malinak, D.; Marakovic, N.; Macek Hrvat, N.; Zandona, A.; Novotny, M.; Skarka, A.; Andrys, R.; Benkova, M.; Soukup, O.; Katalinic, M.; Kuca, K.; Kovarik, Z.; Musilek, K. Pyridinium oximes with ortho-positioned chlorine moiety exhibit improved physicochemical properties and efficient reactivation of human acetylcholinesterase inhibited by several nerve agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2018, vol. 61, no. 23, p. 10753–10766. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01398

Příprava inhibitorů mitochondriálních enzymů a jejich *in vitro* hodnocení **Preparation of inhibitors of mitochondrial enzymes and their *in vitro* evaluation**

Školitel: **doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.**

Konzultant: PharmDr. Ondřej Benek, Ph.D.; RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.

Vybrané mitochondriální enzymy jsou spojovány s mitochondriální dysfunkcí a apoptosou. Některé z nich jsou lokalizovány uvnitř mitochondrií a jsou specifické pro neuronální buňky. Bylo zjištěno, že tyto enzymy se podílí na vzniku Alzheimerovy nemoci a jejím rozvoji tak, že interagují protein-protein interakcemi s beta amyloidem. Tyto enzymy je možné ovlivnit sloučeninami, které inhibují buď samotný enzym, nebo jeho interakci s beta amyloidem. Tímto způsobem by mělo být možné zabránit mitochondriální destrukci. V současné době je známo pouze minimální množství inhibitorů vybraných mitochondriálních enzymů a je očekáván jejich dynamický vývoj.

Cíle práce:

Příprava nových sloučenin

Testování nových sloučenin *in vitro*

Literatura:

- Hroch, L.; Aitken, L.; Benek, O.; Dolezal, M.; Kuca, K.; Gunn-Moore, F.; Musilek, K. Benzothiazoles: Scaffold of interest for CNS targeted drugs. *Current Medicinal Chemistry*. 2015, vol. 22, no. 6, p. 730-747. DOI: 10.2174/0929867322666141212120631
- Benek, O.; Aitken, L.; Hroch, L.; Kuca, K.; Gunn-Moore, F.; Musilek, K. A Direct interaction between mitochondrial proteins and amyloid- β peptide and its significance for the progression and treatment of Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*. 2015, vol. 22, no. 9, p. 1056-1085. DOI: 10.2174/0929867322666150114163051
- Hroch, L.; Guest, P.; Benek, O.; Soukup, O.; Janockova, J.; Dolezal, R.; Kuca, K.; Aitken, L.; Smith, T.K.; Gunn-Moore, F.; Zala, D.; Ramsay, R.; Musilek, K. Synthesis and evaluation of frentizole-based indolyl thiourea analogues as MAO/ABAD inhibitors for Alzheimer's disease treatment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2017, vol. 25, no. 3, p. 1143–1152. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.12.029

Příprava a hodnocení nových STAT3 inhibitorů **Preparation and evaluation of novel STAT3 inhibitors**

Školitel: **doc. PharmDr. Kamil Musílek, Ph.D.**

Konzultant: RNDr. Miroslav Psoška, Ph.D.

Signální dráha JAK/STAT3 hraje zásadní úlohu v karcinogenezi a buněčné senescenci. Její inhibice se tedy jeví jako efektivní nástroj kontroly nádorového růstu a potlačení negativních efektů senescentních buněk na tkáňové mikroprostředí. V současnosti nejsou klinicky využitelné inhibitory STAT3 k dispozici. Cílem práce bude připravit nové a parametry léčiv splňující inhibitory STAT3 schopné potlačit nádorový růst a rozvoj buněčné senescence. Za tímto účelem budou využity metody *in silico* designu, přípravy a *in vitro* testování daného typu molekul.

Cíle práce:

Příprava nových sloučenin

Testování nových sloučenin

Literatura:

Zhang, X., et al. (2012) Proc Natl Acad Sci U S A 109, 9623-9628.

Page, B. D., et al. (2012) J Med Chem 55, 1047-1055.

Yu, W., et al. (2013) J Med Chem 56, 4402-4412.

Godse, P., et al. (2013) Anticancer Agents Med Chem 13, 1460-1466.