

Posudek na disertační práci Mgr. Tomáše Tonky „Morfologie a vývoj střevních patogenů lýkožrouta smrkového“

Disertační práce je zaměřena na velmi aktuální a z vědeckého hlediska významnou problematiku vzájemného vztahu škůdce lýkožrouta smrkového a jeho přirozených nepřátel *Ips typographus* *Entomopoxvirus* (ITEV) a mikrosporidie *Chytridiopsis typographi*. Je členěna do příslušných kapitol a odpovídá tak struktuře pro tento typ prací.

V Úvodu je naznačen důvod, proč byla příslušná disertační práce zpracována, jsou stručně jmenovány organismy, které jsou studovány z hlediska biologické ochrany rostlin.

Část Literární rešerše svědčí o důkladném prostudování problematiky autorem, k jejímu zpracování byla využita celá řada literárních zdrojů. Je rozdělena do podkapitol, které na sebe vzájemně logicky navazují. První podkapitola popisuje detailně škůdce lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*, kůrovec), jeho životní cyklus a rozšíření. V další podkapitole je uveden výčet nejznámějších přirozených nepřátel lýkožrouta smrkového. Dále je pozornost zaměřena na skupinu poxviry, především na podčeď Entomopoxvirinae a na studovaný ITEV. Podrobně jsou také charakterizovány mikrosporidie a především studovaný druh *Chytridiopsis typographi*. K této části nemám žádné významné připomínky týkající se obsahu, nicméně se v ní, stejně jako v dalších částech, vyskytuje celá řada překlepů, pravopisných chyb, shoda s přísudku s podmínkem, nesprávné používání interpunkce apod.

- Jaké je správné použití názvu viru: *Ips typographus Entomopoxvirus* (v úvodu) nebo *Ips typographus Entomopoxvirus* (v literárním přehledu)? – ICTV uvádí viry ve tvaru *Ips typographus entomopoxvirus*. Psaní názvů je nejednotné i ve vědecké literatuře, v jedné práci by ale mělo být sjednoceno.
- Je potřeba si dát pozor na používání spojení „v posledních letech“ s následným výčtem publikací – např. 1996 (str.20), 1995 (str. 22), 1976, 1986 (!, str. 29) apod.

Cíle práce jsou stanoveny přesně a jasně, takže jsou snadno kontrolovatelné. Cenné je také, že byly zřejmě proti původnímu plánu rozšířeny o studium nových patogenů, vyskytujících se v populacích lýkožrouta smrkového.

Z kapitoly Materiál a metodika je zřejmé, že k vlastní práci byly použity metody, které jsou rutinně využívány při popisu těchto organismů. Je poměrně krátká, ale jsou v ní uvedeny odkazy na příslušné metodiky, což řadím ke kladům této práce. Časté je totiž „natahování“ prací výčtem všemožných postupů, chemikálií apod.

- Nenašel jsem vysvětlení zkratky LEM PARÚ

Kapitola Výsledky tvoří nejrozsáhlejší část disertační práce. Nejedná se o práci experimentální, ale především deskriptivní. Tento typ prací má ale nezbytný a nezaměnitelný význam při pochopení vztahu hostitel a jeho patogeni. Výsledky pak mohou být využity při praktické aplikaci v biologické ochraně. V rámci sledování byl studován vývoj a morfogeneze ITEV. Byla získána celá řada poznatků, které rozšiřují znalosti o vývoji viru v těle hostitele, v některých případech jsou tyto výsledky v rozporu s dřívějšími popisy. Byla lokalizována virová replikace, tvorba virionu a nukleoidu. Velmi cenná je identifikace tzv. mezistádia, tj. pravděpodobně forma endozomu, která slouží k transportu virionu do cytoplazmy buňky hostitele. Rovněž výsledky studií *Ch. typographi* doplňují nebo revidují poznatky o vývojovém cyklu tohoto organismu. Byl např. poprvé u mikrosporidií popsán proces odštěpování vegetativních stádií. Celá kapitola svědčí o velkém zaujetí autora pro danou problematiku a je z ní patrné, že bylo vynaloženo velké množství precizní až filigránské práce. Formou přílohy je doplněna celou řadou obrázků, ty jsou však v některých případech řazeny nelogicky, čímž mírně snižují orientaci čtenáře.

V kapitole Diskuse je uvedena celá řada odkazů na již dříve publikované studie o patogenních agens lýkožrouta smrkového. Vzhledem k tomu, v některých pasážích však není jasné, zda se týká výsledků autora nebo jiných publikací.

V Závěru jsou uvedeny stručně a přehledně uvedeny dosažené výsledky, takže mohou přimět případného čtenáře k prostudování celé disertační práce. Domnívám se pouze, že odkazy na publikace mohly být uvedeny ve zvláštní kapitole, u ještě nepublikovaných i s časopisy, do kterých byly nebo budou zaslány.

Z předložené disertační práce je zřetelné, že se autor podrobně seznámil s problematikou a prokázal schopnost vědecky pracovat. Uvedené připomínky a dotazy slouží pouze k vyjasnění některých otázek a nesnižují tak hodnotu předložené práce. Zvolené téma je vysoce aktuální, disertace splnila cíl. Práce přinesla nové výsledky o vztazích mezi významnými patogeny lýkožrouta smrkového *Ips typographus Entomopoxvirus* a *Chytridiopsis typographi*. Část výsledků již byla publikována v časopise s tzv. impakt faktorem (Journal of Invertebrate Pathology, první kvartil) a jsou zaslány nebo připravovány další manuskripty. Souhlasím, aby práce byla přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení byl Mgr. Tomáši Tonkovi udělen akademický titul „Doktor“.

V Brně dne 4.11.2013

Prof. Ing. Radovan Pokorný, Ph.D.



OPONENTNÍ POSUDEK
na
DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

autor: Mgr. Tomáš Tonka

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

TÉMA PRÁCE – MORFOLOGIE A VÝVOJ STŘEVNÍCH PATOGENŮ LÝKOŽROUTA SMRKOVÉHO

Předkládaná disertační práce se zabývá morfologie a vývoje střevních patogenů u lýkožrouta smrkového. Téma je velice aktuální vzhledem k tomu, jak významného škůdce smrkových porostů tento brouk představuje. Jedná se především o studium Entomopoxviru a mikrosporidie *Chytridiopsis typographi*. Pět cílů práce (kontinuální množení patogenů, podrobnosti o vývoji viru v hostitelském organizmu, vztahy mezi ITEV a dalšími zástupci rodu Alphaentomopoxviru, studium vývoje *Chytridiopsis typographi* a konečně vyhledávání nových patogennů u lýkožrouta) je aktuálních a jsou zřetelně formulovány. Práce má 161 stran textu, včetně 53 obrázků a 2 tabulek. Součástí disertační práce je také „Příloha“ obsahující jednu publikovanou práci a pravděpodobně tři rukopisy, o nichž jsem nenašel bližší vysvětlení, zda se jedná o rozpracované nebo již rukopisy do časopisů předložené. V druhém případě by mělo být uvedeno, do kterých časopisů byly rukopisy předloženy.

Disertační práce má standardní členění. Ke kapitolám „Literární a Materiál a Metodika“ nemám připomínek. „Výsledky a Diskuze“ jsou zpracovány přehledně. Předkladatel zde popisuje jednotlivá vývojová stádia ITEV, jejich postupný vývoj v hostitelských buňkách a konečně je diskutuje s dalšími, již popsány Entomopoxviry. Co se týče mikrosporidie *Chytridiopsis typographi*, tak výsledky i diskuze jsou založeny na již publikované práci, která prošla recenzním řízením v časopise Journal of Invertebrate Pathology. Kvalitní je obrazová příloha, která je základem předkládané disertační práce.

Autor si vytýčil pět cílů práce. Cíle 2-4 (podrobnosti o vývoji ITEV, vztahy mezi ITEV a dalšími zástupci rodu *Alphaentomopoxvirus* a vývoj *Ch. typographi*) jsou podrobně a přehledně řešeny. Cíl 1 (kontinuální množení patogenních agens) se poněkud ztrácí v kapitole „Materiál a Metodika“ a jedná se spíše o izolaci těchto agens pro další studium z hostitelů sbíraných v terénu než a jejich následné laboratorní množení. Poslední pátý cíl (vyhledávání a

identifikace nových patogenů) je zmiňován v textu jen okrajově. Z výše uvedeného vyplývají následující otázky:

Otázky:

1. Jak úspěšný je laboratorní přenos nákazy těchto patogenů na nové hostitele?
2. Které další patogeny předkladatel zaznamenal?
3. Jaký počet lýkožroutů byl pitván?
4. Jaké jsou výzkumné podíly předkladatele v rukopisech, kde není prvním autorem?
5. Jak by si autor představoval případné použití studovaných bioagens v ochraně lesa?

Další připomínky:

1. str. 86 a 87 - Články v příloze nejsou publikací. Napsat „publikace ve formě manuskriptu“ je nevhodné vyjádření. Tyto články by mohly být považovány za rukopisy připravené k předložení do časopisu.
2. str. 86 - Termínu „provizorní zařazení v taxonomii virů“ by se měl autor raději vyhnout.
3. Obrazová příloha – V textu jednotlivých obrázků by mělo být uvedeno, který typ mikroskopie byl použit, toto většinou chybí. Některé obrázky nemají měřítko. Pokud měřítko mají, tak kombinace českého textu s anglickým „bar“ není vhodná.

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 zde 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.

29.10. 2013

Doc. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Fakulta lesnická a dřevařská

Česká zemědělská univerzita

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci

Mgr. Tomáše Tonky

„Morfologie a vývoj střevních patogenů lýkožrouta smrkového“

Obecné zhodnocení

Disertační práce Mgr. Tomáše Tonky je zpracována ve formě stručné monografie, která je doplněna jedním článkem přijatým k tisku v renomovaném časopise a čtyřmi rukopisy vědeckých článků, které řeší jednotlivá dílčí témata. Představuje pečlivě připravené základní popisné studie, které jsou vhodně doloženy rozsáhlými soubory precizních fotografií. Celá práce je velice pečlivě sestavena a je velice čtivá.

Otázka:

V jakém stavu submitování či přijetí k tisku jsou ostatní rukopisy?

Aktuálnost zvoleného tématu

Zvolené téma disertační práce je vysoce aktuální vzhledem k tomu, že se zabývá aspekty struktur a vývojových cyklů patogenů (*Ips typographus Entomopoxvirus* a *Chytridiopsis typographi*) lýkožrouta smrkového, reprezentujícího nejvážnějšího eurosibiřského lesního škůdce. Stále víme mále o patogenitě a virulenci, vývoji a morfogenezi vývojových stadií patogenů a především vlivu na fitness, plodnost a populační růst populací kůrovců.

Splnění cílů

Cíle disertační práce byly jednoznačně naplněny. Výsledky jednotlivých studií jsou velmi zasvěceně diskutovány.

Otázka:

Může autor naznačit o jaké objevy nových druhů mikrosporidií a neograriny se jedná?

Metody sběru a zpracování dat

Byly použity standartní metody, které se používají při studiu ultrastruktury a životních cyklů mikroorganismů. Struktura metodiky je však poněkud zmatená. Měla být strukturovaná logičtěji (hostitel, sběr, udržování chovů a infekce v laboratoři, disekce, fixace, mikroskopování). Postrádám počty změřených stadií a výsledné hodnoty ve formě středních hodnot a SD či SE apod.

Otázky:

Měly by být uvedeny lokality sběru s daty sběru. Z jakých lokalit byli brouci studováni?

Výsledky dizertační práce a její nové poznatky

Dizertační práce přináší řadu nových poznatků či rozšířila již poznatky známé. Za nejvýznamnější je možno považovat popis vývojového cyklu IT Entomopoxviru a objev „budding“ u mikrosporidie *Chytridiopsis typographi*.

Ve výsledcích by se neměly vyskytovat citace. Na jiných místech výsledky (např strana 47) zabíhají k diskusi.

Otázka: Proč je mezistadium (kap. 5.1.2. a 5.2) zmiňováno na dvou místech?

Jak pokročily molekulární analýzy *Chytridiopsis typographi*?

Přínos pro další rozvoj vědy

Řešením dizertace se významně posunuly znalosti týkající se vývojových cyklů ITEPV a *Chytridiopsis typographi*. Za velmi významné rovněž považuji přenesení obou patogenů do laboratoře a indukci infekce dospělých brouků, i když detaily chovu nejsou prezentovány. Byla popsána řada poznatků, které nebyly prezentovány v původních popisech (objev mikrovřeten, mezistádia, budding...).

Některé formální připomínky:

- U práce popisující Microsporidii *Larsoniella duplicati* je přehozeno pořadí autorů
- Uvod. Vzhledem k tomu, že *Gregarina typographi* byla popsána Fuchsem v roce 1915, tak výzkum v podstatě začal už na počátku 20. století
- Str. 12 by měla být doplněna citacemi

- Str. 15: na základě jakých výsledků je založeno tvrzení v posledním odstavci o vlivu patogenu na záchranu jednotlivých stromů?
- Str. 16: práce Ruhma se venuje Nematodám
- Str. 18: členění na tři typy „konečných stadií“ superinfekcí je překonané. Velmi záleží na přítomnosti konkrétních patogenů v „iniciální“ populaci
- Kapitoly věnované predátorům a parazitoidům jsou příliš stručné a mohly být vynechány.
- Tab. 2 *Chytridiopsis typographi* a *Nosema typographi* jsou známy i z *Ips duplicatus* a *Ips cembrae*, rovněž chybí Pernekovy práce studující patogeny Pityokteines.
- Kapitola 4.1 první odstavec je nejasný.

Závěr

Doktorand prokázal schopnost stanovit si aktuální vědecké hypotézy, které vhodně metodicky řešil a získané výsledky zaslíbeně diskutoval. Proto disertační práci doporučuji přijmout k obhajobě a navrhuji hlasovat o udělení titulu Ph.D.

V Praze 1.11.2013

J.Holuša

Česká zemědělská univerzita v Praze
 Fakulta lesnická a dřevařská
 katedra ochrany lesa a entomologie
 Kamýcká 1176
 165 21 Praha 6 Suchbát