

OPONENTNÍ POSUDEK
na
DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

autor: Ing. Aleš Skalický

Jihočeská Universita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Katedra rostlinné
výroby a agroekologie, České Budějovice

**TÉMA PRÁCE – MOŽNOSTI HODNOCENÍ ÚČINNOSTI ENTOMOPATOGENNÍCH HUB NA
VYBRANÉ CÍLOVÉ HOSTITELE**

Předkládaná disertační práce se zabývá hodnocením účinnosti některých entomopatogenních hub na vybrané hmyzí hostitele. Téma je velice aktuální vzhledem k tomu, že entomopatogenní houby představují významným prostředek biologického boje s hmyzími škůdci.

Cíle práce představovaly ověření univerzální uplatnitelnosti hodnocení vývoje nákazy entomopatogenními houbami na cílovém hmyzím hostiteli. Cíle byly rozděleny do pěti studií, kde se jednalo o testování účinnosti houbových izolátů, účinnosti morfologicky odlišných typů spor, účinnosti izolátů získaných z komerčních houbových biopreparátů, účinnosti izolátů *M. anisopliae* získaných z konvekčně obhospodařovaných zemědělských půd a konečně posouzení účinnosti izolátů houby *Isaria fumosorosea* pasážovaných přes některé živné substráty na larvy zavíječe voskového. Cíle považuji za jasně definované. Práce má 158 stran textu a 6 grafických listů v příloze. V textu je řada grafů a tabulek.

Literární přehled

Autor projevil kompletní znalost o integrované ochraně rostlin, životním cyklu hub i charakteristice vybraných druhů. Drobnou výtku mám ke psaní jmen houbových taxonů. Jméno druhu psané kurzívou je správné, ale nikdy se kurzívou nepíše jména autorů taxonů.

Výsledky a diskuze

Výsledky jsou zpracovány přehledně a autor zde navazuje na dlouholetý úspěšný výzkum laboratoře. Také kapitola „Diskuze“ přináší srovnání autorem dosažených výsledků s výsledky již dříve publikovanými. Na začátku jednotlivých studií jsou uváděny „Metodické

postupy“, ovšem pro „Materiál a Metodiku“ je vyhrazena samostatná kapitola?? Právě proto dochází k opakování. Např. tabulka 4.5 na str. 36 se opakuje jako tabulka 5.13 str. 112 atd. Více se zde nabízí několik otázek.

Hodnocení infekce musí autor v diskuzi vysvětlit. Např. ve „Studii 1 pro *B. bassiana*, graf 5.1 je zaznamenána mortalita hostitele způsobena izoláty, které současně vykazují pro hostitele nulovou infekci (např. NP 003 atd.). Na co hostitel uhynul, když infekce byla nulová?? Škoda, že autor nepoužil k testování některého významného lesního škůdce, když izoláty testovaných hub pochází z lesního ekosystému (např. některou z ploskohřbetek či pilatek). Pokud bude dále pokračovat ve výzkumné činnosti, je zde prostor se na tyto škůdce zaměřit.

U Studie 2 bych se zeptal, zda existuje nějaký praktický význam pro použití vymytých nebo nevymytých blastospor?

Studie 3 bez připomínek

Studie 4 bez připomínek, ale s otázkou, není zbytečné používat *M. anisopliae* s počáteční mortalitou až po 17 dnech, když u *B. bassiana* byla mortalita již za 4 dny (Studie 1). Co říkají literární prameny pro jiné hostitele? Proč nebyly testovány izoláty také z ekologicky obhospodařovaných půd?

Studie 5 bez připomínek

Seznam literatury

Je citován jednotně, nicméně je nutné upozornit na některé chyby, např. Rath AC, Guy PL, Webb WR (1955a) a Rath AC, Anderson GC, Worledge D, Koen TB (1955b) nepředstavují identický kolektiv autorů, takže nemohou být dále rozlišeny písměny a, b. Tuto chybu jsem zaznamenal ve více případech.

Celkové hodnocení

Dojem z předložené disertační práce je pozitivní. Autor jasně definoval a splnil cíle práce, prokázal literární znalost v oboru, použil vhodné metodické postupy a zřetelně formuloval své výsledky. Proporcionalita jednotlivých částí disertace je přiměřená. Publikace v impaktovaném časopise je sice jen jedna, ale v disertaci uvedené výsledky dávají předpoklad k dalším publikacím.

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

vypracoval RNDr. Zdeněk Mráček, DrSc.

17.6. 2014



OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce

Doktorand: Ing. Aleš Skalický
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Katedra rostlinné výroby a agroekologie

Téma doktorské disertační práce:

Možnosti hodnocení účinnosti entomopatogenních hub na vybrané cílové hostitele.

Rozsah disertační práce: 142 stran textu s 28 tabulkami a 50 grafy, 15 stran přehledu literatury se 202 citacemi, 10 stran příloh s 6 grafickými listy

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.
prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
Katedra rostlinné výroby a agroekologie
ZF JU v Českých Budějovicích

Oponent: doc. Ing. Ivan Mráz, CSc.
Biologické centrum AV ČR
Ústav molekulární biologie rostlin
Oddělení rostlinné virologie
České Budějovice

Hlavním cílem integrované ochrany rostlin (IOR), která v současné době představuje plnohodnotný prostředek proti negativnímu působení patogenů a škůdců, je optimalizace ochrany rostlin jak po stránce ekologické, tak i po stránce ekonomické. Cílem IOR není eradikace škodlivých organismů, ale snaha udržet jejich výskyt pod ekonomickým prahem škodlivosti.

Entomopatogenní houby jsou schopny tvořit nedílnou součást integrované ochrany rostlin, je však potřeba zajistit, aby byly využívány takovým způsobem, který zaručí dostatečnou účinnost tohoto agens. Je však nutné zdůraznit, že ať se využití entomopatogenních hub jako agens vhodného ke snížení populací škůdců v rámci integrované či biologické ochrany rostlin jeví všeobecně jako velmi vhodné řešení, tak jejich využití v blízké budoucnosti se bude nacházet pouze v určitých systémech pěstování rostlin. Využití jiných metod v rámci IOR, především pak použití pesticidů, bude i nadále sehrávat v souhrnném měřítku ochrany rostlin hlavní roli.

Je možné říci, že téma doktorské práce je aktuální a zasluhuje si zvýšené pozornosti již jen z toho důvodu, že jakákoli efektivní řešení včetně těch, která se týkají využití entomopatogenních hub v ochraně rostlin a která vedou ke snížení závislosti na pesticidech, jsou velkým přínosem a krokem k trvale udržitelnému zemědělství.

Přístup doktoranda k řešení problematiky doktorské disertační práce považuji za zodpovědný, erudovaný a systematický. Doktorand ve své práci dle mého názoru využil nadprůměrného počtu především zahraničních zdrojů odborné literatury, o čemž svědčí skutečnost, že v kapitole 9 SEZNAM LITERATURY je uvedeno celkem 202 citací z dané problematiky, a to jak odborných publikací, tak i článků v mezinárodních vědeckých časopisech. Zvolený postup řešení považuji za adekvátní rozsahu a významu práce.

Cílem doktorské práce bylo ověřit „univerzální“ uplatnitelnost hodnocení vývoje nákazy entomopatogenních hub na vybraném cílovém hostitelském druhu hmyzu za použití stupnice FDI. Tento hlavní cíl disertační práce byl následně ověřován v rámci pěti dílčích studií. Lze konstatovat, že vytčené cíle práce byly splněny a získané výsledky odpovídají cíli práce a postupu řešení. Výsledky jsou pečlivě zpracovány včetně matematického a statistického vyhodnocení a následně uvedeny v grafech a tabulkách.

Jednotlivé kapitoly (ÚVOD 1 strana, LITERÁRNÍ PŘEHLED 24 strany, CÍLE PRÁCE 2 strany, MATERIÁL A METODIKA 10 stran, EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST (včetně metodických postupů a výsledků vztahujících se k jednotlivým (5) studiím 81 stran, DISKUSE 13 stran, ZÁVĚR 3 strany, SUMMARY 3 strany, SEZNAM LITERATURY 15 stran se 202 citacemi, PŘÍLOHY 10 stran se šesti grafickými listy) na sebe logicky navazují a jsou většinou dobře proporcionálně zastoupeny. Pozitivní na posuzované disertaci je fakt, že převažuje originální část (celkem 138 stran) nad částí kompilační (25 stran).

V disertační práci je vhodně použito desetinného členění jednotlivých kapitol. Práce se vyznačuje vysokou kulturou psaného projevu a je psána jasným a srozumitelným jazykem. Úroveň práce zvyšuje zařazení 28 většinou přehledných tabulek a 50 zdařilých grafů přímo v textu. Velmi vysokou úroveň vykazují rovněž vlastní grafické listy umístěné v kapitole 10 PŘÍLOHY.

Některé pasáže posuzované práce jsou dle mého názoru tak „nabité“ informacemi a zjištěnými údaji, že pro čtenáře ne zcela se zabývající danou problematikou není chvílemi úplně jednoduché všemu přesně porozumět. Na druhé straně to však svědčí o velmi hlubokých znalostech doktoranda a jeho proniknutí do řešené problematiky.

Bohužel však v předložené disertační práci postrádám oddíl či kapitolu SEZNAM či PŘEHLED POUŽITÝCH TERMÍNŮ A ZKRATEK, kde by byly vysvětleny některé pojmy, termíny či zkratky použité v disertaci.

Jelikož je obhajoba disertační práce úzce spojena s publikační aktivitou, přivítal bych pro získání uceleného dojmu o práci doktoranda rovněž kapitolu či oddíl s názvem např. SEZNAM PUBLIKACÍ SOUVISEJÍCÍCH S DISERTAČNÍ PRACÍ apod.

K posuzované písemné práci mám následující připomínky:

- 1) **Str. 12** – Jihoafrická republika – v češtině malé r.
- 2) Drobné překlepy v celé práci.
- 3) **Str. 18, 44** – Nezačínat větu slovem **Přičemž** a **Čili** – nehodí se v kontextu.
- 4) **Str. 33** – Místo termínu vypsány použít **uvedeny**.

Bližší vysvětlení pak požaduji k níže uvedeným otázkám:

- 1) Na str. 7 uvádíte, že kromě jiného, byly za posledních 50 let vyvinuty nové prostředky a strategie konceptu integrované ochrany rostlin, mezi něž mimo jiné patří např. postupy založené na využití semiochemikálií či využití strategie augmentativní biologické ochrany. Mohl byste se o těchto 2 strategiích zmínit podrobněji?
- 2) Ve své práci dále uvádíte, že biologická ochrana začíná být uplatňována ve výzkumu a praxi veterinární a humánní medicíny. Mohl byste přiblížit jakým způsobem?
- 3) Na str. 14 uvádíte celou řadu důvodů, proč jsou porosty skleníkových plodin považovány za vhodné místo pro aplikace entomopatogenních hub. Ale navzdory těmto výhodám se využití „mykoinsekticidů“ ve skleníkové produkci plodin rozvíjí pomalu. Mohl byste podrobněji objasnit proč je tomu tak?
- 4) I když je mechanismus účinku entomopatogenních hub specifický, je znám nějaký významný případ vzniku rezistence v ochraně rostlin při jejich použití jako „mykoinsekticidů“?

- 5) Ve své práci uvádíte mezi nevýhodami použití entomopatogenních hub jako „mykoinsekticidů“, že v některých případech nemusí tyto v rámci svého hostitelského spektra pokrýt všechny dané cílové organismy, a proto je potřeba dalších prostředků k docílení úspěšně provedené ochrany. Kdybyste dospěl k závěru, že by bylo potřeba k potlačení spektra škůdců vyskytujících se na dotčené plodině v ochraně kombinovat entomopatogenní houby a pesticidy, řídil byste se nějakými zásadami při použití těchto dvou metod nebo byste kombinaci těchto dvou variant vůbec nevolil?
- 6) Na str. 32 uvádíte, že ve Studii 5 jste zjišťoval, zda mnohonásobné pasážování (padesátinásobné) vybraných izolátů entomopatogenní houby *Isaria fumosorosea* přes dva hostitele ze třídy *Insecta*, jednoho zástupce třídy *Arachnoidea*, umělé živné médium (PDA) a přirozený živný substrát (otruby) nějakým způsobem ovlivňuje účinnost na larvy zavíječe voskového ve srovnání s účinností původních izolátů. Tito výše uvedení hostitelé či látky byly vybráni náhodně nebo s určitým záměrem? Pokud ano, s jakým.
- 7) Na str. 87 uvádíte, že na spodní stranu listu papriky seté bylo umístěno cca 35 bezkřídlých partenogenetických samiček mšice broskvoňové, a to přednostně na středovou žílu listu, kde setrvaly daleko lépe a nerozlézaly se jako na jiných částech listové čepele. Mohl byste vysvětlit proč?

Závěrečné zhodnocení disertační práce:

V doktorské disertační práci se podařilo splnit vytčené cíle v plném rozsahu. Předložená disertace svědčí o pracovitosti doktoranda a splňuje podmínky kladené na tento typ práce, neboť doktorand v předložené práci prokázal dostatečnou schopnost orientace v rozsáhlé světové literatuře, schopnost kriticky třídit informace a využívat je pro vlastní řešení. Ve své práci přináší důkazy o samostatném tvůrčím přístupu, který byl završen řadou výsledků majících významný teoretický i praktický dopad v daném oboru.

Na základě výše uvedeného proto **doporučuji doktorskou disertační práci k obhajobě** a po uspokojivém zodpovězení a vysvětlení dotazů a připomínek doporučuji udělení titulu Ph.D. podle stávajícího vysokoškolského zákona a prováděcích předpisů MŠMT.

V Českých Budějovicích dne 19.6.2014



doc. Ing. Ivan Mráz, CSc.
Biologické centrum AV ČR
Ústav molekulární biologie rostlin
České Budějovice

Oponentský posudek na disertační práci

Možnosti hodnocení účinnosti entomopatogenních hub na vybrané cílové hostitele

Autor práce: Ing. Aleš Skalický

Vedoucí práce: prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc., prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

Oponent: RNDr. Alena Nováková, CSc.

Disertační práce Ing. Aleše Skalického má 157 stran včetně tabulek, grafů a citované literatury a 6 grafických příloh s fotografiemi. Práce je přehledně členěna na jednotlivé kapitoly a podkapitoly a je vhodně doplněna tabulkami, grafy a fotografiemi.

Téma disertační práce řeší stále aktuální problematiku entomopatogenních hub a jejich využití v biologické ochraně rostlin s cílem ověřit „univerzální uplatnitelnost“ hodnocení vývoje nákazy entomopatogenních hub na vybraném cílovém hostiteli za použití stupnice FDI. Literární přehled podává ucelený přehled studované problematiky a autor prokázal schopnost excerpce potřebných informací, jejich využití pro svou práci i schopnost srovnání vlastních výsledků s literárními údaji. Všech pět vytčených dílčích cílů práce (studie 1 až 5) je autorem jasně a přehledně formulováno v samostatné kapitole a jak ukazují prezentované výsledky práce i diskuse k jednotlivým dílčím studiím, všechny vytčené cíle byly také splněny. Velice podrobné výsledky jednotlivých testů, stejně tak navazující diskuse ukázaly nejenom velké zaujetí autora touto tematikou, jeho neskutečnou píli a pracovitost, ale i jistou důkladnost, se kterou pokusy naplánoval, uskutečnil a vyhodnotil.

K práci mám tyto připomínky a dotazy:

- Autor uvádí v práci uvádí, že „...biologická ochrana začíná být uplatňována ve výzkumu a praxi veterinární a humánní medicíny.“ - může uvést příklad tohoto použití?

- Práce je po formální stránce na velice dobré úrovni, i co se týká stylistiky nebo gramatiky, neopravených překlepů je minimum. Přesto bych chtěla upozornit na některé prohřešky jako např. použití anglikanismů (patogenicita) nebo rusismů (...funkci odvislou od...), zvláště když jinde v textu jsou použity správné tvary nebo vazby – to jen poznámka na okraj.
- Doporučovala bych při prvním uvedení latinského názvu mikromycet i hmyzu v textu použít celé rodové jméno a teprve při opakovaném použití jména již používat zkratku rodového jména.
- V práci jsou některé nepřesné formulace – např.

Str. 16 – „...konidie *B. bassiana* začínají klíčit po 10 hodinách a je z větší části dokončeno do 20 hodin“ – co je dokončeno (klíčení)?

Str. 26 – „...při optimální teplotě může koncentrace kolonií v půdě vzrůst“ - nevzroste koncentrace kolonií, ale záchytnost kultivovatelných hub

Str. 25 „...na malt agaru...“ – správně na maltózovém agaru – pozor na laboratorní slang!

Str. 37 – „...vrstva 2% agaru nebo PDA...“ - zřejmě autor myslel 2% vodní agar?

Několik poznámek k mykologické terminologii:

- Autor v práci používá většinou již zastaralý výraz „saprofytické“ houby, přestože jednou v textu použil správný název „saprotrofní“
- V textu použito „*L. lecanii* (dříve *Verticillium lecanii*) – tady pozor, záleží z jaké geografické oblasti původní *V. lecanii* je – v Evropě se jedná o *L. muscarium*, *L. lecanii* je známo např. z Afriky
- Str. 23 – „konidiofory subklavatozního tvaru“ – správně by bylo subklavátního, ale tohoto tvaru je spodní část konidiogenní buňky, ne konidiofor
- Obdobně i „konidie cylindrického, mírně zakřiveného tvaru“ – v mykologii se uvádí spíše „konidie cylindrické, mírně zakřivené“
- Str. 24 – „...hyalinních spor, které jsou obecně zelené...“ – zde hlavně nejde o spory, ale o konidie (=nepohlavní spory) vzhledem k tomu, že jde o nepohlavní stadium.

Konidie *M. anisopliae* jsou hyalinní až světle zelené, v mase zelené (pod mikroskopem).

- Poslední připomínka se týká metodiky. Autor vyčlenil kapitolu Materiál a metodika, ale zde jsou hlavně údaje o materiálu, tj. testovaných druzích mikromycet a hmyzu v jednotlivých studiích a jen některé pracovní postupy či testy. Vlastní metodický popis je uveden až v experimentální části na začátku každé studie – to je poněkud neobvyklé, i když chápu snahu autora o větší srozumitelnost a taky jakousi „připravenost“ textu pro pozdější publikování. Autor zde ale nedodržel u všech studií stejný postup – na str. 41 a 87 uvádí v podstatě stejný metodický postup studie s tím rozdílem, že na str. 47 je to souvislý text a na str. 87 to samé v bodech.
- Závěrem dotaz týkající se případného ataku roztočů – setkal se v průběhu testů s napadením kultur roztoči? Nebo měl pokusy nějak zabezpečeny před případným atakem?

Přes uvedené připomínky předložená disertační práce svým rozsahem, získanými výsledky a porovnáním výsledků s literárními údaji odpovídá nárokům, kladeným na doktorské disertační práce. Autor prokázal schopnost samostatné práce a analýzy získaných výsledků.

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm 1.



RNDr. Alena Nováková, CSc.

Laboratoř genetiky a metabolismu hub
Mikrobiologický ústav AV ČR; v.v.i., Praha