

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Ing. Jiřího Nermutě
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

„Komplexní charakteristika hlístice *Phasmarhabditis hermaphrodita*“

Oponent

Ing. Rostislav Zemek, CSc.
Biologické centrum AV ČR, v.v.i., České Budějovice

Předložená doktorská disertační práce Ing. Nermutě se věnuje výzkumu druhu dosud málo poznaného parazitického hlísta z čeledi Rhabditidae. I když se autor v experimentální práci věnoval převážně laboratorním pokusům charakteru základního výzkumu, mají získané výsledky značný aplikační potenciál. Uvedený druh hlístice totiž nachází uplatnění v biologické ochraně rostlin, zejména proti plžům, kteří jsou závažnými škůdci ovoce, zeleniny a okrasných rostlin pěstovaných jak v polních tak skleníkových či zahradních kulturách. Dosavadní způsoby regulace plžů byly založeny jen na metodách využívajících požerové návnady v podobě granulí obsahujících chemické látky, které jsou silně jedovaté pro necílové organizmy. Cílem práce je studium ekologie hlístice, které je definováno do čtyř samostatných podtémat:

1. Způsob orientace hlístice v prostředí a reakce na přítomnost různých potenciálních hostitelů či živných substrátů.
2. Vliv různých živných substrátů na kvantitu a kvalitu potomstva.
3. Vnitrodruhová konkurence.
4. Perzistence hlístice v různých typech prostředí.

Disertační práce tak rozšiřuje dosud známé poznatky o životě *P. hermaphrodita*, které nepochybně přispějí k lepšímu praktickému využití tohoto druhu bioagens v ochraně rostlin.

Vlastní práce je napsána způsobem, který se podstatně odlišuje od běžného způsobu členění disertačních prací, předkládaných na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Autor zvolil úspornou formu, kdy kombinuje česky psanou úvodní část, která má pouze 38 číslovaných stran s přílohami, kde jsou kopie článků autora v podobě buď již vyšlých publikací nebo rukopisů zaslaných do redakcí časopisů, kopie populárních článků, abstraktů a příspěvků ve sbornících a náhledů posterů prezentovaných na konferencích. Tuto formu disertační práce hodnotím jako velmi vhodnou, protože doktorand by se měl snažit své výsledky prezentovat nejlépe jejich publikováním v recenzovaných mezinárodních časopisech. Sama skutečnost, že dvě z výše uvedených řešených podtémat již byly opublikovány v impaktových časopisech (IF=0.47 a IF=2.00) je známkou, že se jedná o velmi kvalitní disertační práci, jejíž výsledky byly uznány zahraničními recenzenty.

Česky psaná úvodní kapitola disertace je tvořena z převážné části literární rešerší, kde je uveden přehled dosavadních poznatků o studovaném druhu hlístice od jeho historie, přes systematické zařazení, morfologickou charakteristiku, ekologii až po jeho využití v ochraně rostlin. Velmi zajímavá jen např. část o obranných reakcích a chování napadených plžů, která dokumentuje důležitost základního výzkumu i v této oblasti. K úvodní kapitole mám pouze následující poznámky:

1. Podkapitola 2.7. by bylo vhodnější zařadit hned na úvod literární rešerše, protože se týká více škůdců než hlístic a čtenář se dovídá poprvé o *P. hermaphrodita* jako perspektivním bioagens.

2. Na tabulku č. 1 na str. 4 není odkaz v textu ani není uveden literární zdroj, ze kterého byly morfometrické údaje získány. Nejedná se o vlastní měření autora? I v takovém případě by měla být u údajů napsána citace (nebo uvedeno např. "Nermut, unpublished").
3. Podkapitoly 2.7., 2.9. a 2.10. by bylo více logické umístit pod společný název "Uplatnění v ochraně rostlin". Není nutné opakovat druhový název hlístice, protože ten je titulem celého literárního přehledu (kapitola 2).

Kapitola "Experimentální část a výsledky" má pouze tři strany a obsahuje 4 podkapitoly, kdy každá je věnována jednomu ze čtyř samostatných podtémat uvedených v předcházející kapitole "Cíle práce". Výsledková část je vždy v podobě citace článku autora a českého abstraktu. Tato úsporná forma je dle mého názoru dostatečná, neboť v kapitole "Přílohy" jsou kopie již opublikovaných článků nebo finální verze rukopisů. Pouze by bylo vhodné čtenáře na tuto skutečnost upozornit a odkázat vždy na stranu, kde čtenář nalezne začátek plného článku. V takovém případě by samozřejmě bylo potřeba dodatečně očíslovat strany všech příloh. Protože je polovina výsledků již opublikována ve velmi kvalitních časopisech a druhá polovina byla v době sepsání disertační práce v recenzním řízení, považují za zbytečné zde hodnotit dílčí výsledky disertace, neboť odborné hodnocení několika zahraničními recenzenty již proběhlo či právě probíhá.

Kapitola 5 je nadepsána "Závěr" a ve 13 bodech rozdělených podle studovaných podoblastí (tj. dílčích publikací a rukopisů) shrnuje hlavní zjištění, ke kterým autor dospěl. Vhodnější by proto bylo kapitolu nazvat v množném čísle, tedy "Závěry". Na těchto 13 bodů však nepochopitelně navazuje jedna stránka textu (str. 24), kde autor mimo jiné odkazuje citacemi na výsledky jiných autorů. Nepochybně by se tato část měla nazývat "Diskuze" a měla by předcházet kapitole "Závěry".

Kapitola 6 shrnuje celou disertační práci a je dvojjazyčná. Anglický název "Summary" není proto úplně výstižný, měl by být jen u anglického textu, zatímco česká část by měla být uvedena názvem "Souhrn".

Seznam použité literatury (kapitola 7) odpovídá standardnímu způsobu referencí v biologických vědních oborech. Převážná většina citovaných prací jsou publikace v angličtině publikované v zahraničních časopisech. Žádné významné práce nebyly opomenuty.

Kapitola 8 uvádí přehled všech dosavadních publikací autora disertační práce. Celkem 14 položek svědčí o vysoké publikační aktivitě autora. Kromě publikací a posterů autor také prezentoval své výsledky formou přednášek na zahraničních konferencích.

Dotaz

Autor píše, že samci nejsou u *P. hermaphrodita* popsáni. Lze na základě poznatků o příbuzných druzích předpokládat nebo zcela vyloučit jejich existenci? Jaké jsou evoluční mechanismy vedoucí k eliminaci samčího pohlaví?

Závěr

Jedná se o velmi kvalitní doktorskou disertační práci, která přináší řadu originálních dat o významném bioagens proti škodlivým plžům. Autor zvládl náročné téma jak po stránce experimentální tak i způsobem zpracování a interpretace výsledků. Věřím, že se pro svoji velmi dobrou úroveň stane vzorem pro další studenty doktorského studijního programu. Závěrem mohu konstatovat, že disertační práce Ing. Jiřího Nermutě 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“ (Ph.D.).

V Českých Budějovicích, 3. října 2012

Ing. Rostislav Zemek, CSc.



Oponentský posudek na disertační práci

Název práce: Komplexní charakteristika hlístice *Phasmarhabditis hermaphrodita*.

Autor: Ing. Jiří Nermut

Oponent: RNDr. Ladislav Háněl, CSc.

Formální stránka práce:

Studie má jednu ze možných forem předkládaní disertačních prací. Její nosnou částí jsou dva články publikované v mezinárodních časopisech a dva rukopisy zaslané do tisku. V úvodu jsou stručně shrnuty dosud známé poznatky o *Phasmarhabditis hermaphrodita* s hlavním zaměřením na biologii, ekologii a aplikaci v biologické ochraně rostlin proti plžům. Součástí práce jsou také další přílohy o svědčící o činnorodé vědecké aktivitě autora. Práce je přehledně členěna a napsána dobrou odbornou češtinou.

Věcné stránka práce:

Podrobně provedené laboratorní studie přinesly kvalitní výsledky, které výrazně prohlubují poznatky o hlístici *P. hermaphrodita*. Bylo prokázáno, že hlístice je schopná rozmnožování na různých organických substrátech a využívat různé druhy asociovaných bakterií, kterými se živí. Tím byly dále potvrzeny poznatky o tom, že tato hlístice je fakultativním parazitem plžů a saprobiontem. Produkce potomstva se ale u jednotlivých kmenů (linií) liší a je závislá na kvalitě živného substrátu, druzích asociovaných bakterií a také na počátečních populačních hustotách invazních larev na jednotku živného substrátu. Invazní larvy *P. hermaphrodita* jsou schopné velmi dobře detekovat zdroj potravy. Nicméně následné pohybové reakce se liší v závislosti na zdroji, který čichové podněty vydává a na prostředí, ve kterém se hlístice pohybuje. Tyto poznatky byly uplatněny pro sestavení speciálních pastí, které byly následně použity při testování schopnosti hlístic přežít v různých půdních substrátech. Bylo zjištěno, že hlístice je schopná přežít v laboratorním nádobovém pokusu až 8 měsíců, nejlépe v zahradnickém substrátu a středně těžké půdě. Minimálně 5 měsíců byla schopná přežít ve vlhkém písku, tedy v substrátu s velmi omezenými zdroji potravy, ve kterém se dokáže velmi aktivně pohybovat.

Z výsledků tedy vyplývá, že ačkoliv je hlístice *P. hermaphrodita* spíše fakultativním parazitem plžů a schopná zabít poměrně omezené spektrum druhů, má dobrou schopnost přežít v půdních substrátech na alternativních zdrojích potravy. Přežívá i v minerálním substrátu, ve kterém je schopná zjistit a dosáhnout potenciálního hostitele. Tyto poznatky mohou dále napomoci ke zdokonalení metod její aplikace při biologické kontrole plžů.

Oponentní poznámky k práci:

- Název „Komplexní charakteristika hlístice *Phasmarhabditis hermaphrodita*“ je poněkud nadnesený. V hodnější a výstižnější by byl např. „Biologie a ekologie hlístice *Phasmarhabditis hermaphrodita*“, neboť o tom laboratorní studie skutečně pojednávají. Pro srovnání, o *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1899) byly napsány stovky článků a obsáhlé monografie, a stále je co objevovat.

- V úvodu i dále se píše o hlístech. Český název skupiny Nematoda (dnes vcelku jednoznačně uznávaný živočišný kmen, ne třída – str. 7) je hlístice. Ostatně je tak psáno i v názvu

disertace. Název hlísti se dnes obvykle používá pro parazity obratlovců bez bližšího taxonomického rozlišení. Josef Kratochvíl a Emanuel Bartoš, a spolupracovníci, (1954) Soustava a jména živočichů použili název hlístové pro tehdejší kmen Nematelminthes s třídami hlístice (Nematoda), strunovci (Nematomorpha) a vrtejši (Acanthocephala).

- V názvu druhu se mezi jménem popisujícího autora a rokem popisu píše čárka a obojí je v závorkách, pokud byl druh prvotně zařazen do jiného rodu – tedy *Pelodytes hermaphroditus* A. Schneider, 1859 a *Rhabditis caussaneli* Maupas, 1899. Pokud International Commission on Zoological Nomenclature nevydala nová doporučení.

- S rodem *Phasmarhabditis* Andrassy, 1976 je to složitější než autor píše na str. 2. Walter Sudhaus (2011) Journal of Nematode Morphology and Systematics 14, 113-178 přesunul *Phasmarhabditis hermaphrodita* do rodu *Pellioiditis* Dougherty, 1953, tedy *Pellioiditis hermaphrodita* (A. Schneider, 1859). Rod *Phasmarhabditis* Andrassy, 1976 považuje za synonymum *Pellioiditis*. Totéž platí pro *P. neopapillosa* (Mengert in Osche, 1952) a *P. papillosa* (A. Schneider, 1866), přesunuty do *Pellioiditis*. Naproti tomu *Phasmarhabditis nidrosiensis* (Allgén, 1933) a *P. valida* (Sudhaus, 1974) byly přesunuty do nového rodu *Buetschlinema* Sudhaus, 2011.

István Andrassy (2005) Free-living nematodes of Hungary (Nematoda errantia) Volume I uvádí ještě jako validní *Phasmarhabditis mairei* (Maupas, 1919). Sudhaus (2011) tento druh opět vrátil do *Pellioiditis*, kde ho také uváděl Andrassy (1984) Klasse Nematoda, ovšem jako „species inquirenda“.

Zda se nová systematika čeledi Rhabditidae s.l. ujme je otázkou dalších let. Systematické zařazení *P. hermaphrodita* komplikuje absence samců ve většině populací. Není tomu ale tak, jak píše autor disertace na str. 3, že „samci nejsou u tohoto druhu popsáni“. Andrassy (1984) uvádí, že u *P. hermaphrodita* jsou samci vzácní, udává délku spikul 72 μm a klade si otázku, zda je tento druh opravdu odlišný od *P. neopapillosa*. Walter Sudhaus (1976) Zoologica 43, 1-229 podává na str. 46 vyobrazení samce, ale pod jménem *Rhabditis (Pellioiditis) hermaphrodita* (Schneider, 1859). Uspořádání tyčinkovitých papil bursy je ale poněkud jiné, než vyobrazují a diskutují Hooper D.J. et. al. (1999) Nematology 1, 173-182 pro *P. neopapillosa*.

Je tedy možné, že to, co se dnes studuje jako *Phasmarhabditis hermaphrodita*, je ve skutečnosti komplex automiktických druhů, které se liší více biologicky než morfologicky a v jiných genech, než jsou rutinně testovány. Tomu by napovídaly variace životních cyklů i nejednoznačnost výsledků při využití hlístice pro biologickou kontrolu plžů.

V práci úzce specializované na tento druh by proto bylo vhodné sledovat taxonomickou literaturu v širším záběru než je tomu v disertaci, neboť i to je součástí komplexního poznání této hlístice. Také proto, že v těchto studiích lze nalézt zajímavé údaje o biologii a ekologii.

- Tabulka 1. K čemu se vztahuje \pm (směrodatná odchylka, směrodatná chyba průměru, interval spolehlivosti)?

- Strana 15. Zkoušel jste separaci dospělců od larev pomocí sít a pokud ano, tak s jakým výsledkem?

- Strana 21. Nejsm si jist, zda je zde vhodné jednoznačně psát o vlivu vnitrodruhové konkurence. Spíše bych souhlasil s první větou diskuse, řádky 145-146 rukopisu článku: The present study clearly demonstrates the effect of density on ... etc. (nebo přesněji: the effect of the initial inculum density on ...; i pro název studie).

Pokud je na stejné množství potravy více larev pak je pokles velikosti a zásob lipidů u dospělých samic nejspíše prostým důsledkem menšího množství potravy na jedince v homogenním prostředí. To ostatně autoři diskutují na řádcích 160-167 i jinde. U nejvyšší dávky počátečního inokula nelze vyloučit vliv feromonů, které mohou blokovat další vývoj larev, podobně jako u *Caenorhabditis elegans* (viz např. Golden J.W. & Riddle D.L. (1984) *Journal of Chemical Ecology* 10, 1265-1280). Pak by šlo spíše o vnitrodruhovou spolupráci než konkurenci.

Navíc šlo o kmen (populaci) z jednoho mrtvého plzáka, tedy o případnou vnitropopulační konkurenci. Je otázkou, jak by se hlístice vyvíjely, kdyby jeden substrát byl současně inokulován larvami z vícero (reprodukčně) izolovaných populací – možný námět pro další experimentální studie. Ať tak či onak, s termínem „konkurence“ v biologii je lépe zacházet s rozvahou.

Závěr:

Nehledě na části zmíněné v poznámkách a případně některé další drobnější nedostatky mohu konstatovat, že autor dospěl ke kvalitním výsledkům a disertační práce splňuje náležitosti být podkladem k udělení vědecké hodnosti Ph.D.

V Českých Budějovicích
25.9. 2012



RNDr. Ladislav Háněl, CSc.
Ústav půdní biologie
Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
České Budějovice

OPONENTNÍ POSUDEK

na

DISERTAČNÍ PRÁCI

autor: Ing. Jiří Nermut'

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

TÉMA PRÁCE – KOMPLEXNÍ CHARAKTERISTIKA HLÍSTICE *PHASMARHABDITIS* *HERMAPHRODITA*

Předkládaná disertační práce se zabývá celkovou charakteristikou hlístice *Phasmarhabditis hermafrodita*, která je v České republice jedním z registrovaných bioagens používaných v ochraně rostlin. Podrobně je zkoumán zejména způsob orientace v prostředí, reakce na přítomnost různých atraktantů (hostitelů a substrátů) a jejich vliv na rozvoj populace, reprodukční úspěch a perzistenci hlístice v prostředí. Studován je rovněž vliv vnitrodruhové konkurence na vývoj a kvalitu *P. hermaphrodita*. Práce má 124 stran textu včetně obrázků, tabulek a grafů. Součástí práce je také 81 stran příloh, které obsahují jednak práce použité ve vlastní disertační práci, atypickou součástí příloh jsou pak odborné a populární články a konferenční příspěvky autora.

Disertační práce je souborem čtyř publikovaných (2x) a předložených (2x) studií v zahraničních impaktovaných časopisech, z toho 1x s faktorem vyšším než 2.0.

Ve své disertaci předkladatel uvádí morfologickou a morfometrickou charakteristiku rodu *Phasmarhabditis* a dále samic a invazních larev zájmového druhu *Phasmarhabditis hermafrodita*. Zmíněna je také nezbytná molekulárně biologická charakteristika. Dále jsou popsány možné vývojové cykly, způsob života včetně hostitelského spektra a symbiotických bakterií. Uvedeno je také využití této hlístice v biologickém boji včetně její produkce, metod aplikace a jejich účinnosti. Stěžejním tématem předložené práce je studium orientace a pohybu v prostředí v závislosti na přítomnosti různých atraktantů, kdy je prokázána dobrá schopnost detekce hostitele. Dále byla prokázána výrazně vyšší produkce potomstva na živočišných substrátech než na rostlinných. Zároveň je potvrzen vliv vnitrodruhové konkurence na produkci potomstva a rozvoj populace. A za použití nově vyvinuté metody

(pasti) studována perzistence této hlístice v prostředí a zjištěna dobrá schopnost přežívání této hlístice v zahradnických substrátech. To vše podporuje vhodnost využívání tohoto fakultativně parazitického druhu hlístice jako bioagens pro ochranu rostlin před škodlivými plži. Práce tedy poskytuje ucelený pohled na biologii a ekologii hlístice *P. hermafrodita* a zároveň nastiňuje možnosti jejího dalšího využití.

Otázky a připomínky

1. V textu se objevují některé neobratné formulace a opakování slov a někdy i myšlenek ve větách za sebou. Takže se tyto věty zdají být duplicitní...věty o žížale obecné na str. 10 nebo str. 13 o slimáčkovi. Objevují se gramatické chyby.
2. V celém textu střídavě používání celého názvu *Phasmarhabditis hermafrodita* a zkrácené verze *P. hermafrodita*.
3. Nemají být popisy tabulek nad tabulkou?
4. Nestejné mezery mezi nadpisem a odstavcem, např. str. 13.
5. Chybí autoři popisů některých druhů na str. 14...nebo se toto u bakterií nepoužívá?
6. Značení gramnegativní bakterie je G- ne uváděné g-.
7. Nestejný formát sekundárních citací str. 2 a 6.
8. Přílohová část působí dosti nesourodě až zmatečně. Proč autor přistoupil k neobvyklému zařazení konferenčních příspěvků i formou posteru?
9. Zmíněná je slibná možnost kombinace chemické ochrany a použití hlístic (str. 17) v integrované ochraně. Vyplatí se takováto kombinovaná ochrana ve smyslu vynaložených nákladů?
10. Jsou některé jiné druhy hlístic aktuálně využívány v boji proti slimáku největšímu, plzáku zahradnímu a hnědému, kteří jsou uváděni jako problematické a škodlivé druhy, které nejsou citlivé k *Phasmarhabditis hermafrodita*? V této souvislosti je zmíněný potenciál hlístice *Alloinema appendiculatum*. Jaký je současný stav znalostí (popř. výzkumu) o praktickém využití tohoto druhu?

Celkové hodnocení

Dojem z předkládané práce je v důsledku lehce nesourodě až zmatečné přílohové části mírně rozpačitý. Cíle práce jsou ale naplněny, práce přinesla nové poznatky o tomto druhu hlístice a potvrzuje jeho vhodnost pro využití v biologickém boji. V rámci práce byla dokonce vyvinuta nová metoda sběru hlístic ze substrátu, což je jednoznačným přínosem. O

přínosnosti studované problematiky rovněž svědčí i publikace v zahraničních impaktovaných časopisech.

Předložená disertační práce splňuje podmínky pro konání obhajoby a práci doporučuji k obhajobě.



vypracoval doc. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

3.10. 2012