

Oponentský posudek

na disertační práci Mgr. Zdeňky Svobodové
„Vliv GM kukuřice na entomofaunu“

Oponent: Prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Předložená disertační práce je sepsána na 156 stranách textu, z toho 36 stran zahrnuje komentovaný text k následujícím 5 vědeckým pracím. Součástí disertace jsou tři původní vědecké práce již publikované ve významných vědeckých časopisech s impact faktorem a rukopisy dvou vědeckých publikací připravených do tisku. Ve všech 5 pracích je Mgr. Zdeňka Svobodová první autorkou.

Aktuálnost zvoleného tématu

Zaměření práce na hodnocení vlivu Bt-kukuřice na necílové druhy bezobratlých živočichů je téma aktuální z pohledu světového, i z pohledu národního nebo evropského. Dosažené výsledky patří do argumentací k podpoře povolení dalších typů Bt-kukuřice pro pěstování v Evropě. Výsledky práce dokladují, že není třeba se obávat negativních vlivů z pěstování hybridů Bt-kukuřice s transgenem pro Cry3Bb1 a s transgeny dalších Cry proteinů na necílové organismy. Vysoké hodnocení tématu práce vychází z interdisciplinárního přístupu, to je propojení výzkumu základního a rostlinolékařského s moderními přístupy biochemickými a statistickými.

Cíle disertační práce a jejich splnění

Cíle práce jsou stanoveny pro plošně rozsáhlý tříletý polní experiment, neobvyklý rozsahem monitorování bezobratlých a rozsahem biologických analýz a dále pro navazující laboratorní experimenty. Přes vysoký počet dílčích cílů i jejich značný rozsah byly cíle práce splněny, v řadě oblastí překročeny.

Zvolené metody a zpracování disertační práce

Výběr a popis metod a pracovních postupů odpovídají zaměření práce a provádění jednotlivých experimentů a jsou popsány v jednotlivých publikacích a rukopisech. Nemám k této části žádné věcné připomínky. Oceňuji rozsah a různorodost metodických přístupů, kvalitu zpracování práce a využití moderních statistických metod zpracování dat.

Výsledky disertace a přínos nových poznatků

V rámci řešení disertační práce byla dosažena celá řada originálních poznatků, které již z části byly publikovány v prestižních impaktovaných vědeckých časopisech. Znova opouštět části práce, které již byly náročně opouštěny před zveřejněním ve vědeckých časopisech, považuji za bezpředmětné. Proto mé další dotazy směřují ke dvěma dosud nepublikovaným rukopisům. V publikacích I, II a III jsou uvedeny výsledky hodnocení vlivu Bt-kukuřice s Cry 3Bb1 na necílové taxony bezobratlých, živočichů, na společenstva pavoukovitých a drabčíkovitých brouků a na společenstva herbivorů a jejich přirozených nepřátel v porostu kukuřice. Výsledky těchto prací přesvědčivě dokladují, že pěstování Bt-kukuřice rezistentní k bázlivci kukuřičnému s Cry3Bb1 nemá negativní vliv na společenstva necílových bezobratlých živočichů. V publikaci o vlivu na drabčíkovité brouky velmi oceňuji doplňkovou studii o abundanci larev dvoukřídlých ve vzorcích půdy a jejich analýzu ve vztahu k parazitickým druhům drabčíků.

Dosažené velmi kvalitní výsledky v rukopisu publikace IV jsou spojovány s hypotézou, která vychází z jednoho, podle mého názoru sporného východiska. Nejprve k východisku hypotézy, cituji str.18: „Larvy cílových škůdců odolné proti Cry proteinům mohou růst pomaleji než citlivé larvy“. Existuje řada poznatků, že larvy herbivorů po příjmu Cry proteinů podle druhů škůdce a typu transgenů buď hynou, nebo přežívají s různými negativními dopady na fitness, včetně snížení přírůstků hmotnosti. Ale jedná se stále o larvy citlivé. Pokud by škůdce vyseletoval jedince rezistentní, pak by larvy nehynuly nebo by se snížil negativní vliv toxinu na fitness. To by znamenalo, že odolné larvy by měly růst rychleji, než larvy citlivé. Při výběrovém testu by predátory preferovaly menší larvy, v případě mnou uvedeného

východiska by odstraňovali citlivé larvy a rezistentní larvy by opomíjeli. Žádný výsledek, který by podporoval první, nebo druhé východisko, není v práci uveden. Je uveden důkaz pouze preference predátorů pro menší larvy. Mnou uváděné východisko by však mělo opačný vliv na hodnocení významu RIB (refuge in a bag), než jak je uvedeno na str. 18 (a v práci IV). Naopak by to potvrdilo hypotézu, že systém RIB může mít sporný dopad na rychlost selekce rezistence oproti klasickému systému refugií. Výsledky práce V. považuji za velmi kvalitní a originální. V komentářích k této práci doporučuji vyhnout se formulaci, že se hodnotil synergický efekt Cry proteinů. Byla to hypotéza, kterou výsledky práce nepotvrdily. Přínos nových poznatků pro vědu je nesporný, stejně tak jejich význam pro praktické pěstitele kukuřice a orgány dozoru a regulátory evropské nebo státní.

Připomínky a dotazy:

- Nelíbí se mi formulace na str. 13, cituji „management vzniku rezistence...“. Zaprvé, v angličtině běžně užívaný termín „insect resistance management – IRM) doporučuji v češtině označovat „řízení hmyzí rezistence“. Zadruhé, doporučuji používat místo „vznik“ rezistence, „selektce“ rezistence.
- Formulace poslední věty druhého odstavce na str. 13 je nesprávná, cituji: „Tato opatření zajistí, že případně vzniklá alela zodpovědná za rezistenci bude recesivní“. V předchozí větě citované antirezistentní opatření nemohou zajistit vznik rezistentní alely. Obvykle je tomu tak, že řada uváděných opatření způsobuje mortalitu heterozygotů (s jednu recesivní alelou pro rezistenci), takže je bráněno selekci rezistentních homozygotů. Nebo snad k připomínkované větě existuje jiné vysvětlení?
- Proč je Cry protein považován za nutričně nekvalitní zdroj potravy pro housenky *Spodoptera littoralis*?
- Jaké mohou mít vliv odlišné typy refugií (klasické a RIB) na úspěšnost antirezistentních strategií u Bt-kukuřice? (Vysvětlení k připomínce k práci IV).
- Proč jsou velikosti refugií např. u zavíječe kukuřičného (% ploch s konvenčními odrůdami) ve světě u Bt kukuřice rozdílné? Proč se plochy refugií mohou ošetřovat insekticidy nebo bioagens? Za jakých podmínek by ošetřování refugií mohlo urychlovat vývoj rezistence (jak uvádějí Onstad a Meineke, 2010)?

Závěr:

Práci hodnotím jako výbornou, protože jsem v posudku uvedl některé kritické připomínky se záměrem podpořit diskuzi k interpretacím výsledků a k zaměření dalšího výzkumu. Přeloženou práci považuji za originální, s aktuálním tématem a s dosaženými výsledky významnými pro rozvoj vědy a s významem výsledků pro pěstitele kukuřice a regulátory GMO. Práce zcela splňuje kritéria pro přijetí k obhajobě. Doporučuji proto komisi pro obhajobu disertačních prací Přírodovědecké fakulty Jihočeské univerzity, aby po úspěšném obhájení byl Mgr. Zdeňke Svobodové přidělen akademický titul „Doktor“.

V Praze 10. 2. 2016


Prof. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.

Posudok na doktorandskú dizertačnú prácu

Recenzent:

Prof. Ing. Ľudovít Cagáň, CSc., Katedra ochrany rastlín, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Autor dizertačnej práce:

Mgr. Zdeňka Svobodová

Téma:

Vliv GM kukuřice na entomofaunu (Effect of GM maize on entomofauna)

Predkladaná dizertačná práca má absolútne perfektnú štruktúru a môže slúžiť ako vzor ako to má po formálnej stránke vyzerat'.

Už zoznam publikácií doktorandky naznačuje, že urobila dobrú prácu, ale samozrejme pod dobrým vedením.

Doktorandská práca obsahuje súhrnnú informáciu na 24 stranách a potom nasleduje citovaná literatúra a kópie publikácií. Úlohou oponenta vlastne nie je vyhodnotiť, či strany 37-156 sú správne, pretože k tomu sa už pravdepodobne vyjadrili iní oponenti v časopisoch s veľmi dobrým IF. Ale v z údajov nie je jasné, čo to znamená „rukopis“ v prípade publikácií IV. a V. Boli tieto rukopisy už akceptované do tlače? V akom vedeckom časopise? Zo zoznamu autorov vyplýva, že doktorandka spolupracovala pri príprave týchto rukopisov s významnými výskumníkmi a preto predpokladám, že tieto rukopisy majú dobrú budúcnosť.

V úvode sa autorka venuje vplyvu Cry proteínov na necieľové organizmy. Domnievam sa, že možno by bolo vhodné venovať väčšiu pozornosť jednotlivým druhom vošiek ak sú takéto údaje dostupné v literatúre. V súvislosti s roztočcami (svilušky) by možno bolo vhodné komentovať aj ich význam a výskyt v kukuričných porastoch. Trošku mi chýbajú najnovšie údaje o vplyve Cry3Bb1 proteínu na herbivorné necieľové druhy z radu Coleoptera. V prehľade (str. 6) je uvedené, že tento proteín v prípade konzumácie peľu neovplyvnil niektoré druhy, ale potom je potrebné objasniť vplyv toho istého proteínu na druh *Diabrotica virgifera virgifera*. Pri hodnotení vplyvu Cry proteínu na predátory mi chýba informácia o aký Cry proteín sa jedná, pretože to je zásadná vec. Bežný čitateľ nemá čas hľadať citované publikácie. Ak sa hodnotil vplyv Cry proteínov účinný proti motýľom, tak môžeme očakávať, že predátory z radu chrobáky nebudú ovplyvnené. Zaujímá ma v tomto zmysle napríklad

objasnenie riadkov 8-12 na strane 9. Aký je názor autorky práce v súvislosti s vplyvom BT kukurice na populácie parazitoidov škodcov kukurice. Čo by sa mohlo stať s parazitoidmi ak pestovanie BT kukurice výrazne zníži populácie vijačky kukuričnej (*Ostrinia nubilalis*)? Pokiaľ ide o degradáciu proteínov v rastlinných zvyškoch, celkom ma prekvapila informácia, že v bezorebnom systéme pestovania bola degradácia rýchlejšia.

Ciele a hypotézy práce sú jasné a zrozumiteľné.

Údaje v publikácii I sú jasné, zrozumiteľné a očakávané. Možno by bolo vhodné komentovať aj rozdiely v populáciách pavúkov na lokalite sledovanej pri Českých Budějoviciach v porovnaní s populáciami pavúkov v podobných pokusoch v iných krajinách. Tým by sa získaná informácia mohla viac zovšeobecniť.

V súvislosti s publikáciou II prosím o podrobnejšie objasnenie tabuľky na strane 56. Ja viem, že publikácia bola uverejnená v časopise s vysokým IF, ale napriek tomu mám k tabuľke niektoré otázky. Rozumiem tomu tak, že „numbers (mean per management regime and year)“ znamenajú počet živočíchov danej skupiny na 50 rastlinách (5 opakovaní x 10 odobraných rastlín), ale priemer môže znamenať aj priemer na jedno opakovanie. Vtedy by to bol počet na 10 rastlín. Hodnotenie sa robilo vo viacerých termínoch. Ako mám to číslo chápať? Ako priemer z viacerých termínov, alebo ako sumu zo všetkých termínov? Ak beriem do úvahy, že každá tabuľka by mala mať v sebe všetky informácie bez ohľadu na ostatný text, potom napríklad neviem, čo si mám pod termínom „Syrphidae“ predstaviť. Sú to imága alebo larvy? Alebo iba larvy? Predpokladám, že larvy, pretože pri metóde odberu rastlín pravdepodobne všetky imága odleteli. Ale možno nie. To isté ma zaujíma aj v súvislosti s inými taxonomickými skupinami. Ako sa hodnotil napríklad výskyt vajíčok Coccinellidae? Ako počet znášok? Alebo počet vajíčok? V prípade Chrysopidae sa vajíčka určite museli hodnotiť jednotlivo.

V prípade taxonomickej skupiny Staphylinidae mám rovnakú otázku ako pri pavúkoch.

Autorka sa zmienila vo všeobecnej diskusii o príprave metodiky pre monitoring vplyvu GM plodín na životné prostredie po uvedení na trh. Takáto metodika by mala zohľadniť význam pokusov v ČR. Možno by pri obhajobe dizertačnej práce mohla doktorandka konkrétne povedať niektoré informácie, ktoré by v tejto metodike mali byť. V práci je uvedené, že dáta, ktoré sú k dispozícii môžu významne pomôcť pri výbere indikátorov vplyvu GM plodín. Bolo by vhodné napríklad vymenovať najvýznamnejšie indikátory.

V prípade publikácie IV je potrebné povedať, že použitie lariev z rodu *Spodoptera* možno nebolo celkom vhodné ak bolo cieľom práce hodnotiť vplyv Bt proteínov v strednej Európe. V tomto zmysle lepšie nadväzuje na poľné pokusy publikácia V, v ktorej sú modelovými herbivormi *R. padi* a *T. urticae*. Je iba škoda, že sa netestoval nejaký predátor z taxonomických skupín citlivých k Cry proteínom sledovaného Bt hybridu kukurice.

V dizertačných prácach v Slovenskej republike sa obyčajne uvádza aj prínos práce pre spoločenskú prax. Nepokladám za úplne nutné urobiť to aj v prípade tejto práce, ale doktorandka by mohla na túto tému pri obhajobe povedať nejaké vyjadrenie.

Autorka dizertačnej práce potvrdila, že dosiahla výborné výsledky a dokumentovala to publikáciami. Preto jednoznačne odporúčam dizertačnú prácu k obhajobe pred príslušnou komisiou.

Nitra 19. 3. 2016



Prof. Ing. Ľudovít Čagaň, CSc.