

Oponentský posudek na disertační práci

„Vývoj formulací biomasy mitosporických hub cílené na využití v programech biointenzivní integrované ochrany rostlin“

Autor práce: Ing. Jana Šimková

Vedoucí práce: Prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.

Oponent: RNDr. Alena Nováková, CSc.

Disertační práce má rozsah 149 stran jednoduchého řádkování a 11 stran fotografických příloh, je velice přehledně členěna na jednotlivé kapitoly a podkapitoly a vhodně doplněna tabulkami, fotografiemi a grafy. Formální stránka práce je víceméně na velice dobré úrovni a obsahuje jen velice málo překlepů nebo jiných neopravených chyb. Autorka prokázala schopnost samostatné laboratorní práce – a to jak naplánovat velké množství laboratorních testů v průběhu celého roku, tak jejich uskutečnění a vyhodnocení, ale i schopnost orientovat se ve studované problematice. Literární přehled i seznam použité literatury ukazují na množství prostudované literatury. Metodika práce je jasně a přehledně popsána. Největší část práce - co se týká počtu stran - je experimentální část, popisující výsledky všech uskutečněných testů a jejich vyhodnocení včetně statistických metod. Navazující diskuse přináší další literární poznatky k řešené problematice a jejich porovnání s vlastními autorčinými výsledky.

Modelovým organismem byla zvolena entomopatogenní houba *Beauveria bassiana* ve formě několika kmenů získaných z různých míst včetně lokálního kmenu. Cíl práce i čtyři hypotézy práce jsou v práci přesně definovány a získané výsledky ukazují splnění všech předsevzatých dílčích cílů. Problematika využívání entomopatogenních hub v ochraně rostlin je stále aktuální a předložená práce ukázala, jakým způsobem mohou být formulace spor během přípravy i skladování ovlivňovány různými faktory, které postupy jsou pro použití entomopatogenních hub v ochraně rostlin nejvhodnější z hlediska vitality a virulence houby *B. bassiana*. Použité postupy byly souběžně použity i pro další druhy entomopatogenních hub.

K práci mám tyto připomínky:

- V práci jsem zaznamenala nejednotnost v používání některých pojmů z pravopisného hlediska – např. mikroorganismus x mikroorganizmus, mechanismus x mechanismus, stádium x stadium. V českém pravopisu je v současné době značná benevolence vzhledem k možnému užívání obou přípustných tvarů, tedy je povoleno používat jak tvaru se „s“, tak i se „z“. Navíc jsou v současné době platná jak Pravidla českého pravopisu, tak Slovník spisovné češtiny, bohužel v každé z těchto příruček jsou odlišné názory na základní tvar slov, co se týká použití „s“ nebo „z“. přesto je nezbytné vybrat si jeden z možných způsobů vyjadřování a tím se řídit v celé práci - není možné použít na jedné straně v jedné větě tvar se „s“ a v další větě (odstavci, ale i v dalším textu) stejné slovo se „z“. Pokud se rozhodneme např. pro progresivní pravopis, musíme se ho držet ve všech případech a používat ho důsledně a také správně – to znamená např. u názvů chemických sloučenin musíme psát glukóza, sacharóza, krátké tvary (glukoza) jsou nepřipustné (obdobně anastomoza x anastomóza, str. 32 – „infuse“ a vzápětí dextróza). Doporučovala bych autorce věnovat v tomto směru při psaní českých textů více pozornosti, stejně tak

jako interpunkci – v některých případech jako např. na str. 31 ve výčtu substrátů a na str. 33 ve výčtu olejů, ale i v mnoha souvětích chybí čárky oddělující jednotlivé pojmy, respektive věty.

- Dalším prohřeškem oproti pravidlům českého pravopisu je nevhodné psaní jednotek jako např. °C, %, g, ml atd. – podle pravidel za číslem následuje vždy mezera a potom daná jednotka (např. 20 °C, 5 ml, 35 %). Psaní jednotky bez mezery přímo za číslem se používá pro vyjádření přídavného jména, např. 100ml = 100mililitrová, v textu podle kontextu má být správně 100 ml, obdobně je v práci použito nevhodně „5ml“, „0,05%“, „500ot/min.“, 45,67mm atd. a naopak „14 denní kultivace“ – správně „14denní kultivace“, „30 denní interval“ – správně „30denní interval“. Rovněž při psaní koncentrací se užívá „5,0 x 10⁸“ místo „5,0x 10⁸“.
- další drobné nesrovnalosti v textu: autorka používá „na rozdíl“ místo správného tvaru „na rozdíl“, na str. 22 je neúplná 1. věta (vypadlo v textu sloveso?)

- to vše představuje jakési „kosmetické“ nedostatky textu. Mnohem závažnější jsou chyby v mykologické terminologii a systematice hub (kap. 2.4. a 2.6.):

- str. 7, 1. odst. – ve výkladu existence pohlavní a nepohlavní formy (anamorfního a teleomorfního stadia) postrádám zmínku o tom, že houba, u které jsou známy obě formy, je označována jako holomorfa
- v kap. 2.6.1. Taxonomické zařazení rodu *Beauveria* do systému: autorka uvádí údaje ze starších prací - tj. které druhy která z prací uvádí – zde mi chybí komentář k současnému pojetí druhů v rámci tohoto rodu (které jsou platné, které druhy jsou považovány za synonyma, případně byly převedeny do jiného rodu jako např. *B. alba* dnes figuruje pod jménem *Engyodontium album*).
- V tabulce taxonomického zařazení je chybně v řazení podle teleomorfy psán rod *Beauveria* – zde je třeba uvést rod *Cordyceps* s anamorfním stadiem rodu *Beauveria* – jak to ostatně Sung et al. ve své práci uvádějí.
- na str. 13 autorka uvádí nejvýznamnější zástupce tohoto rodu - *B. bassiana*, *B. brongniartii* a *B. tenella*, posledně jmenovaný druh je však považován za synonymum *B. bassiana*. Autorka nezmiňuje žádné nově popsané a uznávané druhy tohoto rodu (např. *B. caledonica*). Přehled platných druhů je uváděn v databázi Mycobank.
- charakteristika *B. bassiana* – zde je nejvíce nesrovnalostí: „...konidie jsou v cik-cak postavení na konidioforu“ – u rodu *Beauveria* neexistují konidiofory, pouze konidiogenní buňky, konidie se vytvářejí na cik-cak útvaru označovaném jako „rachis“ – obdobně špatně napsáno i pod fotografií – zde rovněž není konidiofor, ale rachis s konidii. Další nesrovnalost – zde bohužel autorkou opět zřejmě převzata z jiného zdroje – je informace, že „konidiogenní buňky jsou seskupeny do sporodochií nebo synnemat“, což je samozřejmě nesmysl, protože tento rod ani synnemata, ani sporodochia nevytváří – doporučuji pro příště používat osvědčené zdroje jako je databáze Mycobank.
- U *Metarhizium anisopliae* autorka píše, že „konidiogenní buňky tvoří husté hymenium“ – zřejmě opět převzata? V tomto případě není možné použít tento termín, který je vymezen

pouze pro „fruiting surface of an ascocarp or a basidiocarp“ – tedy pro výtrusorodou vrstvu v plodnicích askomycetů a basidiomycetů, ne pro mitosporické houby.

- Další nesrovnalosti jsou v dalším odstavci – autorka uvádí jako další entomopatogenní houbu *Lecanicillium lecanii*, která byla dříve uváděna pod jménem *Verticillium lecanii*. Zde došlo k záměně druhového jména – v novém taxonomickém pojetí rodu *Verticillium* byly některé druhy převedeny do rodu *Lecanicillium*, *V. lecanii* pod jménem *L. muscarium* (výskyt v Evropě), *L. lecanii* byl vymezen pro druh vyskytující se v Africe. Autorka dále chybně uvádí, že „na vzdušném myceliu se vytvářejí dlouhé úzké lahvicovité konidiofory“ a že „na konci hyf může být přeslen tvořen i více konidiofory“ – to je nesmysl, lahvicovité jsou konidiogenní buňky, fialidy – které jsou přeslenovitě uspořádány na konidioforu.

Přes tyto nesrovnalosti považuji tuto disertační práci za velice zdařilou, a to zvláště vzhledem k velkému množství uskutečněných a vyhodnocených testů a prokázané znalosti literatury vážící se ke studované problematice a jejímu porovnání se získanými výsledky, a doporučuji ji k obhajobě. Závěrem bych měla k autorce prosbu, zda by nám na základě zkušeností s laboratorními testy mohla nastínit přehled toho, jak by se mělo postupovat při nutnosti použít v biologické ochraně rostlin zcela nový biopreparát na bázi entomopatogenní houby – tedy co vše je potřeba a v jakém sledu uskutečnit, aby mohl být preparát nově použit např. na území regionu, státu apod., čeho se vyvarovat a co není možné v žádném případě opomenout, takový vlastní přehledný návod na přípravu a zavedení nového preparátu.

České Budějovice 15. č. 2011



RNDr. Alena Nováková, Csc.

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci k získání akademického titulu "Doktor"

Autorka: Ing. Jana Šimková

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

ZF JU v Českých Budějovicích

Název práce: *Vývoj formulací biomasy mitosporických hub cílené na využití v programech biointenzivní integrované ochrany rostlin*

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.

Katedra rostlinné výroby a agroekologie

ZF JU v Českých Budějovicích

Oponent: doc. Ing. Bohumila Voženílková, CSc.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,

Zemědělská fakulta

Doktorská disertační práce Ing. Jany Šimkové je zaměřena na velmi zajímavou a aktuální problematiku současné ochrany rostlin, metody biologické ochrany rostlin. Hlavním cílem práce bylo předložení metodického postupu pro vytvoření modelu využívajícího původní kmeny entomopatogenních hub a možnosti ovlivnit jejich schopnost růstu a produkce v umělých systémech i přirozeném prostředí.

Disertační práce je zpracována klasickým způsobem, nejedná se o soubor separátů vlastních původních vědeckých prací. Práce má rozsah 148 stran včetně citované literatury, text doplňuje 97 tabulek, 45 grafů a jeden obrázek. V práci je předložena velice zdařilá fotodokumentace, škoda, že není uveden autor těchto snímků.

Název práce

Z názvu práce je sice zřejmé, že je zaměřena na problematiku biologické ochrany rostlin, ale není z něj patrné jakou konkrétní problematiku autorka řeší. Název je příliš obecný a velmi málo říkající o vlastním zaměření disertačního spisu.

Disertační práce Ing. Jany Šimkové je velice rozsáhlá a je v ní shrnuto obrovské množství dat, jejichž získání bezesporu představovalo velké pracovní úsilí a nasazení. Z práce však není zřejmé, zda některé dílčí výsledky byly již publikovány ve vědeckém tisku, případně formou konferenčních sdělení?

Pozitivní je spolupráce autorky na úkolech v rámci řešení grantů (MSM 6007665806, IG 10/08 - Vývoj formulací biopreparátu na bázi mitosporické houby *Beauveria bassiana* a IG 10/09 - Formulace biopreparátů na bázi mitosporických hub), kdy je rozvinuta motivace řešení a tím je zajištěna i vysoká využitelnost a snaha po pokračování v řešení výzkumného problému.

V seznamu použité literatury je uvedeno celkem 220 citací. Jedná se o přehled jednak dříve publikované, ale i recentní literatury. Z hlediska rozsahu považuji tento přehled za dostatečný. Bohužel se v něm objevují i některé nedostatky. Vysvětlete a popište charakteristiku houby *B. bassiana*.

Připomínky, poznámky, dotazy

- V textové části práce jsou uvedeny citace autorů, které chybí v „**Seznamu použité literatury**“ a to:
 - s. 2 „**Stern et al. již v roce 1959**“
 - s. 6 „**Hall, Menn 1999**“
 - s. 12 „**MacLeod v roce 1954**“
 - s. 12 „**De Hoog v roce 1972**“
 - s. 21 „**Wraight 2007**“
 - s. 114 **Alves 1998**“
- Další chybné autorské citace jsem označila v textu práce na s. **6, 117, 118 a 143.**
- V „**Seznamu použité literatury**“ jsou citace, které nejsou uvedeny v textové části a které jsem označila a to na s: **131, 133, 135, 137, 140, 142, 144, 147.**
- Na s. 16 a 24 **in vitro** se píše *in vitro*.
- V práci místo **et al.** je správně *et al.*
- Na s. 20 autorka cituje práci autorů (Luz, Batagin 2005), kdy již přímá aplikace konidií ve formulaci oleje s vodou na hmyz, indukuje významnou mortalitu mezi larvami třetího instaru *Triatoma infestans*. O jakou biologickou metodu se jedná?
- Na s. 21 můžete vysvětlit proč již nejsou na trhu v ČR biopreparáty na bázi houby *B. bassiana* – **Boverol** a **Boverosil**?

- Na s. 24 vysvětlíte blíže lokální kmen **Bba 1101 původem z Floridy**, který jste používala v biotestech.
- Proč byly larvy potměníka moučného (*Tenebrio molitor* Linnaeus) vybírány pro biotesty (s. 25) **podle velikosti** a ne podle **instaru**?
- Na s. 27 kolik larev potměníka moučného jste celkem sledovala v jednotlivých variantách a nedošlo k mortalitě larev při povrchovém ošetření - 1% roztok přípravku Savo?
- Na s. 28 chybí odkaz na obr. 1 a dále v textu předložené práce postrádám odkazy na další tabulky a grafy.
- Mám připomínku k výrazu „obilnin“ na s. 31, kde se zřejmě jedná o „obiloviny“, kdy tento termín spojujeme častěji s produktem, surovinou pro další, především potravinářské účely.
- Na s. 31, 39 a 40 místo **14 denní** správně **14denní**.
- Popište podrobněji varianty, které jste sledovala na s. 31 v laboratorních podmínkách.
- Na s. 38 v tabulce č. 2 není uvedena kontrola na rozdíl od tabulky č. 3. Uveďte o jakou kontrolní variantu se jedná.

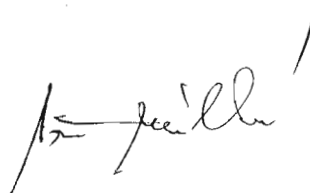
Celkové shrnutí

Ing. Jana Šimková zpracovala zadané téma disertační práce zodpovědně, prokázala i schopnost zobecnit a interpretovat výsledky.

Podle mého názoru vyhovuje doktorská disertační práce požadavkům na kvalitní vědeckou publikaci, autorka prokázala schopnost samostatného vědeckého myšlení a proto doporučuji oborové radě, aby byl po úspěšné obhajobě práce, autorce udělen akademický titul

„Doktor“

V Českých Budějovicích, 18. 4. 2011



DISERTAČNÍ PRÁCE - autor: Ing. Jana Šimková

Jihočeská Universita, Zemědělská fakulta, katedra rostlinné výroby a agroekologie, České Budějovice

TÉMA PRÁCE - VÝVOJ FORMULACÍ BIOMASY MITOSPORICKÝCH HUB CÍLENÉ NA VYUŽITÍ V PROGRAMECH BIOINTENZIVNÍ INTEGROVANÉ OCHRANY ROSTLIN

Předkládaná disertační práce se zabývá možnostmi rychlé, levné a jednoduché manipulace se sporami lokálních kmenů entomopatogenních hub, jmenovitě s druhem *Beauveria bassiana*. Tento výzkum měl vést k propracování produkce spor, porovnání vitality a virulence, přisaplikační přípravu postřikové jichy a sledování některých kvantitativních a kvalitativních parametrů. Cíl práce je aktuální se zaměřením pro zemědělskou praxi a je zřetelně formulován. Práce má 148 stran textu, včetně obrázků, tabulek a grafů. Součástí práce je také 11 stran obrazových příloh.

Literární přehled

Literární podklady jsou podrobně zpracovány a svědčí o autorčině zájmu a vztahu ke studovanému předmětu. Až na výjimky je citování autorů jednotné, avšak za vhodnější považuji oddělit jména autorů spojkou "a" nebo symbolem "&". Čárka je vhodná jen pokud je autorů více. Naopak mezi autory a rokem publikace by čárka měla být, stejně tak pokud je více autorů, pak za zkratkou *et al.*,

str.15 poslední odstavec. Houba *Lecanicillium* spp..... Jedná se o chybné vyjádření, kdy jednotné číslo "houba" pro jeden druh je spojeno se zkratkou spp. což znamená více druhů jednoho rodu.

Material a metodika

V této kapitole jsou popisovány standardní metody biotestů kultivace, produkce spor, formulace přípravků a skladování spor atd. Tyto metody jsou v laboratoři prof. Z. Landy dlouhodobě propracovávány a nemám k nim zvláštních připomínek.

Výsledky a diskuze

Tyto kapitoly představují nejdůležitější část disertace. Je zde velké množství tabulek a grafů (97 a 45), které poněkud znepráhledňují jednotlivé výsledky. Pro případné publikace bude rozhodně nutné tyto výsledky podstatně zjednodušit. Např. tabulka 6 a graf 6 zobrazují stejné výsledky pro několik kmenů *B. bassiana*. V grafu 7 jsou přidány hodnoty druhů *I. fumosorosea* kmen PFR 97 a *M. anisopliae* kmen F-52, jejichž hodnoty již byly zaznamenány také v tabulce 6. Podobný systém se vícekrát opakuje. Srovnání s výše uvedenými druhy poněkud vybočuje z cílů práce.

Otázkou je, proč pro výzkum nebyl vybrán druh *I. fumosorosea* kmen PFR 97, když měl ve srovnání s *B. bassiana* a *M. anisopliae* nejvyšší výtěžnost spor. Ve výsledkové kapitole se objevují fotografie, které nemají očíslování a tím také na ně nemůže být odkaz v textu. Celkově však práci odvedenou v těchto kapitolách považuji za velice přínosnou.

Celkové hodnocení

Dojem z předložené disertační práce je velice pozitivní. Autorka prokázala literární znalost v oboru, metodických postupů, zřetelně formulovala své výsledky, které rozhodně mohou být předloženy k publikaci v zahraničních vědeckých časopisech. Proporcionalita jednotlivých částí práce je přiměřená. Pro publikaci bude nutné diskuzi poněkud upravit tak, aby vždy jednotlivý výsledek byl porovnán v návaznosti s dosavadními poznatky. Tato drobná výtká nikterak nesnižuje hodnotu této pečlivě vypracované disertační práce a nemůže ovlivnit významněji celkový výsledek.

Předloženou disertační práci doporučuji k obhajobě.

vypracoval RNDr. Zdeněk Mráček, Dr.Sc.

19.4. 2011

Entomologický ústav AV ČR, České Budějovice

