

## Posudek doktorské disertační práce

### „Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky“ autorky Ing. Boženy Kukolíkové

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

#### a) aktuálnost zvoleného tématu

Studium mechanismu účinku genů ovlivňujících autoinkompatibilitu u řepky olejky a vývoj a využití molekulárních markerů v rámci šlechtění odrůd je bezesporu stále aktuálním tématem. Vzhledem k poměrně komplikované genetické determinaci projevu inkompatibility u řepky je cílené studium v této oblasti potřebné.

Jedním z prioritních cílů při šlechtění řepky je rovněž tvorba odrůd s rozdílným potenciálním užitím produkce, od potravinářského zpracování až po výrobu suroviny pro pohonné hmoty..

Z výše uvedených důvodů je zvolené téma disertační práce aktuální.

#### b) zvolené metody, zpracování

Práce je zpracována v rozsahu 97 stran včetně tabulkové a obrazové dokumentace. Členění odpovídá zavedenému schématu, jsou zde zařazeny úvodní kapitoly literárního přehledu (184 citací), vědecké hypotézy a cíle, popsán použitý materiál a metody, dosažené výsledky a diskuse.

Literární přehled není rozsáhlý a často zde postrádám recentní práce, například pro kapitolu 3.1., kde využití poznatků genomiky a dalších moderních nástrojů jistě poskytlo přesnější obraz evoluce kulturních druhů rodu *Brassica* a jejich vzniku, než jsou výsledky studií z roku 1992. V této části je možno nalézt závažné chyby, například v popisu vzniku řepky z brukve zelné a řepice s chybně uvedenými symboly genomů a počty chromozomů. V kapitole 3.2. (Pěstování řepky) postrádám i stručné vyhodnocení současného stavu v České republice; vždyť řepka je jednou ze základních komodit. Zejména je překvapující, že vzhledem k tematickému zaměření je kapitole 3.3. „Šlechtění řepky olejné“ věnováno tak málo prostoru, pouhých 21 řádků textu s odkazem na pouhé 3 literární prameny. Chybí zmínky o metodách šlechtění s využitím dihaploidů, mutační šlechtění, tvorba syntetických odrůd atd. Přínosem by byl i přehled stávajících povolených odrůd v České republice. Ke zpracování kapitoly 3.4 mám rovněž některé připomínky, text neumožňuje dobrou orientaci. Chybí zde i odkaz na platnou legislativu v České republice. V kapitole 3.5 „DNA markery používané ve šlechtění řepky“ postrádám zařazení například markerů typu SNP (single nucleotide polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus), které jsou pro řadu aplikací vhodným typem. V kapitole 3.6 „Charakteristika systémů zabraňujících opylování“ lze nalézt řadu terminologických nepřesností, například „Transgenní pylová sterilita“ je poněkud zvláštní pokus pro označení systému tvorby hybridů s využitím geneticky modifikovaných linií. V textu této části lze nalézt zcela nesourodé, nepřesné a nesrozumitelné formulace (například „Protože byla zjištěna tato důležitost tapeta při vývoji pylových zrn. Byl zvolen jako promotor (nazvaný TA29) pro gen barnázu. A tento gen pak podmiňuje úplnou pylovou sterilitu rostliny. V následující generaci je však nutné sterilitu odstranit, což zajišťuje gen barstar, se stejným promotorem jako barnáza, neboť je specifickým inhibítorem barnázy.“ V této kapitole jsou rovněž nepřesnosti v označení (zařazení) typu sterility do systému označeném „Cytoplasmatická sterilita“. Kapitola „Autoinkompatibilita“ je zpracována nepřehledně a je možno

zde nalézt některé nepřesnosti (například v prvním odstavci je uváděno autorkou, že „Dvě genetické formy AI jsou identifikovány na základě fenotypu pylových zrn“). Rovněž se nelze domnívat, že „Rozpoznávací systém u brukvovitých je kontrolován jednoduchým mandelistickým lokusem nesoucím více než 80 S alel.....“. Vzhledem k zaměření práce by si kapitola „Charakteristika S-locusu“ zasloužila zahrnout podrobnější a recentní data. Mám zde dotaz na autorku jak lze porozumět formulaci poslední věty této kapitoly. Nedostatečně, vzhledem k současným znalostem a poznatkům, je zpracována kapitola 3.7 „Markerování rostlin s nízkým obsahem kyseliny linolenové“, zcela tu autorka pominula skutečnost, že složení oleje ovlivňuje významně i gen *fad2*, a možnosti využití funkčních markerů pro geny *fad2* a *fad3*.

Kvalitní literární přehled vybrané problematiky řešené autorkou by jistě mohl být i publikován, ale tato možnost není reálná vzhledem k úrovni zpracování jednotlivých témat.

Zvolené metody v zásadě odpovídající dílčím cílům disertace, pro některé z dílčích cílů by bylo jistě možno navrhnout vhodnější metodický přístup, například místo RAPD markerů pro hodnocení materiálů s rozdílným obsahem kyseliny linolenové použít markery pro geny *fad2* a *fad3*. V popisu použitého rostlinného materiálu pro testování markerů u materiálů s rozdílným obsahem kyseliny linolenové není uvedena generace rostlin použitých pro RAPD analýzu a tato informace chybí i ve výsledkové části.

V části věnované popisu použitých metod lze najít řadu dalších nesrovnalostí, například pro AFLP je v úvodní části uvedeno, že byla použita pouze kombinace primerů (patrně myšleno při selektivní amplifikaci) *MseI* ACC a *EcoRI* ACG, ale dále v textu je uvedeno použití *MseI* ANN a *EcoRI* ANN. Byla použita pouze jedna sestava, nebo bylo pro selektivní amplifikaci použito více kombinací?

#### c) výsledky disertace a získané nové poznatky

Výsledky věnované posuzování vhodnosti markerů polymorfismu genu *SLG I* dokumentují přibližně 80% shodu s výsledky semenných testů, a je otázkou, zda by bylo možno jejich predikční schopnost zvýšit použitím markerů pro další geny řídící projev autoinkompatibility u řepky olejky.

V části hodnocení variability parciálních sekvencí genu *SLG I* postrádám jednoznačnou identifikaci sekvencí z NCBI databáze. Proč nejsou v práci uvedeny autorkou získané sekvence? Kolik sekvencí bylo pro jednotlivé produkty PCR uskutečněno? Polymorfismus sekvencí může být i důsledkem použitého protokolu. 6 různých „fenotypů“ (autorka patrně má na mysli 6 variant sekvencí) u odrůdy 'Senátor' může být jen projev chyb vnesených vlastní PCR a chybnou sekvencí.

K čemu se vztahuje text prvního odstavce na straně 45?

Hodnocení dat získaných z AFLP není v kapitole 5.10 „Hodnocení dat“ specifikováno. Částečně je uvedeno až v části práce týkající se získaným výsledkům (str. 49). Zde mám na autorku dotaz, proč byl pro hodnocení míry podobnosti vybrán „Gower General Similarity Coefficient“? Některé formulace v kapitole 6.3. „Stanovení míry podobnosti československých, českých a německých odrůd“ jsou poněkud zvláštní, například označování některých odrůd termínem „postmoderní“. Celé pasáže svými formulacemi a zpracováním podle mého názoru nepatří do části práce hodnotící dosažené výsledky (například na str. 52). Výsledky prezentované na obr. 15. nejsou dostatečným podkladem pro autorkou prezentované závěry na str. 53-54, nejsou zde uvedeny výsledky ověřování věrohodnosti úrovní jednotlivých větví a z obrázku je zřejmé, že zde nejsou jasně vymezené shluky.

Lze jen souhlasit s autorkou, že výsledky hodnocení materiálů s rozdílným obsahem kyseliny linolenové pomocí RAPD neodpovídají předpokladům autorky. Z tohoto důvodu je pro

mne překvapující, že autorka v další části závěrů uvádí, že „Dobrá markerovací schopnost a vysoká shoda segregace markeru a fenotypu obsahu kyseliny linolenové byla prokázána u kombinace křížení OP-BN-09 x OP-904“, což výsledky v žádném případě nedokumentují.

d) význam pro další rozvoj vědy

Poznatky prezentované v předložené práci mají svůj určitý význam pro rozšíření znalostí o možnostech aplikace vybraných molekulárních markerů ve šlechtění řepky a lze je využít i ke zvýšení účinnosti nepřímých výběrových postupů a pro výběr vhodných strategií šlechtění u řepky olejky v podmínkách ČR.

e) splnění sledovaného cíle disertace

Prezentované pracovní hypotézy a cíle, jsou jasně formulovány a umožňují odpovídající posouzení volby metod a shodu s výsledky práce.

Jak autor v předložené práci dokládá,

- byl posouzena vhodnost markerů polymorfismu genu *SLG I* pro výběr autoinkompatibilních linií řepky olejky
- byly získány parciální sekvence genu *SLG I* a byla využity k vyhodnocení přítomnosti nových sekvenčních variant
- byly aplikovány postupy hodnocení diversity genových zdrojů a odrůd řepky pomocí AFLP
- a byla ověřena možnost aplikace RAPD markerů pro hodnocení šlechtitelských materiálů u řepky olejky s různým obsahem kyseliny linolenové v oleji.

Výsledky napomohly vyhodnotit potenciál nových moderních analytických metod pro výběr a validaci markerů a postupů studia genetické variability u řepky i možnosti uplatnění asistované selekce ve šlechtění autoinkompatibilních linií řepky olejky.

**Závěr hodnocení:**

Předložená disertační práce „**Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky**“, autorky **Ing. Boženy Kukolíkové**, uvádí dosažené výsledky hodnocení souborů šlechtitelských materiálů a odrůd . V průběhu řešení byly získány původní poznatky, které mohou být využity při dalším studiu SI u řepky olejky a mohou být přínosem pro budoucí rozvoj MAS ve šlechtění řepky olejky v ČR.

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

V Praze dne 21.11.12012

  
Ing. Ladislav Kučera, CSc.

# Oponentský posudek

na disertační práci

## **„Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky“**

Autorka práce: **Ing. Božena Kukolíková**

Školitel: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

Školící pracoviště: Biotechnologické centrum, Katedra rostlinné výroby a agroekologie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Disertační práce Ing. Boženy Kukolíkové na téma „Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky“ zahrnuje celkem 97 stran, navíc je vložen seznam publikovaných prací autorky. Práce je doplněna celkem 20 tabulkami a 34 obrázky.

Práce tématicky zapadá do dlouhodobého zaměření školícího pracoviště a navazuje tak na témata předešlých disertačních prací, ostatně disertační práce pana školitele, prof. V. Čurna, se zabývala využitím biochemických markerů (na úrovni isoenzymů a proteinů) ve šlechtění řepky.

Vzhledem k rozsahu pěstování a hospodářskému přínosu řepky olejky v ČR a vzhledem k uplatnění nových přístupů ve šlechtění řepky je téma aktuální a jeho řešení je celkově prospěšné. Autorka se v práci zaměřila na řešení čtyř dílčích cílů: vyhledávání rostlin s autoinkompatibilitou pomocí genu SLG I u speciálních šlechtitelských linií a zároveň u souboru československých, českých a německých odrůd řepky, dále pak na hodnocení míry podobnosti u zmíněného souboru odrůd a konečně na testování markeru pro rozlišení rostlin s různým obsahem linolenové kyseliny.

Práce je členěna obvyklým způsobem na části: Úvod, Cíle práce a hypotézy, Literární přehled, Materiál, Metody, Výsledky a diskuse, Závěr, Seznam použitých zkratek, Seznam použité literatury. Práce je psána velmi úsporným způsobem, což je někdy až na škodu. Text je psán celkově přehledně a srozumitelně s občasnými slohovými prohřešky a defekty ve větné stavbě. Např. str. 16, třetí odstavec – první čtyři věty přinášejí opakující se informace (první a třetí věta a naopak druhá a čtvrtá věta vyjadřují podobné věci).

### **K jednotlivým částem práce mám následující hodnocení, připomínky a dotazy:**

**Literární přehled** poměrně dobře popisuje stav řešené problematiky, ale přesto lze v textu nalézt některé nepřesnosti: Na str. 6, 3. odstavec, se hovoří o současné době a přitom citace prací, ze kterých byly informace čerpány jsou 23 resp. 25 let staré. Obsah kapitoly 3.2 neodpovídá názvu – je to spíše o šlechtění než o pěstování. Hned první věta je zavádějící a může navozovat dojem, že se pěstují buď odrůdy

podle kvality oleje nebo odrůdy různých genetických typů. Mohla by tuto formulaci autorka při obhajobě upřesnit? Mohla by autorka při obhajobě práce uvést hlavní rozdíly v technologii pěstování hybridních a liniových odrůd řepky a jaké jsou výhody a nevýhody obou skupin odrůd? Jaká je skladba odrůd řepky registrovaných v ČR (počet odrůd ozimé a jarní formy, poměr mezi hybridy a liniovými odrůdami)? Pěstují se u nás jen odrůdy s národní registrací? Jaké je současné využití molekulárních markerů při registraci nových odrůd? Nahrazují morfo-metrické znaky při popisu odrůd? Vysvětlení podstaty autoinkompatibility je v rozmezí stran 16-17 celkem třikrát... Na str. 13 není vysvětlena zkratka RFLP, ačkoliv zkratky ostatních technik jsou uvedeny. Na str. 19 jsou uvedeny neobvyklé zkratky mastných kyselin, např. místo C18:1 je uvedeno 18:1.

**Hypotézy a cíle práce.** Oceňuji, že byly v práci stanoveny hypotézy.

Kapitoly **Materiál a Metody** poskytují dostačující informace. U odrůdových materiálů mohl být uveden vlastník odrůdy resp. šlechtitelský subjekt, pokud je znám. V části metody může mít čtenář (pokud se zrovna nejedná o odborníka na molekulárně – biologické techniky) problémy s pochopením návodů. Určitě by neškodilo výčet položek jednotlivých reakcí více provázat textem a udělat ho tím srozumitelnějším. Na str. 28 v kapitole 5.6 se patrně nejedná o celkový obsah vzorku, ale o objem. Jaký pufr byl použit pro restriční štěpení? Myslím, že by neměl být problém uvést jeho složení. Na str. 29 se pokusem 2 rozumí soubor českých, československých a německých odrůd? Co prosím znamená R/L pufr a z čeho je složen? Byl koupen hotový nebo připraven v laboratoři?

**Výsledky a diskuze** logicky představují nejcennější část práce. Výsledky jsou uvedeny ve formě fotografických záznamů molekulárních dat, v tabulkách či ve formě grafických výstupů statistických analýz (dendrogramy, diagramy). Kapitola je psána spíše popisným způsobem, diskusní část mohla být rozsáhlejší a hlavně propracovanější do větší hloubky, diskuze by mimo jiné měla také nastínit předpokládaný budoucí vývoj v dané problematice. Úsporný styl diskuse neodpovídá rozsahu, významu a kvalitě dosažených výsledků, což považuji za škodu. Ke kapitole 6.1. mám dotaz – které faktory vlivu připadají v úvahu pro možné vysvětlení rozdílných výsledků ve vyhledávání autoinkompatibilních rostlin pomocí molekulárního markerování a semenného testu? Na straně 45 je v textu chyba v popisu označení „poslední“ odrůdové skupiny (zahrnuje rostliny odrůd Falcon a Olquel) – píše se o červené šipce přitom na obrázku č. 9 je u této skupiny barva šipky žlutá. Na straně 49 termín „naskórována“ nezní moc česky, není nějaký jiný přijatelnější český ekvivalent? Velmi zajímavým způsobem působí analýza míry podobnosti československých, českých a německých odrůd pomocí techniky AFLP, vyjádřená PCO analýzou obr. č. 12 – 14. U této části je třeba ocenit snahu o interpretaci výsledků z pohledu šlechtitelských cílů a stavu šlechtění z hlediska nových trendů. Dle mého názoru by byla velká škoda nepublikovat tuto část v nějaké samostatné studii – nebo se tak již stalo? Ze seznamu publikací to jednoznačně nevyplývá. Čtvrtý výsledkový okruh měl velmi praktické vyústění pro šlechtění řepky se sníženým obsahem linolenové kyseliny. Z výsledků však bylo zjištěno, že ve spektru hodnocených zdrojů je nedostatečný kontrast v rozsahu zastoupení linolenové kyseliny v oleji (4,76 – 9,17 %) pro odvození molekulárních markerů při použití techniky RAPD. Je v současné době možné doporučit pro praktické využití jinou modernější techniku markerování zastoupení linolenové kyseliny v oleji, která

by v sobě skloubila jednoduchost provedení RAPD techniky a přitom by byla citlivější a z hlediska reprodukovatelnosti spolehlivější?

V **závěru** jsou shrnuty nejdůležitější výsledky na třech stranách textu. Nejdůležitější fakta vyplývající z řešení práce jsou zde přehledně uvedena. Je škoda, že autorka v závěru přímo nevyhodnocuje hypotézy, které si stanovila v kapitole cíle práce.

V **seznamu použité literatury** je uvedeno celkem 184 prací. Chybí více prací z posledních pěti let. Autorka mohla věnovat více pozornosti sjednocení stylu citací – např. za příjmením autorů většiny prací je používána čárka, v řadě případů ale chybí, stejně tak za rokem v závorce je většinou tečka, někdy ale dvojtečka a někdy také vůbec nic. Nevím, jaký zdroj informací má vyjadřovat citace „FAO (2008)“. Prosím o vysvětlení.

Práce ve své úvodní části obsahuje abstrakt v anglickém jazyce. Obsahuje dále i seznam publikovaných prací. Je chvályhodné, že se autorka zúčastnila celé řady konferencí, zejména zahraničních. Na druhé straně v seznamu recenzovaných výsledků postrádám publikaci v časopisu s IF a také to, že ani u jedné ze čtyř publikací není autorka na pozici prvního autora.

#### **Do diskuze mám pro autorku i další otázky:**

Jaký byl přímý podíl autorky na prováděných analýzách?

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

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

#### **Celkové hodnocení:**

Práce mohla být zejména v části výsledky a diskuze více propracována. Osobně si na práci cením rozsahu zpracovaného materiálu a množství provedených analýz. Jak již bylo v úvodu uvedeno téma práce je s ohledem na význam řepky olejky velmi významné a aktuální. Cíle práce byly dle mého názoru splněny. Práce přinesla řadu informací o využití molekulárních markerů ve šlechtění řepky a v oblasti hodnocení jejích odrůd.

S ohledem na uvedené skutečnosti a po pečlivém prostudování předložené disertační práce **souhlasím**, aby práce byla **přijata k obhajobě** a po úspěšné obhajobě a zodpovězení dotazů a připomínek oponentů a členů komise, aby byl Ing. Boženě Kukolíkové udělen titul „Doktor“.

V Č. Budějovicích, dne 22. 11. 2012



doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.

Oddělení pěstování rostlin  
Katedra rostlinné výroby a agroekologie  
ZF JU

## Oponentský posudek

### Doktorské disertační práce Ing. Boženy Kukulíkové „Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky“

Disertační práce byla zaměřena na ověření markerovacích systémů i na hledání nových molekulárních markerů využitelných u hospodářsky významné plodiny řepky olejky. Vlastní práce měla čtyři hlavní cíle:

1. Vyhledávání autoinkompatibilních (AI) rostlin v liniích vzniklých křížením donorů AI a donorů kvality na základě molekulární analýzy genu *SLG I*, identifikace alel genu *SLG I* a hodnocení stability markeru v souboru šlechtitelských linií

2. Vyhledávání nových zdrojů AI a dalších alel genu *SLG I* v rámci souboru československých, českých a německých odrůd.

3. Stanovení míry podobnosti československých, českých a německých odrůd.

4. Testování markeru pro rozlišení rostlin s různým obsahem kyseliny linolenové.

Disertační práce sestává ze 79 stran textu, včetně obrázků sekvencí genů *SLG I*, analýzy AFLP a RAPD dat. Seznam použité literatury obsahuje 184 citací.

V literární rešerši autorka podává stručný přehled o původu a systematice řepky, historii šlechtění řepky a podstatě hybridního šlechtění, uvádí hlavní hybridní systémy s jejich přednostmi a nedostatky. Další část je věnována způsobům identifikace odrůd řepky s využitím biochemických a molekulárních markerů, popisu jednotlivých DNA markerů, používaných ve šlechtění řepky, charakteristice jednotlivých systémů autosterility, umožňujících řízené opylování se zaměřením na autoinkompatibilitu a možnosti markerování rostlin se sníženým obsahem kyseliny linolenové.

Kapitoly Materiál a Metody obsahují charakteristiku použitého rostlinného materiálu, popis laboratorních metod izolace DNA a molekulárních analýz. V kapitole Metody by bylo vhodnější rozepsat podle jednotlivých cílů, z jakých částí rostlin byl proveden odběr a způsob izolace DNA a RNA.

V kapitole Výsledky a diskuse, členěné podle cílů práce, jsou shrnuty výsledky dosažené při identifikaci S alel, hodnocení podobnosti odrůd řepky českého a německého šlechtění a vývoje markeru pro hodnocení obsahu mastných kyselin.

V části vyhledávání AI rostlin v souboru speciálních šlechtitelských linií je popsána analýza genu *SLG I*, který se osvědčil jako selekční marker autoinkompatibility. Potvrdil se předpoklad, že gen *SLG I* se amplifikuje u autokompatibilních (AK) rostlin, zatímco u AI rostlin ne. Výsledky molekulárního markerování AI/AK rostlin a semenného testu u 120 analyzovaných rostlin se shodovaly v 80,33% a v 19,67% nikoliv. K této části bych měl několik připomínek:

Soubor 120 rostlin sestával ze tří skupin kříženců AI rostlin s různými donory kvality. Pokud by se hodnotila shoda obou testů u jednotlivých skupin odděleně, vyšla by následovně: 64%, 93% a 91%. Jak lze vysvětlit tyto rozdíly?

U hodnocení semenným testem není jasné kritérium AI do 10 semen – je to průměrný počet semen na šesuli či na rostlinu? V prvním případě by se jednalo o příliš měkký test, stanovující určitý stupeň AI, avšak ze šlechtitelského hlediska nedostatečný pro zajištění požadovaného procenta hybridnosti.

Jsou data ze semenného testu, prováděného ve VÚOL v Opavě v polních podmínkách, zcela spolehlivá?

Tuto část práce lze považovat za nejpřínosnější z hlediska využitelnosti ve šlechtitelské praxi. Vzhledem ke skutečnosti, že se v populaci dihaploidů, odvozených z F1 kříženců AI linií s AK donory kvality, vyskytuje pouze kolem 10 – 20 % vysoce AI rostlin, včasná

negativní selekce AK rostlin může značně zefektivnit šlechtitelský proces omezením pěstování velkého počtu balastních rostlin až do fáze kvetení.

V části vyhledávání nových zdrojů AI a dalších alel genu *SLG I* se podařilo osekvenovat vzorky různých fenotypů genu *SLG I* z vybraných odrůd českého a německého původu. Jednotlivé sekvence odrůd byly rozděleny do čtyř hlavních skupin. Potvrdila se vyšší variabilita genu *SLG I* u starších i novějších odrůd typu populace a přítomnost několika nefunkčních alel. Z výsledků této části vyplývá doporučení dalšího studia těchto zdrojů pro praktické využití v hybridním šlechtění. V rámci této studie však nebyly identifikovány rostliny, u kterých by na základě molekulární analýzy byl předpoklad fenotypového projevu AI.

Stanovení míry podobnosti československých, českých a německých odrůd bylo provedeno AFLP analýzou, která je vhodnou metodou pro určení příbuznosti a odlišnosti jednotlivých rostlinných materiálů. Bylo prokázáno rozdělení odrůd podle geografické příslušnosti. Zatímco staré české krajové a německé odrůdy typu populace vykázaly určitou míru příbuznosti, větší rozdílnost byla zaznamenána mezi skupinami nových českých a moderních německých odrůd. Na základě dosažených výsledků lze pro oživení českého šlechtění doporučit vyhledávat a využívat výchozí materiály podle zjištěné genetické diversity.

Při testování markeru pro rozlišení rostlin s různým obsahem kyseliny linolenové byla ověřována vhodnost použití RAPD markerů se dvěma primery, vybranými na základě předcházejících pokusů. Pomocí obou primerů se však nepodařilo odlišit rostliny s vyšším a sníženým obsahem kyseliny linolenové. Problémem jsou zřejmě výchozí materiály málo kontrastní v obsahu sledované kyseliny.

Po odborné stránce nemám k práci žádné další připomínky. K formální stránce mám některé konkrétní výhrady:

Textu by prospěla korektura překlepů, nepřesností a pravopisných chyb, které by se v disertační práci neměly vyskytovat.

V úvodu a dalším textu je používán termín řepka olejná, z taxonomického hlediska je správně řepka olejka. V kapitole Cíle práce a hypotézy je třeba před prvním použitím zkratky AI vypsat celým slovem – autoinkompatibilních. V literárním přehledu na straně 5 jsou zaměněny počty chromozómů u *Brassica oleracea* a *B. rapa*. Na str. 8 v tabulce 2 je zmatený název firmy – správně INRA-Serasem, místo velký počet linií má být licenci. Na str. 13 v nadpisu Charakteristika systémů zabraňujících opylování má být správně oplození. Na str. 33 odkaz na tab. č. 8 odpovídá tab. č. 5. Označení zelenou barvou v tab. č. 5 není vysvětleno. K obr. č. 9 je v textu na str. 45 zaměněna barva šipek – červená – žlutá.

K práci mám na závěr několik dotazů:

Je analýza *SLG I* genu, osvědčená u linií původem z odrůdy Tandem pro selekci AI/AK rostlin, využitelná i pro další S haplotypy? Jaký vliv na spolehlivost této metody mohou mít modifikační geny či genetické pozadí?

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

Je genetická vzdálenost rodičovských komponent, stanovená uvedenými markerovacími systémy, předpokladem heterozního efektu?

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

Disertační práce se zabývá aktuálním tématem – využitím techniky molekulárních markerů, umožňující selekci rostlin na vybrané znaky v časných vývojových stadiích.

Práce přispěla k rozšíření poznatků o možnostech využití molekulárních markerů ve šlechtění řepky. Lze konstatovat, že stanovené cíle práce byly splněny. Byly využity většinou známé markerovací systémy, nové poznatky přinesla zejména jejich aplikace na originální rostlinné materiály.



Autorka prokázala během doktorandského studia i při zpracování disertace dobrou schopnost vědecké práce.

Uvedené dotazy a připomínky slouží pouze jako námět pro obecnou diskusi k problematice obhajované práce a nesnižují kvalitu dosažených výsledků.

Doktorskou disertační práci „Využití vybraných selekčních molekulárních markerů při šlechtění řepky“ hodnotím kladně, doporučuji aby byla přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení byl Ing. Boženě Kukulíkové udělen titul Ph.D.



Praha 15.11.2012

Ing. Vratislav Kučera, CSc.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.  
161 06 Praha 6-Ruzyně