

OPONENTSKÝ POSUDEK

na habilitační práci Mgr. Jiřího Danihlíka, Ph.D. „**Molekulární podstata odolnosti včely medonosné: imunita, fyziologie a výživa v kontextu zdraví včelstev**“

Oponent:

Doc. MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.

Ústav ekologie a chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel

Veterinární univerzita Brno

Palackého tř. 1946/1

612 42 Brno

Habilitační práce je rozdělena do tří tematických celků. V prvním se autor věnuje biochemickému a imunitnímu profilu včel v kontextu sezónních změn a externích stresorů. Ve druhé části práce jsou prezentovány možnosti využití mikrořas jako krmného doplňku pro včely. Třetí část práce je zaměřena na molekulární diagnostiku původců chorob včel, především moru a hniloby včelího plodu.

Pro každý tematický okruh je popsán současný stav řešení problematiky, jsou shrnuty nejdůležitější výsledky a nastíněny perspektivy dalšího výzkumu. Součástí práce jsou přílohy zahrnující devět prací, z nichž osm bylo publikováno v časopisech s impakt faktorem a jedna v odborném recenzovaném časopise bez impakt faktoru. Dále je přiložen jeden rukopis, který byl v době odevzdání práce v recenzním řízení, ale mezitím byl již publikován v časopise s impakt faktorem.

Po formální stránce je práce přehledná a pečlivě zpracovaná. Vyskytují se zde pouze drobné nedostatky, např. reference s diakritikou i bez ní nebo chyba v číslování stránek v literárním přehledu (od kapitoly 4 začíná číslování opět od stránky 1) a ojedinělé nepřesnosti (např. zmínka o tom, že *Nosema* napadá střevní buňky; podle české terminologie se jedná o žaludek). Jedná se však jen o drobnosti, které výrazně nesnižují kvalitu práce.

Obsahově je práce originální a řešená témata jsou velmi aktuální, jak z hlediska základního výzkumu, tak i z hlediska praktických dopadů. Práce pokrývá širokou problematiku, kterou se autor na svém pracovišti zabývá a dokládá velký rozsah jeho odborných znalostí.

K obsahu práce mám následující dotazy, připomínky a náměty do diskuze:

Biochemie a imunita včely medonosné v kontextu sezónních změn a externích stresorů

- Na straně 9 autor uvádí, že parazitace roztočem *Varroa destructor* vedla u včel ke snížení oxidativního stresu (na základě nižší koncentrace malondialdehydu a lipidových peroxidů ve srovnání s kontrolou, Příloha 3). Tato informace mě zarazila, protože

chorobné stavy bývají většinou spojeny spíše s narušením redoxní rovnováhy a se zvýšením oxidativního stresu. Vzhledem k tomu, že pro analýzu byl využit homogenát z celého zadečku bez trávicího traktu, mohly být snížené hladiny MDA a lipoperoxidů důsledkem menší velikosti tukového tělesa a tím menšího obsahu tukové tkáně. Přestože toto autor i zmiňuje v jedné větě v přiložené publikaci (Příloha 3), domnívám se, že pro správnou interpretaci by bylo vhodné normalizovat výsledky např. na obsah lipidů ve vzorku nebo na hmotnost tukového tělesa.

- Na str. 11 je uvedeno rozdělení evropských zemí do tří skupin podle převažujícího způsobu tlumení varroózy. Jak vysoké jsou ve srovnání s Českou republikou zimní úhyny včelstev v zemích, kde se používají převážně organické kyseliny? Jaké jsou v našich klimatických podmínkách zkušenosti s akaricidní účinností pásků s glycerinem a kyselinou šťavelovou?
- Na str. 17 mě zaujala zmínka o zeleném hnojení, které může způsobit prodloužení plodování včelstev a ovlivnit délku života dělnic. Existují na toto téma nějaké studie? Případně jaké jsou v tomto směru zkušenosti praktických včelařů? Ovlivňuje pozdní dostupnost pylu úspěšnost vyzimování včelstev?
- Byla bych opatrná při tvrzení, že kyselina šťavelová aplikovaná ve formě pásků může působit i jako imunostimulant tím, že zvyšuje hladiny antimikrobiálních proteinů, takže může zvýšit schopnost včelstva bránit se infekcím. Jak autor uvádí na jiných místech práce, nadměrná stimulace imunitního systému je energeticky náročná a může naopak vést k vyčerpání a předčasnému úhynu včel. Navíc ke zvýšení hladin antimikrobiálních peptidů v hemolymfě podle jiných prací autora došlo i po injekci bakterií anebo po injekci PBS, což naznačuje, že by se mohlo jednat i o nespecifickou reakci na poškození. V této souvislosti by mě zajímalo, jestli existují studie zabývající se vlivem kyseliny šťavelové ve formě pásků na dlouhověkost včel, zda byla například zjišťována velikost tukového tělesa a hladina vitellogeninu i po delší době než 192 hodin (interval, který uvádí autor ve své publikaci, příloha 4)?
- Na straně 12 je uvedeno, že předpokládaným mechanismem účinku kyseliny šťavelové na roztoče je rozleptání receptorů na jeho končetinách, nikoli otrava kyselinou po její konzumaci. Z citované publikace však tato informace nevyplývá, bylo v ní prokázáno, že roztoči hynou i bez přímého kontaktu s kyselinou, po parazitaci včel, které kyselinu šťavelovou přijaly v krmivu.

Výživa a potenciál mikrořas jako inovativní pylová náhražka

- V souvislosti s možnostmi využití mikrořas jako krmných doplňků pro včely by mě zajímalo, jaká je nutriční hodnota použitých řas. Obsahují všechny esenciální aminokyseliny v poměru odpovídajícím nutričním požadavkům včel?

Role molekulární diagnostiky původců onemocnění včel v prevenci jejich šíření

- Za současné nálezové situace považuji za velmi přínosnou zejména část práce zaměřenou na optimalizaci metody pro diagnostiku hniloby plodu z úlové měli. Na straně 22 autor uvádí, že existuje několik kmenů původce s různou virulencí. Zajímalo by mě, jestli byla již u českých izolátů prováděna genotypizace a pokud ano, které kmeny se na našem území vyskytují?

- Velmi zajímavá a potenciálně přínosná pro praxi je také část o využití FTA karet pro odběr a konzervaci vzorků. V přiloženém rukopise (Příloha 10) je uvedeno, že metoda by po mírné modifikaci mohla být snadno využitelná i pro odběr vzorků praktickými včelaři. Uvažuje se do budoucna o výrobě přípravku určeného pro včelaře, který by byl založen na tomto principu?
- V tomtéž rukopise je naznačena možnost využití FTA karet i pro konzervaci vzorků určených k analýze RNA (např. k detekci včelích virů). Zajímalo by mě, jestli má autor s tímto postupem již praktické zkušenosti.
- Zaujalo mě nízké procento pozitivních vzorků při diagnostice *Nosema* spp. v případě izolace DNA pomocí kitu, který byl použit pro porovnání s FTA kartami. Autor uvádí jako možný důvod obtížnost extrakce DNA ze spor opatřených pevným obalem. Při probíhající infekci u včel však pravděpodobně nejsou v trávicím traktu přítomny jen zralé spory, ale patogen se nachází i ve fázi merogonie, kdy ještě spory nejsou vytvořeny (zvláště u směsného vzorku včel, kde se patrně nacházejí včely v různých stádiích infekce). Neuvažoval autor pro úplnost i o porovnání FTA karet s jiným izolačním kitem?

Závěr

Habilitační práce Mgr. Jiřího Danihlíka, Ph.D. představuje ucelené, metodologicky precizně zpracované a vědecky přínosné dílo, které dokládá dlouhodobou a systematickou vědeckou činnost autora. Výsledky mají nejen vysokou odbornou úroveň a potenciál pro další rozvoj oboru, ale řada z nich je i přímo využitelná v praxi. Na základě těchto skutečností doporučuji habilitační práci k obhajobě a po úspěšném průběhu obhajoby doporučuji udělit uchazeči titul docent v příslušném oboru.

V Brně, 4. 3. 2026

Doc. MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.