

Oponentský posudek na disertační práci Ing. Ondřeje Veškrny: Význam BYDV při pěstování pšenice a možnosti rezistentního šlechtění.

Disertační práce Ing. Veškrny je zpracována v podobě spisu s klasickým rozdělením na jednotlivé kapitoly. Celkem osahuje 113 stran. Rozsah jednotlivých kapitol a jejich vzájemný poměr odpovídá standardu. Celkem bylo v práci citováno 167 literárních pramenů a dále bylo využito i pět internetových stránek.

Téma práce je aktuální, neboť virózy u obilnin způsobují v posledních letech značné ztráty a šlechtění na odolnost je u nich jednou z možných efektivních cest ochrany. Doktorand využil pro získání výsledků metody, které odpovídají současnému standardu. Založil a vyhodnotil množství časově i pracovně náročných pokusů v (na poměry disertační práce) nebývale dlouhé časové řadě sedmi let. Získané výsledky jsou na dobré úrovni a mohou být využity nejen při praktickém šlechtění na odolnost, ale mají i teoretický význam pro další výzkum v této oblasti. Text disertační práce je až na některé níže uvedené nedostatky napsán vcelku dobrým a čtivým jazykem.

K práci mám připomínky, které lze rozdělit do dvou skupin: formální a věcné. Připomínky formálního rázu:

- samotný název práce není příliš vhodně zvolen, protože významem BYDV se doktorand výzkumně vůbec nezabýval,
- str. 10 aj.: záměna původce a onemocnění (nelze říci, že virus zakrslosti je nejzávažnější chorobou pšenice), str. 16 – přenos onemocnění – přenáší se patogen,
- str. 11 aj: zaměňují se termíny obilniny a obiloviny,
- str. 16 aj.: anglické názvy virů jsou psány nejednotně a obecně nesprávně – měla by být užitá kurzíva a pouze první písmeno je velké,
- gramatické nesrovnalosti: str. 16 - původci (živ.) nebyly zaznamenány, str. 27 - kříženci byly ozářeny, str. 28 - izolát x izolát (použity oba způsoby),
- str. 16: *Polymyxa graminis* je nyní řazena mezi prvoky a ne houby,
- str. 16, 21: viriony, viry mohou přežívat – lépe přetrvávat, viry se přenáší – jednotné číslo (virus) nebo virové částice se přenášejí,
- str. 21: virus je infikován – správněji inokulován (infekce probíhá až po jeho vnesení do rostliny), tlusté střevo mšic? – zadní střevo,

- str. 27, 79: z *Thinopyra* – neskloňovat lat. názvy, kurzíva (str. 27),
- citace ne vždy odpovídají referencím – str. 30 citace Ohm et al. (2005) by asi měla být Ohm a Andersson, Harvey et al., 1995 - asi Harvey et al., 1998. Pokud se cituje ve formě XY et al., mělo by podle mne být použito sloveso v množném čísle. Samo et al. není psáno úplně jednotně (str. 44) a jednotné nejsou ani spojky při citaci dvou autorů – and, čárka, &. To platí i pro seznam literatury. Systém uspořádání publikací v seznamu literatury je v některých případech značně nejasný – např. Comeau – čekal bych nejdříve publikace samotného Comeau, potom s jedním autorem a nakonec s více autory. Jméno Comeau je v textu někdy psáno jako Comeu. Publikace Šípa jsou řazeny mezi jména začínající na S, ale zařazení neodpovídá ani případnému abecednímu pořadí druhého *i* ve jménu Šíp pokud bychom brali abecedu anglickou, jak je tomu u jmen začínajících na Ch, která jsou pod C.

Připomínky věcného rázu:

- str. 16: Rostlinné viry obecně nejsou nikdy přenášeny dvěma vektory ze zcela odlišných tříd živočichů. Informace o přenosu viru mozaiky sveřepu háďátky rodu *Xiphinema* je tedy pravděpodobně nesprávná.
- obecně: termíny tolerance a rezistence (odolnost) jsou v práci používány jako synonyma, ačkoliv každý z nich má zcela jiný význam. Na jedné straně akceptuji to, že doktorand nemohl měnit termíny použité citovanými autory, ale na straně druhé z formulací v disertaci vyplývá, že on sám mezi nimi pravděpodobně také žádné rozdíly nedělá (např. odrůda Sparta je v textu někdy označovaná jako tolerantní, jindy jako mírně rezistentní; str. 81: pomocí kvantitativní ELISA nelze přímo hodnotit toleranci). Bohužel právě šlechtitelé vnášejí do této situace velmi často nepřesnosti. Obecně: rezistentní rostlina má v porovnání s rostlinou náchylnou nižší obsah viru, ať už z důvodu jeho obtížnějšího pronikání do rostliny nebo nižší intenzity replikace či translokace. To, že je rostlina rezistentní (nižší obsah viru) ale neznamená, že nemůže reagovat citlivě, tj. může mít výrazné symptomy a ztráty na výnosu jsou vysoké (to je zřejmě případ citovaný v disertační práci (např. strany 38 a 81 – 82). Je však třeba uznat, že v praxi rozlišení rostliny rezistentní od rostliny tolerantní není jednoduché a nelze ho provést bez řady testů.
- obrázek 8: není stranově převrácený? Očekával bych, že náchylná Jara bude nejmenší.

- str. 54: Autor se odkazuje na podrobný postup testu ELISA v práci Šíp et al., 2004. Tam jsem však našel pouze obecnou poznámku, že test byl proveden podle původní metody Clarka a Adamse z roku 1977. Podle mého názoru by se k testu ELISA mělo odebrat stejné množství pletiva, respektive přizpůsobit množství extrakčního pufru hmotností vzorku. Dále není popsán odběr vzorku – byly to jednotlivé listy (špičky, báze?), celá rostlina? Obsah viru také nelze posuzovat na základě porovnávání jednotlivých hodnot absorbancí, ale pouze na základě titru (nejnižší ředění, při kterém jsou ještě získávány pozitivní hodnoty u infikovaných rostlin). Pro vysvětlení dané situace prosím o uvedení protokolu testu ELISA při obhajobě tak, jak byl použit. Dále se domnívám, že nestačí obsah viru zjišťovat pouze v jednom termínu. Přinejmenším u cukrovky, se kterou mám největší zkušenosti, se v prvních fázích infekce nedají rozlišit rostliny rezistentní a náchylné k BNYVV. V pozdějším období však obsah viru u náchylné rostliny dále roste, zatímco u rezistentní stagnuje nebo dokonce klesá. Podle mého názoru by se tedy měl posuzovat a vzájemně porovnávat především průběh změn v obsahu viru, který závisí i na konkrétních podmínkách pokusu.

Dotazy: 1) S chovem mšice střemchové nemám zkušenosti. Může být chována celoročně na obilninách bez toho, že by měla snahu je na podzim opustit?

2) Jak lze vysvětlit rozpor v tom, že symptomatická reakce je u jarních odrůd výraznější, zatímco redukce výnosových prvků je nižší než u odrůd ozimých (str. 70)?

3) Lze se někde dočíst, jak byla původně objevena existence genu *Bdv2*, jestliže jeho přítomnost příznaky naopak spíše posiluje a dalo by se tedy očekávat, že nositelské rostliny budou v procesu výběru vyřazeny?

Závěr: Přes výše uvedené připomínky se podle mého názoru jedná o kvalitní disertační práci bez závažných chyb a nedostatků. Domnívám se, že Ing. Veškrna v ní prokázal, že je schopen samostatné vědecké práce. Doporučuji proto disertační práci k obhajobě a následné udělení titulu doktor autorovi.

2. 2. 2010

doc. Ing. Pavel Ryšánek, CSc.,

Katedra ochrany rostlin ČZU v Praze

Posudek doktorské disertační práce

**„Význam BYDV při pěstování pšenice a možnosti rezistentního šlechtění“
autora Ing. Ondřeje Veškrny**

Oponent: Ing. Ladislav Kučera, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 – Ruzyně

a) aktuálnost zvoleného tématu

Aktuálnost zvoleného tématu je vysoká, vzhledem ke stále rostoucímu šíření některých viróz nejen v produkčních porostech pšenice. U pšenice je situace komplikována především nedostatkem dostatečně odolných odrůd a potenciálních účinných zdrojů pro rezistentní šlechtění.

Předložená práce přináší původní výsledky studia odolnosti pšenice vůči viru žluté zakrslosti ječmene (BYDV). Autor kromě základního cíle zaměřil své úsilí i na praktické aplikace získaných poznatků při vyhledávání potenciálních nositelů rezistence v rámci genetických zdrojů a na využití molekulárních markerů v rámci rezistentního šlechtění odrůd.

b) zvolené metody, zpracování

Práce je zpracována v rozsahu 113 stran s bohatou tabulkovou dokumentací. Členění odpovídá zavedenému schématu, jsou zde zařazeny úvodní kapitoly literárního přehledu (167 citací), vědecké hypotézy a cíle, popsán použitý materiál a metody, dosažené výsledky a diskuse. V rámci jednotlivých kapitol jsou uvedeny hlavní klíčové poznatky a doporučení.

Ke zpracování nemám připomínky, text je srozumitelný, bez velkého počtu překlepů a chyb. Jen bych upozornil na určité terminologické váhání autora především u termínů odolnost, tolerance či rezistence. Rovněž lze v textu nalézt na více místech formulace typu „Virus je považován za jedno z nejvýznamnějších virových onemocnění na světě....“ (str. 7). Nepříliš vhodné je i použití formulace „poměr světla a tmy“. K menším nepřesnostem lze zařadit například uvedení synonyma *Triticum tauschii* pro *Aegilops tauschii* Coss. (str. 29). V seznamu použité literatury postrádám citaci Myška & Procházka, 2008. U Tabulky 1. chybí vysvětlení zkratky PKR a informace o uvedeném korelačním koeficientu.

Zvolené metody jsou plně odpovídající dílčím cílům disertace (viz kap. 2.) a jsou dokladem výhodnosti využití spolupráce s výzkumnými pracovišti.

c) výsledky disertace a získané nové poznatky

Získané výsledky jsou velmi cenné a přinášejí nové poznatky z oblasti rezistentního šlechtění pšenice na odolnost vůči BYDV. Autor dokládá nejen svou schopnost využít poznatků molekulární genetiky, ale je schopen i samostatného rozhodování při volbě alternativních postupů metod hodnocení genových zdrojů a šlechtitelských materiálů. Výsledky bohužel nepotvrdily přínos genu *Bdv2* ke zvýšení polní odolnosti k BYDV v rámci studovaných materiálů.

Dotazy:

Byly, nebo jsou výsledky polních pokusů z období 2003-2008 zpracovány a publikovány?

Proč je považován parametr SI za méně vhodný pro použití ve srovnání se symptomatickým hodnocením, které je podle mého názoru méně korelováno s potenciálními výnosovými ztrátami? K obdobnému závěru dochází i autor na str. 88. a 91.

Jaké má autor vysvětlení pro překvapivé výsledky hodnocení reakce odrůd na umělou infekci ve vztahu k informacím o přítomnosti markerů pro geny zvyšující odolnost vůči BYDV?

d) význam pro další rozvoj vědy

Poznatky prezentované v předložené práci mají význam nejen pro rozšíření znalostí o odolnosti vůči BYDV u pšenice, ale lze je využít i pro detailnější studium genetické determinace tolerance a pro vyhledávání nových využitelných zdrojů odolnosti vůči virovým zakrslostem. Výsledky nepochybně přispějí i ke zvýšení účinnosti nepřímých výběrových postupů a pro výběr vhodných strategií rezistentního šlechtění.

e) splnění sledovaného cíle disertace

V kapitole 2. jsou prezentovány pracovní hypotézy a cíle, které jsou jasně formulovány a umožňují odpovídající posouzení volby metod a shodu s výsledky práce.

Jak autor v předložené práci dokládá,

- byl vypracován kvalitní literární přehled k dané problematice,
- byly zvládnuty a optimalizovány metody testování na odolnost k BYDV s využitím mšice střemchové,
- a byla ověřena možnost integrace MAS s využitím informací o přítomnosti genu *Bdv2*.
- V polních podmínkách byl otestován rozsáhlý soubor odrůd, šlechtitelských materiálů a genových zdrojů pšenice

Závěr hodnocení:

Předložená disertační práce „Význam BYDV při pěstování pšenice a možnosti rezistentního šlechtění“, autora Ing. Ondřeje Veškmy, svým zaměřením, dosaženými výsledky a způsobem zpracování splňuje kritéria kladená na disertační práce. Je bezpochyby přínosem nejen pro výzkum determinace odolnosti vůči významným virovým patogenům, ale i pro rozvoj MAS ve šlechtění odrůd pšenice v ČR. V průběhu řešení byly získány původní poznatky, které obstojí i v mezinárodním měřítku.

Souhlasím, aby práce byla přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení udělen jmenovanému akademický titul „Doktor“.

V Praze dne 7.2.2010


Ing. Ladislav Kučera, CSc.

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Téma: **Význam BYDV při pěstování pšenice a možnosti rezistentního šlechtění**

Autor: **Ing. Ondřej Veškrna**

Školící instituce: **Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta**

Experimentální pracoviště: **Výzkumné centrum SELTON s.r.o., Selgen a.s., ŠS Stupice**

Vědní obor: **Speciální produkce rostlinná**

Vedoucí práce: **prof. Ing. Vladislav Čurn, PhD.**

Oponent: **prof. Ing. Jan Moudrý, CSc.**

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Disertační práce Ing. Ondřeje Veškrny je souborem aktivit vedoucích k rozvoji rezistentního šlechtění pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) na odolnost k BYDV. Práce je zaměřena na testování a optimalizaci metod infekce pšenice pomocí mšice střemchové (*Rhopalosiphum padi*) jakož i metod hodnocení rezistence a také na ověření přínosu genu rezistence *Bdv2* na polní odolnost k BYDV. Doktorand testoval rozsáhlý soubor šlechtitelských materiálů na odolnost k BYDV jako základ pro vyšlechtění rezistentních nebo tolerantních odrůd pšenice. Práce byla podpořena grantovým projektem GAČR (521/05/H013) a projektem NAZV (QG 50073) realizovaným na školicím pracovišti v letech 2005-2009.

Vlastní práce má standardní charakter. Je klasicky členěna, má přiměřený rozsah 113 stran. V textu vlastní práce je obsaženo 7 grafů, 25 tabulek a 9 fotografií. V přehledu použité a citované literatury autor uvádí 167 citací přičemž převládají výrazně práce vědecké, zahraniční a nové (do deseti let). Literární přehled je velmi přehledně a fundovaně zpracován, tvoří třetinu rozsahu (40 stran) a členěním i obsahem dobře navazuje na téma práce. Proporce ostatních kapitol jsou přiměřené typu práce. Disertační práce je formálně, stylisticky i gramaticky na velmi dobré úrovni.

Aktuálnost zvoleného tématu

Téma disertační práce je aktuální pro šlechtitele a následně pro zemědělskou praxi. Ačkoliv škodlivost působení BYDV je u pšenice menší než u ječmene a ova, je potřeba šlechtění na rezistenci pšenice důležitá vzhledem k rozsahu ploch jejího pěstování a jejímu významu jako naší stěžejní obilniny.

Splnění sledovaného cíle

Doktorand vyslovil na úvod čtyři jasně formulované hypotézy směřující ke zjištění možností testování odolnosti pšenice k BYDV proti polním infekčním testům v podmínkách experimentálního pracoviště, možností racionalizace testů, potvrzení efektu genu *Bdv2* a zjištění reakce na infekci BYDV u aktuálně pěstovaných odrůd jarních a ozimých pšenic pěstovaných v ČR. Na základě hypotéz si autor stanovil čtyři adekvátní dílčí cíle své práce. Po prostudování práce mohu konstatovat, že vytčené cíle byly beze zbytku splněny.

Zvolené metody zpracování

Ke studiu byly využity polní maloparcelkové odrůdové pokusy s 55 odrůdami ozimé a 16 odrůdami jarní pšenice ve VURV Praha Ruzyně prováděné v letech 2004-2008. Polní infekční testy byly ve VURV Praha a na ŠS Stupice prováděny (proč, když rozdílnost stanovišť není velká) ve dvou ročnících u 22 ozimých 41 jarních genetických materiálů pšenice seté. Metodiky založení a vedení porostů i infekční testy byly vhodně voleny. Úspěšnost infekce byla ověřována imunochemicky stejně jako účinek genů rezistence. Neumím posoudit metody nepřímé detekce přítomnosti genů *Bdv1* resp. *Bdv2*. Pro symptomatické hodnocení doporučuji upřesnit metodu odběru z řádků na 20 klasů hlavních stébel místo náhodně vybraných rostlin. Variabilitu redukce HZK nebo HTZ může přítomnost odnoží při malém počtu prvků významně ovlivnit. Velmi kladně hodnotím značný rozsah polních experimentů, jejich náročnost (infekční metody). Prosím, aby doktorand vymezil při obhajobě podíl přímé vlastní práce na řešení. Kapitulu Materiál a metody považuji za pečlivě zpracovanou, přehlednou, umožňující opakování experimentů i usnadňující posuzování pracovního postupu i výsledků práce doktoranda.

K výsledkům disertace

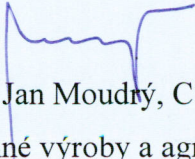
Stěžejní kapitoly: výsledky, diskuse, závěr tvoří třetinu práce. Výsledky jsou přehledně dokumentovány grafy, obrázky i tabulkami. Dílčí závěry uváděné v diskusi jsou správné. Obzvláště si v práci cením opatrnost při přebírání závěrů autorů pracujících na výrazně

odlišných experimentálních stanovištích, správné posuzování diskriminace více odnožujících odrůd s nižší produktivitou klasu při symptomatickém hodnocení, dále autorovo zaujetí pro vysvětlení interakcí resp. obtíží při interpretaci výsledků pokusů zvláště u ozimých pšeníc. Oceňuji kritickou analýzu vlastních metodických postupů (redukovaný počet opakování za cenu otestování co největšího počtu genetických zdrojů) i odvahu činit závěry odlišné od renomovaných odborníků. Musím přiznat, že tak jak doktorandova práce gradovala od konstatování výsledků přes diskusi s ostatními autory i sebou samým až po činění úsudků, soudů a kvalifikovaných závěrů, tak jsem postupně vyškrtal řadu dotazů na které bych se chtěl ptát při obhajobě. Přesto některé přetrvaly:

1. Čím si při testování registrovaných odrůd vysvětľujete vysoce převažující podíl ročníku na variabilitě SH a HZK-R u ozimé oproti jarní formě pšenice seté?
2. Obdobně, jak si vysvětľujete významnou interakci ročníku a lokality u ozimých oproti jarním pšenicím.
3. Efektem stresů, např. sucha a vyšších teplot vysvětľujete větší náchylnost jarních pšeníc k BYDV oproti ozimým. Tyto stresy ale působí v jarním vegetačním období paralelně na obě. Lze předpokládat větší odolnost ozimých forem na stres sucha a vyšší teploty? Jaká může být souvislost s mohutností kořenového systému na jejíž význam také okrajově poukazujete?

Celkově lze disertační práci hodnotit jako velmi dobrou. Doktorand prokázal schopnost práce s databázemi resp. vědeckou literaturou při získávání informací i znalosti polního pokusnictví a šlechtitelských postupů, osvojil si potřebné laboratorní i statistické metody. Dokázal schopnost vědeckého myšlení, utváření správných závěrů a jejich vhodné formulace. Na základě prostudování a hodnocení předložené disertační práce Ing. Ondřeje Veškrny navrhuji jmenovanému po zdárné obhajobě udělení vědecko-akademické hodnosti „philosophiae doctor“ (PhD) v Doktorském studijním programu Fytotechnika, studijním oboru Speciální produkce rostlinná.

České Budějovice, 8.2. 2010


prof. Ing. Jan Moudrý, CSc

Katedra rostlinné výroby a agroekologie ,

Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích