

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Ing. Štěpánky Radové
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

„Studium účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hub a hlístic na larvách modelových druhů hmyzích škůdců“

Oponent

Prof. Ing. Vladimír Tábořský, CSc.

KOR FAPPZ Česká zemědělská univerzita v Praze

Předložená doktorská disertační práce Ing. Štěpánky Radové je zaměřena na významné téma alternativní přístupy v ochraně rostlin. Biologická ochrana je založena na interakci škůdce a jeho přirozených nepřátel jako jsou parazitoidi, predátoři a patogeny. Mezi patogeny používané v biologické ochraně patří bakterie, houby, viry a hlístovky. Nejvhodnější řešením problému regulace výskytu půdních škůdců se jeví integrovaný systém ochrany rostlin (IOR). Environmentální politika v Evropské unii nadále patří mezi ty oblasti politiky, které jsou úzce spojeny s obavami a očekáváním občanů, pokud jde o lepší ochranu jejich životního prostředí, jejich zdraví a bezpečnost jejich každodenní stravy. IOR je charakterizována následujícími zásadami:

i) komplexní přístup, který je v souladu s cíli integrované rostlinné produkce a zdůrazňuje především udržitelnost rostlinné produkce, ii) zahrnutí ekologických požadavků a zejména podpora mechanismů přirozené ochrany rostlin, iii) cílené a hospodárné používání pesticidů za účelem snížení dávky na nezbytné minimum a to při plném využití potenciálu preventivních a nechemických opatření.

Cílem této práce je rozšířit znalosti o interakcích mezi entomopatogenními houbami a hlísticemi. Základní hypotéza DDP vychází ze skutečnosti, že většina praktických aplikací bioagens je orientována do oblasti kurativních účinků, ale jen málokteré práce studují efekt profylaktického použití, zvláště pak v případě entomopatogenních hlístovek. Hlavní cíle DDP autorka definuje v sedmi bodech na straně 23.

Celá disertace je sepsána klasickou formou, včetně členění (literární přehled, cíle práce, materiál a metody, experimentální část a výsledky, diskuze, závěry, anglické summary, seznam literatury a přílohy. Textová část včetně seznamu literatury obsahuje 127 stran a přílohy obsahují 5 grafických listů.

Část literární přehled pojednává (na str. 2-12) o entomopatogenních hlísticích, jejich vývojovém cyklu hlavně rodu *Steinernema*, o symbiotické bakterie asociované s EPNs. Dále o faktorech ovlivňující jednak jejich účinnosti, hostitelském okruhu a jejich strategii životního prostředí, vlivu abiotických faktorů, vlivů UV záření, pesticidů a biotických faktorů. Část literárního přehledu je věnována charakteristice vybraných druhů entomopatogenních hlístovek a také je uveden seznam přípravků na bázi EPNs používaných druhů v registrovaných přípravcích počtu 18, proti hmyzím škůdcům. V další části literárního přehledu DDP na str. 13-20 je věnována entomopatogenním houbám (EPFs), vývojovému cyklu EPFs, faktorům ovlivňující účinnost, hostitelskému okruhu, hostitelům, biotickým faktorům ovlivňující jejich růst, vývoj a patogenitu, vlivu slunečního záření, vlivu půdy a také vlivu biotických faktorů na EPF. Detailně jsou zpracovány charakteristiky druhu *Beauveria bassiana* a *Isaria fumosorosea*. V literárním přehledu je také uveden přehled entomopatogenních hub (druhy a kmeny) používané v registrovaných prostředcích na ochranu

proti hmyzím škůdcům a roztočům. V závěru literárního přehledu je uvedena informace o společné kombinaci entomopatogenních hlístic a entomopatogenních houbách v systému IOR na str. 21-22 DDP.

Kapitola materiál a metody podrobně popisuje všechny použité metody na str. 24-32. Entomopatogenní hlístice jejich původ, uchovávání a kultivace, příprava suspenze hlístic a hodnocení kvality. Entomopatogenní houby *Isaria fumosorosea* a *Beauveria bassiana* jejich původ, kultivace a kultivační media, příprava konidiových suspenzí a hodnocení kvality hub. Populace larev hmyzu používaných v pokusech zavíječ voskový *Galleria mellonella* a potěmník moučný *Tenebrio molitor* a jejich příprava pro zakládání labortorních pokusů, jejich povrchová sterilace. Kultivační jednotky a půdní substrát používaný v pokusech, Kompatibilita vybraných pesticidů se *Steinernema feltiae* in vitro test a in vivo test a hodnocení účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hlístic v půdním substrátu a hodnocení účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hub v půdním substrátu. Vliv prekolonizace půdního substrátu na interakce mezi entomopatogenními houbami a hlísticemi a vlivem aplikace hlístic na vývoj infekce entomopatogenních hub na larvách *S. feltiae*.

Na závěr kapitoly materiál a metody (str. 31-32) je popis postupů digitalizace obrazu a použité mikroskopické techniky a použití statistických metod, kterými byly experimentální výsledky hodnoceny.

Kapitola 5. Experimentální část a výsledky je nejrozsáhlejší kapitola, na str. 33 až 93 jsou uváděny vlastní experimentální výsledky, jejich rozbor a hodnocení. Z celkového hodnocení vlivů fungicidů na mortalitu infekčních larev hlístic *S. feltiae* in vitro vyplývá, že ani jedna ze studovaných úč.láték nezpůsobila výrazné snížení vitality hlístovky. Výjimku tvoří úč.l. fenpyroximate akaricidu, u kterého přesáhla hranice mortality 20%. V hodnocení části in vivo testech vybraného fungicidu naurimol hodnoty testů *T. molitor* se pohybovaly v rozmezí 82,5 až 100%. Podobné výsledky byly dosaženy také u dalších skupin pesticidů na virulenci *S. feltiae* (Tab. 14, 16 a 18). Většina testovaných pesticidů virulence *S. feltiae* se nesnížila, ale úč.l. fenpyroximate a tebufenozide způsobily výrazné snížení účinnosti.

Výsledky uváděné v části 5.2 hodnocení účinnosti entomopatogenních hlístic rodu *Steinernema* proti larvám modelových škůdců např. *Galleria mellonella* podle Tab. 20, 22 po 7 a 14 dnech se příliš neměnily. Podobné výsledky obsahuje Tab. 24 a 26 s modelovým škůdcem *T. molitor*.

Hodnocení 5.3. vlivu prekolonizace půdního substrátu na účinnost hlístic rodu *Steinernema* na mortalitu larev *T. molitor* v závislosti na koncentraci hlístic. V testu se sledovalo osídlení půdního substrátu, u které bylo signifikantní ovlivnění.

Vliv různých teplot na účinnost se projevuje pouze krátkodobě a po týdnu se vyrovnává. Nejvyšší hodnot mortality proti *T. molitor* bylo dosaženo při nejvyšší testované teplotě 25 °C u obou testovaných druhů hlístovek. Obě hlístice prokázaly signifikantní snížení účinnosti v režimu s 6% vlhkostí po 7 dnech testu, ale po 14 dnech, kdy byla vlhkost navýšena, zároveň došlo i k navýšení účinnosti obou sledovaných druhů hlístovek. Hlístovka *S. feltiae* i v režimu snížené vlhkosti poskytla 7. den testu 58% účinnost v porovnání *S. carpocapsae* vykázala mortalitální účinnost 24%.

Experimenty v části 5.5 zahrnuje účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hub *Isaria fumosoroseum* a *Beauveria bassiana* proti larvám *T. molitor* při rozdílné koncentraci spor po 7 dnech při teplotě 25 °C se projevilo vyšší účinností *I. fumosoroseum* na úrovni 68% oproti účinnosti *B. bassiana* na úrovni 28% v nejvyšší testované koncentraci 1×10^6 spor.

V kapitole diskuze autorka srovnává své výsledky s dostupnými údaji ve vědecké literatuře. Studované mikroorganismy jsou v dostupné literatuře na úrovni velmi dobře

zpracované a ve značném rozsahu i dobře popsané. Literatura je zaměřena na kompatibilitu vybraných pesticidů s hlídicí *S. feltiae*, která je nezbytná pro vývoj a inovace systému integrované ochrany plodiny, ve kterém se počítá s využitím entomopatogenních hlístic a entomopatogenních hub. Zhodnocení z hlediska regulace vlivu teploty a vlhkosti včetně studia nákladů užitek na pěstební záměr a reakce trhu na kvalitu produktu uváděného na trh ještě čeká na další experimentální studie, které doplní nedostatečné znalosti, které umožní průmyslovou produkci a tím se zlevní produkt nahrazující syntetické pesticidy používané proti škůdcům.

Provedené experimentální testy o účinnosti entomopatogenních hlístic a hub poskytují vstupní údaje pro základ přípravy systému integrované ochrany rostlin (IOR) pro danou plodinu, spektrum škodlivých organismů, lokalitu a ekonomické zázemí agrární politiky.

Se závěry uvedené v DDP oponent souhlasí.

Seznam použité literatury obsahuje celkem 250 citací převážně zahraničních periodik, a to reprezentuje množství zpracovaných a využitých informací.

Kapitola přílohy je tvořena přehledem grafických listů.

Grafický list 1. Seznam přípravků na bázi entomopatogenních hub registrovaných proti hmyzím škůdcům a roztočům ve vybraných zemích Evropy a USA (de Faria and Wraight) 2007.

Grafický list 2. Hodnotící indexová stupnice biotestu vývoje EPF na larvách potměníka moučného (*Tenebrio molitor*) (upraveno dle Hoňák 2004)

Grafický list 3. Prezentace metodického postupu v testech kompatibility pesticidů a *S. feltiae*

Grafický list 4. Prezentace metodických postupů při získávání půdního výluhu

Grafický list 5. Projevy infekce způsobené různými druhy entomopatogenních agens

Otázky:

Jak hodnotíte výsledky experimentálního studia interakcí mezi entomopatogenními hlídicemi a entomopatogenními houbami?

Jak hodnotíte vliv rekolonizace půdního substrátu na interakce mezi *B. bassiana* a *S. carpocapsae*?

Lze předpokládat, že v praxi převládne na základě pozitivních experimentálních výsledků jedna z forem použití entomopatogenních preparátů nebo jejich kombinace?

Připomínka:

Na str. 59 v textu na počátku odstavce začínající slovem „Graf“ chybí jeho číslo „13 nebo 12?“

Zajímavé výsledky jsou v Tab. 59 str. 60, které poskytují řešitelce podklady pro rozhodování, kterou koncentraci spor doporučit k aplikaci ochrany pěstební substrátu?

Jaké výhody a nevýhody lze odvodit z pokusů při volbě provádět prekolonizované nebo neprekolonizované aplikaci biologické ochrany?

Ve vaší DDP na str. 12. uvádíte přehled registrovaných přípravků na bázi entomopatogenních hlístovek (18):

Otázka se týká ohledně uplatnění této skupiny biopreparátů v ochraně rostlin (plodina) nebo jiné použití? Jaké jsou ekonomické parametry uplatnění v současné době v ČR?

Jaké druhy entomopatogenních hub přicházejí v úvahu pro praktickou ochranu v ČR?

Připomínky:

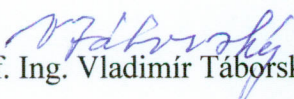
Na str. 59 v textu Graf reprezentující strukturu populace ukazujeje třeba vždy uvádět číslo grafu a to je Graf č. 13 nebo 12?

Na str.64 v textu „v neprekolonizované variantě vyskytovaly larvy živé pouze s metalizačními skvrnami“? Snad melanizační skvrny!

Závěr

Závěrem mohu konstatovat, že disertační práce Ing. Štěpánky Radové přinesla řadu původních vědeckých poznatků, využitelných nejen pro další výzkum v této oblasti ochrany rostlin, ale i pro účely praktické ochrany rostlin. Doktorandka prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce, velmi dobře se orientuje ve studované problematice, dokáže formulovat pracovní hypotézy, založit a realizovat vědecké experimenty, získaná data pak analyzovat, interpretovat a přijatelnou formou publikovat.

Disertační práce Ing. Štěpánky Radové splňuje všechny základní požadavky kladené na tento typ prací podle zákona č. 111/1998 Sb. a proto ji doporučuji k obhajobě. Po úspěšném obhájení doporučuji udělení titulu „Doktor“ (ve zkratce Ph.D.).


Prof. Ing. Vladimír Táborský, CSc.

V Praze 8.06.2010

Oponentský posudek na disertační práci Ing. Štěpánky Radové: Studium účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hub a hlístic na larvách modelových druhů hmyzích škůdců

Disertační práce Ing. Štěpánky Radové se zabývá efektivitou a kompatibilitou entomopatogenních hlístic a hub využívaných v ochraně rostlin. V době stále se zvyšující poptávky po efektivních, ale k životnímu prostředí šetrných prostředcích je tak toto téma velice aktuální.

V první části práce autorka studuje vliv různých typů pesticidů na vitalitu a virulenci hlístovky *Steinernema feltiae*. Další kapitoly jsou věnovány studiu patogenity hlístovek a entomopatogenních hub k modelovým hostitelům zavíječi voskovému a potemníku moučnému v závislosti na různých faktorech. Poslední kapitoly pak studují interakce hlístovky *S. carpocapsae* a hub *Beauveria bassiana* a *Isaria fumorosea*.

Studovaná problematika je tedy velmi široká, ale práce přesto působí kompaktním dojmem. Šíře pojetí, kdy jsou zkoumány dva různé entomopatogeny samostatně i ve společné interakci je tedy jednoznačně výhodou.

Druhy hub i hlístovek zvolené pro experimenty byly vhodně vybrané, u obou skupin se jedná vesměs o druhy již užívané v praxi. Navíc použité druhy hlístovek představují základní typy životních strategií těchto organismů (pohyblivý cruiser *S. arenarium*, sedentární ambusher *S. carpocapsae*, přechodný typ *S. feltiae*).

Práce přinesla řadu zajímavých poznatků, jako například odhalení pozitivního vlivu některých pesticidů na vitalitu a virulenci hlístovek. Zajímavé výsledky přineslo rovněž dosud nepřilíh studované téma vlivu prekolonizace substrátu entomopatogeny na jejich efektivitu. Otázkou zůstává, proč prekolonizace působila různě na různé druhy hlístovek, kdy u *S. carpocapsae* došlo ke snížení, zatímco u *S. feltiae*, *S. arenarium* a zejména u studovaných hub prekolonizace substrátu zvyšuje jejich účinnost. Tato skutečnost naznačuje, že preventivní aplikace některých biologických agens v biologické ochraně mohou být výhodné.

Studium interakce hub *B. bassiana* a *I. fumosorosea* se *S. carpocapsae* potvrdilo pozitivní vliv prekolonizace houbami na mortalitu modelového hostitele a ukázal se rovněž aditivní účinek společného působení hlístovky s houbou na mortalitu hostitele. Tyto výsledky naznačují, že společné aplikace entomopatogenů mohou být účinnější než aplikace jednotlivých agens.

Připomínky k práci:

Práce je celkově psána srozumitelně a čtivě. Velmi kvalitně je zpracovaný především literární přehled problematiky. Jako oponent však musím zmínit i některé kritické postřehy. Hlavní cíle práce uvedené na konci literárního přehledu působí nesourodě, a jsou zbytečně složitě formulované. Kapitola Výsledky je pojata poněkud svérázně. Nezvyklé je opakování metodiky v každé kapitole výsledků. Přehlednosti nepomáhá ani velké množství zbytečně rozdělovaných tabulek. Vhodnější by bylo menší množství velkých, přehledových tabulek. Není také třeba uvádět výsledky statistických analýz do samostatných tabulek, většinou postačuje uvést v textu hodnotu testového kritéria, počet stupňů volnosti a dosaženou hladinu

významnosti. Ve výsledcích se vyskytují často redundantní údaje – opakování dat v grafech, tabulkách a textu. Absence řazení textu do odstavců v diskusi značně ztěžuje orientaci v textu. V anglickém shrnutí se pak vyskytuje množství gramatických i stylistických chyb.

Z věcných připomínek: *S. carpocapsae* byla vybrána pro interakční pokusy na základě nejvyšší účinnosti proti potemníku moučnému. Tento druh však, jak už bylo zmíněno, špatně reagoval při prekolonizaci substrátu. To mohlo napomoci totální dominanci hub při společné aplikaci v prekolonizované variantě. Zajímavé by tak bylo použít ještě druh *S. feltiae*, která byla rovněž účinná proti potemníku moučnému a zároveň byla účinnější při prekolonizaci substrátu.

Dotazy k obhajobě:


- ◆ Proč byly v práci použity 2 různé kmeny hlístovky *S. feltiae*?
- ◆ Zajímavým výsledkem je pozorování pozitivního vlivu některých pesticidů na vitalitu a virulenci hlístovek. Čím si to autorka vysvětluje? Existují podobné údaje v literatuře?
- ◆ Čím je dána hostitelská nespecificita entomopatogenních hub? Jde výsledky dosažené s potemníkem moučným vztáhnout obecně třeba na larvy řádu Coleoptera?
- ◆ Schopnost hub, namnožit se v substrátu bez hostitele za krátkou dobu jednoho týdne je překvapivá, zvláště když za stejnou dobu na hostiteli ještě vůbec nedocházelo ke sporulaci. Jak je možné tento rozpor vysvětlit?
- ◆ Je namnožení spor při prekolonizaci jediná příčina následné vyšší účinnosti hub proti potemníkovému moučnému, nebo se houba může i nějakým způsobem „adaptovat“?

Hodnocení

Pro hodnocení práce je třeba připomenout, že tak široký tematický záběr vyžadoval zvládnutí velmi širokého spektra různých metod, nezbytných pro práci s dvěma tak rozdílnými skupinami organismů jako jsou hlístice a houby. Autorka se tohoto úkolu zhostila více než dobře, a získala velké množství originálních dat. V datech se dokázala dobře zorientovat a vyvodit z nich smysluplné závěry. Z výsledků disertační práce byly sestaveny 3 práce, které byly publikovány v recenzovaných mezinárodních časopisech a výsledky byly rovněž prezentovány na dvou konferencích.

Práce sama působí i přes některé formální nedostatky kvalitně. Celkově vzato práce jednoznačně splňuje podmínky kladené na disertační práce a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 16.6. 2010


RNDr. Vladimír Půža, Ph.D.
Entomologický Ústav BC AVČR
Branišovská 31
37005 České Budějovice



Oponentský posudek na disertační práci Ing. Štěpánky Radové „Studium účinnosti vybraných druhů entomopatogenních hub a hlístic na larvách modelových druhů hmyzích škůdců“

Předložená disertační práce zpracovává tematiku entomopatogenních hub (EPF) a hlístovek (EPN), které jsou v dnešní době často používané v ochraně rostlin jako prostředek biologického boje a náhrada pesticidů. Práce shrnuje současné znalosti a přináší řadu nových údajů z oblasti aplikace jednotlivých patogenů a jejich kombinace včetně prekolonizace. Náplní práce jsou tedy experimentálně získaná data popisující vhodné podmínky a vzájemné interakce mezi entomopatogenními hlístovkami, houbami a mezi vybranými hmyzími hostiteli.

Disertační práci o 127 stranách (+ grafické přílohy) tvoří obsáhlý obecný úvod a experimentální část. V úvodu jsou popsány EPN a EPF včetně popisů použitých druhů, hmyzích přirozených hostitelů a možného využití v praxi. Autorka musela zvládnout řadu experimentálních metodik, které jsou popsány v příslušném oddíle a dokumentovány i v grafických přílohách.

Nejdůležitější část disertační práce zahrnuje originální výsledky z několika oblastí - EPN v kombinaci s pesticidy; vliv teploty a vlhkosti na patogenitu EPN a EPF; vliv prekolonizace EPN a EPF. Výsledky jsou součástí tří anglicky psaných odborných publikací autorky, které ale ať už v plné formě nebo alespoň seznamem nejsou v disertační práci zmíněny. Teprve na vyžádání jsem se ze zaslání seznamu publikací dozvěděl o publikačních výstupech, které korespondují s hlavními kapitolami práce. Z tohoto pohledu bych spíše doporučil členění práce podle jednotlivých publikací, tj. nedávat všechny výsledky za sebou, ale uvést k nim i příslušnou diskusi; nyní je výsledková část velmi obsáhlá a k jednotlivým podkapitolám se vrací příslušná část diskuse. Nejdůležitější výsledky autorka uvádí přehledně v bodech jako závěr práce.

Po formální stránce tato práce plně odpovídá standardům kladeným na doktorskou disertační práci (včetně publikovatelných výsledků), metodiky jsou dostatečně popsány, výsledky zřetelně prezentované a dokumentované originálními grafy a obrázky, text je přehledný a srozumitelný. Autorka používala anglickou odbornou literaturu (více než 250 citací).

K předkládané práci nemám zásadní námitky, následně uvádím jen drobné připomínky a několik dotazů:

Připomínky:

- Obsah pravděpodobně z důvodu přehlednosti obsahuje pouze 2 úrovně nadpisů, v práci jsou uvedeny úrovně 4.
- Str. 3 „Kromě bakterií uvolňují hlístice látky s vysokou antibiotickou aktivitou...“ V tomto případě to jsou hlavně bakterie, které produkují antibiotika proti jiným bakteriím, správně to je zmíněno dále na str. 4.
- Obr. 1 – obrázek je upravován z anglického originálu, mělo by být uvedeno – upraveno podle..., ne pouze autor původního obr.

- V jinak detailním popisu vývoje EPN by mohl být zmíněn „food signal“ vedoucí k dalšímu vývoji IJs v hostiteli (tzv. recovery ze stádia IJ).
- Tab. 1 – tato tabulka vychází z poměrně starého zdroje, není úplná, bylo popsáno mnoho jiných druhů EPN. V tabulce není ani např. *S. scarabaei*, která je zmíněna dále v textu. V případě symbiotických bakterií je taxonomie důležitá až do poddruhu, např. *P. luminescens* u *H. marelatus* a *H. megilis* se potom budou pravděpodobně lišit.
- Názvy *Steinernema* a *Heterorhabditis* lze používat po prvním uvedení již jen ve zkrácené formě (např. *S. feltiae*), není nutné opakovaně rozepisovat celé názvy.
- Chybí seznam zkratk, některé zkratky jsou nevysvětlené, popř. vysvětlené až po opakovaném použití (např. parametry statistických rozdílů, FDI).
- V úvodu jsou rozsáhle uvedeny popisy druhů, není sjednocen styl u všech zástupců, např. str 10 – samci a samice u *S. carpocapsae* x samečci a samičky v popisu *S. arenarium*. Popisy druhů by šlo také úplně vynechat.
- Tab. 2 – Z nadpisu nelze určit kde jsou uvedené prostředky registrované, v tabulce jsou nejednotně používána malá a velká písmena v názvech druhů. U firmy e-nema chybí svorka, aby bylo jasné, že do její produkce patří Nemaplus – Nemaflor. Podobná tabulka s více údaji je dostupná přes www.COST850.ch, v tabulce chybí např. produkt Gardema.
- Tab. 4 – V nadpisu sloupce by se hodilo nahradit slovo „plodina“ například slovem „použití“.
- V textu se místy vyskytují slova z laboratorního žargonu, např. str. 24 „pod binokulárem“ místo binokulárním mikroskopem, také bych doporučil skloňovat termín „patogen“ jako „bez patogenu“ místo „bez patogena“.
- V kapitole 4.1. a dále je používána destilovaná voda nebo sterilní vodovodní voda? Podle mě je lepší pro přežívání hlístovek sterilní vodovodní voda, v destilované vodě hlístovky přežívají kratší dobu.
- V práci nejsou odkazy v textu na tabulky, obrázky a grafy, což stěžuje orientaci, některé legendy jsou neúplné a bez doplňujících informací z textu nesrozumitelné.
- Graf 1, str. 35, popisky osy X jsou od 2 do 98 %, měly by být stejně jako v grafu 2 od 0 do 100%.
- Tab. 14 – 18, jako kontrola je uvedena *S. feltiae*, v dalších skupinách by měla být opět uvedena *S. feltiae* + daná chemická látka, ne látka samostatně.
- Graf 30+31 – jedná se o průměrné hodnoty? Bez uvedení S.D. lze těžko určit statistickou významnost.
- Pokud jsou 2 autoři publikace – v české práci by příjmení měla být spojena „a“ místo „and“.
- Citace Anonym 2009 a dalších několik internetových odkazů bych doporučil vyčlenit ze seznamu literatury do zvláštního odstavce. Seznam literatury na konci práce je pečlivě zpracovaný až na detaily jako např. „De Faria“ v seznamu lit a v práci „de Faria“.
- Grafický list 1 by mohl nahradit Tab. 3, jedná se o stejný zdroj, nebo by alespoň u Tab. 3 mohl být odkaz na Grafický list 1.
- Drobné překlepy jsem označil v mém výtisku tužkou přímo do textu.

Dotazy:

- Jaké jsou možnosti uvedení experimentálních výsledků do praxe, tj. jaká je reálná situace s cenami EPN a EPF na našem trhu v porovnání s pesticidy?
- Kromě kombinací EPN a EPF je něco známo také o kombinaci EPN s *Bacillus thuringiensis*?
- Jaká jsou v ČR pravidla pro používání EPN a EPF v zemědělství? Lze introdukovat nové druhy nebo lze využívat pouze druhy původní?

Disertační práce Ing. Štěpánky Radové představuje rozsáhlou a metodicky i časově náročnou studii. Autorka v ní dále dokazuje, že má velký přehled o literárních údajích a dovede své výsledky s těmito údaji srovnávat, kriticky je hodnotit a diskutovat. Předkládaná práce jednoznačně splňuje požadavky kladené na tento typ práce, proto ji **doporučuji ke schválení** jako jeden z předpokladů k udělení titulu Ph.D.



V Brně 16.6.2010

RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.