

DISKUZE

k obhajobě (22.11.2007) disertační práce Ing. Jana Kubíčka na téma:

Monitoring výskytu autochtonních kmenů entomopatogenních hub a jejich využití v integrované ochraně rostlin

1) Vyjádření k dotazům a připomínkám oponentů na disertační práci viz. příloha k tomuto dokumentu.

- Vyjádření k dotazům a připomínkám z oponentských posudků byly dle oponentů dostatečné a bez připomínek.

2) Vlastní diskuze k odpovědím na jednotlivé otázky:

- **doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.: Jakým způsobem probíhal odběr vzorků a po jaké době byly tyto vzorky analyzovány?**

⇒ Odběr půdních vzorků při monitoringu v jihočeském regionu byl realizován během 1,5 – 2 měsíců (pol. května až červen). Odběry půdních vzorků z jednotlivých lokalit na území Moravy byly realizovány v závislosti na jednotlivých studiích tzn. vstupní monitoring před aplikací entomopatogenní houby (před podzimním zpracováním půdy) a libovolně zvolený interval mezi následujícími odběry půdních vzorků od záměrné introdukce.

⇒ Po odběru půdních vzorků byly vzorky v laboratoři homogenizovány (protřepáním) a pouze část vzorku byla uložena v plastickém kontejneru (potravinářské krabičky) v ledničce. Vzorky byly zpracovány do 2 – 3 týdnů od odebrání.

- **Ing. Rostislav Zemek, CSc.: Proč byly v (bio)testech použity molice? Při jakých teplotách byly prováděny testy? Zda bude výstupem z této práce také registrovaný biopreparát nebo patentizace kmene (požadavek ústavů na publikační a patentovou činnost pracovníků)?**

⇒ Přesto, že se jedná o typického škůdce ve skleníku, byla molice skleníková zvolena z několika důvodů. Jedná se o modelového hostitele se kterým má naše pracoviště dlouhodobé zkušenosti a který umožňuje výběr izolátů na základě biologické charakteristiky. Další předností včetně zavíječe voskového je snadnost chovu těchto hostitelů.

⇒ Všechny testy probíhaly při optimálních vlhkostních a teplotních podmínkách cca 25 °C, protože optimální teplotní podmínky pro růst a vývoj entomopatogenních hub se pohybují v rozmezí 20 – 25 °C. Zmínka o práci autorky Vänninen (izoláty z různých částí Norska s různým teplotním optimem pro virulenci).

⇒ Proces registrace je velmi složitý a především nákladný. Druhým hlediskem je (nedostatečná) velikost trhu (ČR). Možným řešením je spolupráce farmářů např. s fakultou při přípravě (bio)agens – nutné řešit legislativně. Doplnil RNDr. Miloslav Zacharda, CSc. o zkušenosti s parazitickou vosičkou *Aphidias colemani* – přesné stanovení postupu registrace dle platné směrnice. Jedná se o velmi složitý proces s vysokými poplatky. Prof. Ing. Vladimír Táborský, CSc. doplnil diskuzi o nutnosti propojení této oblasti se skutečně funkčním poradenstvím prostřednictvím konzultantů a e-konzultací. Prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc. zmínil zjednodušení procesu registrace (REBEKA) – patentování bioagens na bázi kmene s následným zjednodušením registrace nových přípravků téhož druhu.

- Poděkování k připomínkám RNDr. Aleny Novákové, CSc., týkající se aktuální nomenklatury v oblasti mykologie. Poznámka (prof. Táborského), že není nutné (v oblasti ochrany rostlin) klást takový důraz na stále se měnící nomenklaturu, která je hlouběji řešená v jiné oblasti.

Zpracoval:

Dne 23.11.2007

.....
Ing. Jan Kubíček

Vyjádření k dotazům a připomínkám oponentů na disertační práci

**Monitoring výskytu autochtonních kmenů entomopatogenních hub
a jejich využití v integrované ochraně rostlin**

22. listopadu 2007

Ing. Jan KUBÍČEK

Oponent: prof. Ing. Vladimír Tábořský, CSc.

Otázka 1:

Jaký je názor autora DDP na využití kmenů autochtonních pro přípravu bioagens používaného v podmínkách izolace nebo kmene se specificky odlišným charakterem introdukovaného z jiného prostředí?

- V případě introdukce autochtonního kmene oproti nepůvodnímu (exotickému) kmenu do půdy se předpokládá jeho vyšší adaptace na půdně-povětrnostní podmínky prostředí a tím i vyšší pravděpodobnost jeho dlouhodobého vytrvání a působení jakožto bioagens. Velký význam zde hraje také ekologické hledisko v případě nepřipustného vnášení nepůvodních organismů např. do chráněné zóny NP.

Otázka 2:

Po jakých studiích u jednotlivých izolátů mitosporických hub je možné původní izolát překlasifikovat na kmen dané mitosporické houby?

- Po přečištění byl izolát EH uložen do mykologické sbírky a každému izolátu byl přiřazen název (řada M, např. M062) – poté byl izolát hodnocen pomocí standardních (bio)testů charakterizujících např. jeho virulenci (vůči modelovému hostiteli), produkční a růstové vlastnosti.
- V této fázi, kdy jsou známy základní charakteristiky (viz. databáze kmenů KRV) tedy odlišnosti mezi jednotlivými izoláty je možné mluvit o kmenu EH (ovšem mezi tyto odlišnosti nejsou řazeny morfologické charakteristiky).

Pozn.:

Např. pro ověření stálosti kmene bylo porovnáno šest vzorků DNA:

- dva získány ze dvou monosporových izolátů matečné kultury kmene M062 a
 - čtyři vzorky byly extrahovány z různých míst jedné kultury (3 pasáže) kmene M062
- RAPD analýza prokázala schodu mezi těmito vzorky

Otázka 3:

Jak si autor DDP osvojil psaní časopiseckých vědeckých prací?

- Doposud byly publikovány dílčí výsledky výzkumu především na konferencích.

K dalším připomínkám a dotazům:

- V případě připomínky k **chybějícím citacím v seznamu literatury prací autorů** – Inglis et al. 2000 a Fargues (1996) → tyto práce nebyly správně citovány v textu Inglis et al. 2001 a Fargues et al. (1996).

- Na str. 22 citace Lie et al. 1988 a Watson et al. 1992 – skutečně chybí!

- 2 x citován Landa et al. 1994, ale v seznamu literatury je uveden Landa 1994 – co je správně? → Citace v textu je správně, ale nebyla dopsána do seznamu lit.!

- K otázce „**Proč autor použil jen dvě opakování při náhodném odběru vzorků ornice?**“ (Poznámka oponenta: Pro statistické hodnocení výsledků vhodnější volit 3 opakování...) → Každý směsný vzorek půdy se skládal z několika (5 – 8) dílčích vzorků. V případě lokality Pěňčín byly odebrány dva směsné vzorky z důvodu pomyslného rozdělení pozemku na dvě poloviny.

Otázka 1:

Jakým způsobem byla hodnocena mortalita při GBM z hlediska mortality způsobené jiným patogenem (např. entomopatogenními hlísticemi)?

Jak často byla zaznamenána přítomnost obou entomopatogenních činitelů? Pokud nikoliv, může to být důkaz, že se v půdním vzorku vyskytoval vždy jen jeden činitel patogena?

- Přítomnost jiného entomopatogena nebyla pravidelně zaznamenána (primární data neumožňují zpětné stanovení frekvence výskytu entomopatogenních hlístic).

- Entomopatogenní hlístice byly však zaznamenány („zvodnatělá larva“).

- Vývoj entomopatogenních hlístic je o něco rychlejší než vývoj entomopatogenních hub → to mohlo vést k „maskování“ přítomnosti entomopatogenní houby v půdním vzorku:

- dodržet optimální vlhkoštní poměry při GBM (nepřemokřená půda)

- kombinace se SM a.i. dodine

- Zaznamenána např. z části „zvodnatělá larva“ s ostrůvkem mycelia (přítomnost obou entomopatogenů)

K dalším připomínkám a dotazům:

Podkapitola 4.2.2 – není zcela zřejmé, jak dlouho pokus probíhal, jsou zaznamenány jen dny kontroly až do 14. dne. Je toto skutečná doba trvání pokusu? → Izolace EH z půdy pomocí GBM byla ukončena 14. den (poslední kontrola)

Oponent: RNDr. Alena Nováková, CSc.

Připomínky a dotazy:

Proč v tabulce 5.1 – chybí (proškrtnuto) způsob izolace, izolovaný druh ...?

Kamenný Újezd	1	GBM	<i>B. bassiana</i>	M449
Kolný	1	SM a.i. dodine	<i>M. anisopliae</i>	M468
Ločeničky	1	–	–	–

→EH nebyla izolována ani jednou metodou → Vhodnější uvést „EH nedetekována“!

Oponentovi bych chtěl především poděkovat za přínosné připomínky k aktuální terminologii a klasifikaci:

- p. oddělení: Mitosporické houby (nebo Deuteromycetes nebo Fungi Imperfecti)
- *Isaria fumosorosea* (*Paecilomyces fumosoroseus*) x *P. lilacinus* a *P. carneus*; *Lecanicillium lecanii* (*Verticillium lecanii*)
- doporučení pro správné psaní autorských zkratk
- vhodné použít českých termínů např. phialidy x fialidy
- zařazení hub podle platné klasifikace tedy říše Fungi, oddělení Eumycota.

Otázka:

Kde autor vidí problémy, které brání většímu rozšíření využití těchto metod v rámci integrované ochrany rostlin, a to nejen u obilovin, ale i u dalších plodin a jak je řešit?

• Myslím si, že velkou překážkou je v současné době nezbytná registrace nového biopreparátu v případě jeho komerčního využití.

→ Řešením může být například zjednodušená forma registrace biopreparátu (nového kmene), pokud již byl v EU registrován přípravek na bázi stejného druhu EH.

• Jedním z hlavních omezení v jejich použití v ochraně rostlin je nestálost v účinnosti například při velkoplošné aplikaci na pole, což může být zapříčiněno řadou faktorů, které mají podstatu v biologickém původu těchto mikroorganismů.

→ Všechny procesy výběru, pozorování a vývoje by tedy měly přijmout i ekologický přístup, který bere v úvahu znaky prostředí, kam bude agens aplikováno.

Dotazy a připomínky?!



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta

PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: **Ing. Jan Kubíček**
Narozen(a): 26.11.1978 v Plané u Mariánských Lázní

Studijní program: Fytotechnika
Studijní obor: Ochrana rostlin
Forma studia: prezenční

Název disertační práce: **Monitoring výskytu autochtonních kmenů entomopatogenních hub a jejich využití v integrované ochraně rostlin.**

Výsledek obhajoby:

Vyhověl (a)

~~Nevyhověl(a)~~

Komise:

	JMÉNO	PODPIS
Předseda:	prof. Ing. Vladimír Tábořský, CSc., FPPZ ČZU v Praze (oponent)	
Členové:	RNDr. Zdeněk Mráček, DrSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i. (oponent)	
	RNDr. Alena Nováková, CSc., ÚPB BC AV ČR v.v.i (oponentka)	
	doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc., ZF JU v Č.Budějovicích	
	doc. RNDr. František Weyda, CSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i	
	RNDr. Miloslav Zacharda, CSc., ÚSBE BC AV ČR v.v.i	
	Ing. Rostislav Zemek, CSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i	
Školitel:	prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	

V Českých Budějovicích dne 22. listopadu 2007



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta

OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: **Ing. Jan Kubíček**
Narozen(a): 26.11.1978 v Plané u Mariánských Lázní

Studijní program: Fytotechnika
Studijní obor: Ochrana rostlin
Forma studia: prezenční

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 7

počet přítomných členů komise: 7

počet platných hlasů: 7

kladných: 7

záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

Komise:

	JMÉNO	PODPIS
Předseda:	prof. Ing. Vladimír Tábořský, CSc., FPPZ ČZU v Praze (oponent)	
Členové:	RNDr. Zdeněk Mráček, DrSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i. (oponent)	
	RNDr. Alena Nováková, CSc., ÚPB BC AV ČR v.v.i (oponentka)	
	doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc., ZF JU v Č.Budějovicích	
	doc. RNDr. František Weyda, CSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i	
	RNDr. Miloslav Zacharda, CSc., ÚSBE BC AV ČR v.v.i	
	Ing. Rostislav Zemek, CSc., EntÚ BC AV ČR v.v.i	
Školitel:	prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc., ZF JU v Českých Budějovicích	

V Českých Budějovicích dne 22. listopadu 2007