

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Terezy Marvanové
Populační struktura a genealogie vši rodu *Hoplopleura*

Magisterská práce je metodickou i tématickou obdobou autorčiny bakalářské práce, ve které se zabývala genealogickou strukturou populací hlísty *Haemonchus contortus*. Mohla tak přímo zúročit své zkušenosti z předchozí práce, na druhou stranu ovšem nerozvinula své schopnosti o nové metodické postupy (nicméně to se od magisterských prací oficiálně nepožaduje). Dovolím si ještě jedno porovnání s bakalářskou prací a to co do rozsahu. Předložená magisterská práce je o dvě strany kratší než bakalářská práce (celkem 25 stran včetně literatury). Jsem zastáncem stručných výstižných prací, je ovšem otázkou, zda to již není příliš. Nicméně Přírodovědecká fakulta nemá, alespoň podle mých vědomostí, striktně stanovený rozsah diplomových prací a proto budu hodnotit hlavně obsah práce.

První polovina úvodu týkající se obecné problematiky studia populací je psána velmi čtivě a přehledně. Postrádám jen dělení úvodu na podkapitoly, které by pomohlo v lepší orientaci v textu. Opakem je střední část (strana 3), kde text vysvětlující refugia hostitelů je poměrně matoucí a vyskytla se tu i prakticky stejná věta na dvou místech odstavce. Samotnému modelu studia jsou věnovány dva odstavce, ke kterým bych měl několik výhrad. i) V první větě je napsáno: "Modelem mé práce je veš *Hoplopleura*, která..." Čtenář neví jestli modelem je jeden zástupce rodu *Hoplopleura* nebo více druhů tohoto rodu (nicméně druh *Hoplopleura* neexistuje, je to název rodu). ii) V následujícím odstavci na str. 3 první věta uvádí, že vši rodu *Hoplopleura* jsou si morfologicky blízce příbuzní - možná jsem už pokřiven fylogenetickým pohledem na taxonomii, ale není vhodnější říct, že druhy jsou morfologicky velmi podobné než blízce příbuzné? iii) Přiznám se, že jsem se úplně ztratil ve vysvětlení konkrétních druhů vši parazitujících u hlodavců. Je zde uvedeno, že *H. edentula* u *Myodes glareolus* je odlišný druh, ale od kterého druhu vši? *H. edentula* je považována jako poddruh druhu *H. acanthopus* nebo *H. acanthopus* je sám poddruhem? U *H. acanthopus* je uveden autor popisu a u *H. edentula* chybí - buď uvést autory popisu obou druhů nebo žádného. Navíc jsem si nebyl jistý jestli jde o autora popisu nebo odkaz na literaturu, protože obojí dvojí je psáno shodně s čárkou před letopočtem. Zbytek úvodu je poměrně podrobným popisem čtyřech druhů hostitelů (na jeden a půl straně), který je, jak předpokládám z jediné citace na konci tohoto textu, převzat z knihy Anděry a Horáčka (2005). Působí to trochu nevyváženým dojmem, kdy o modelových organismech (vších) se moc nedozvídáme, ale o jejich hostitelých je tu uvedeno mnoho.

V oddíle materiál a metodika se asi omylem zatoulal *A. sylvaticus*, jako jeden z hostitelů studovaných vší, který v textu již není dále zmíněn. Protože odchyt hlodavců probíhal od roku 2005 zajímalo by mě, jaký podíl práce měla na odchycích sama diplomantka. Podotýkám, že samozřejmě není chybou, když by byl materiál převzat od kolegů z laboratoře, ale tato informace by měla být v metodice zmíněna. Informace o prevalenci stejně jako celá tabulka 1 patří do výsledků a ne do materiálu a metodiky.

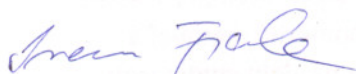
K amplifikaci úseku COI jsou uvedeny primery LCO 1940 a HCO 2198 (Hafner a kol. 1994). Nejedná se o primery s názvem LCO1490 a HCO2198 od Folmera a kol. (1994)? Vzhledem ke krátkému amplifikovanému úseku (581bp) je doba elongace (1 min 30s) možná příliš dlouhá. Jako jeden z outgroupů je uveden *Lepidoptera* sp. (italikem) - *Lepidoptera* je řád hmyzu a ne rod!

Výsledky jsou zpracovány přehledně v několika tabulkách a obrázcích. Tento oddíl magisterské práce je pečlivě zpracovaný a podle mého názoru nejlépe vyvedenou částí předloženého díla.

Jak jste morfologicky determinovala dva studované druhy vší, když, jak je uvedeno v úvodu, spolehlivé určení je na základě struktur viditelných v SEM? Ve fylogramu je pak linie 1, která obsahuje vši jak píšete "pravděpodobně *H. edentula*". Kam se poděl outgroup, který je zmíněn v metodice (sekvence *Metria* sp. a zástupce z Lepidoptera)?

Naopak nejslabším článkem práce je diskuze. Zpracována je na jeden a půl straně. Podstatu tvoří zopakování výsledků a jejich rozbor. Chybí zde úplně porovnání výsledků s již publikovanými daty (pouze jedna citace), nemusí jít přitom jen o publikace z okruhu studia populace vší.

Závěrem konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na magisterskou práci na PřF a doporučuji ji k obhajobě. I přes uvedené nedostatky shledávám práci jako kvalitní zejména co se týká zpracování výsledků. Slabiny jsou bohužel v úvodu a zejména v diskuzi. Navrhuji hodnocení velmi dobře.



RNDr. Ivan Fiala, PhD

V Českých Budějovicích, 20. května 2011

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci

Populační struktura a genealogie vší rodu *Hoplopleura*

Autorka: Bc. Tereza Marvanová

Oponent: Doc. Mgr. et Mgr. Josef Bryja, PhD.

Diplomová práce se zabývá velmi aktuálním a zajímavým tématem populačně-genetické struktury parazitů. Zatímco o faktorech ovlivňujících genetickou architekturu populací volně žijících živočichů se v posledních 20 letech napsaly tisíce publikací, tak o vnitrodruhové genetické variabilitě cizopasníků se ví velmi málo. Získané informace přitom mohou být velmi důležité nejen pro obecné pochopení koevoluce systému hostitel-parazit, ale z praktického hlediska mohou napomoci např. precizní identifikaci parazitů a účinné prevenci či léčbě napadení.

Přestože zadané téma je velmi zajímavé, tak zpracování této problematiky pravděpodobně nenaplnilo původní očekávání. Získaná data nejsou nijak extrémně početná (76 jedinců vší jen z relativně malého území České republiky a Slovenska, ze všech jedinců získány parciální sekvence jednoho mtDNA genu), což však u magisterské diplomové práce nemusí být až tak zásadní a i zde se podařilo získat z tohoto materiálu zajímavé výsledky. Důležitější je množství věcných a formálních chyb a celková struktura práce, kde například chybí jakékoliv zasazení výsledků do širšího kontextu. Množství provedených analýz je dostatečné, a pokud je všechny dělala autorka sama, tak je nyní (technicky) schopna řešit populačně-genetické problémy. To však bohužel k dobré vědecké práci nestačí a je potřeba umět získané výsledky i prodat.

Za nejdůležitější nedostatky považuji tyto (nejsou seřazeny podle důležitosti):

1) **Úvod práce** je nejasně strukturovaný (rozhodně by prospěly třeba nějaké podnadpisy), není příliš zřejmé, kterému problému je který odstavec věnován. Např. tok genů je zmíněn v téměř všech odstavcích zabývajících se genetikou, jsou zde na velmi malém prostoru smíchány dohromady např. lokální adaptace, hostitelská specificita, vliv glaciálů na genetickou diverzitu atd., přičemž nikde nejsou definovány příslušné predikce týkající se studované problematiky a téměř žádné faktory uvedené v úvodu nejsou nikde dále dávány do souvislosti se získanými výsledky. Některé části úvodu jsou velmi vágní, nepřesné a/nebo nejasné (např. "*Genetický polymorfismus se může v důsledku bottlenecku snižovat či zvyšovat nárůstem populace*"), některé věty postrádají slovesa, některá tvrzení nejsou doplněna příslušnými citacemi. Zbytečně detailní mně připadá i popis ekologie a morfologie hostitelů, naopak zde úplně chybí některé základní informace a příklady týkající se koevoluce systému hostitel-parazit.

2) **Cíle práce** - ani z úvodu ani z této kapitoly není zřejmé, za jakým účelem se daná práce dělala. Některé definice hypotéz chybí úplně, přestože by mohla výrazně kvalitu práce zvýšit.

3) **Fylogenetická analýza**. Na str. 10 se uvádí, že jako outgroup byly použity sekvence dvou blíže nespecifikovaných motýlů. Proč byli vybráni motýli a ne nějaká sesterská skupina vší? Ve výsledném stromu (je prezentován jen NJ strom, přestože v metodách jsou slibovány i MP a ML analýzy, včetně

např. analýzy substitučního modelu) však není žádný skutečný outgroup (tj. ani ti motýli). Za outgroup je jaksí podivně považována Linie 1 (což jsou pravděpodobně sekvence druhu *H. edentula* - přestože o morfologické identifikaci materiálu není nikde v práci žádná zmínka). Na obr. 3 (NJ strom) a identickém obr. 6 (opět NJ strom) jsou uvedeni všichni jedinci, přičemž fylogenetická analýza by byla přehlednější, kdyby byla založena na analýze haplotypů (tj. každý haplotyp by se tam měl vyskytovat pouze jednou). Nikde taky nejsou uvedeny hodnoty statistické podpory pro jednotlivé skupiny, přestože se o nich v metodách píše.

4) **Prezentace výsledků fylogenetické analýzy.** Obr. 3 a 6 (NJ strom) jsou (téměř) identické, potřetí je stejný obrázek vložen do Obr. 5. Zcela chybí jakákoliv prezentace a komentář k výsledkům MP a ML analýzy. Obr. 4 je zcela zbytečný, protože veškerou informaci obsahuje Obr. 5. Popisy obrázků jsou často zmatené a neúplné - např. co si má čtenář představit pod legendou k obr. č. 5: "*Haplotypová síť populace Hoplopleura linií 1, 2, 3, 4, 5. Velikost haplotypů odpovídá počtu vzorků.*" Evidentně však je v tomto obrázku nějakým způsobem zainkorporován i výsledek "nested clade" analýzy a je zde vložen i NJ strom.

5) **Demografické analýzy.** Bylo provedeno množství "jednoklikacích" testů neutrality v programu DNASP a pro jednu skupinu pak i analýza "skyline plot" v programu BEAST (proč jen pro jednu linii?). Z textu však není zcela zřejmé, proč se vlastně tyto testy dělaly, jaká je jejich podstata, jak se stanoví signifikance a co signifikantní výsledky vlastně znamenají. Rovněž v diskuzi jsou tyto výsledky diskutovány dosti zmateně.

6) **Diskuze.** Celá tato část, která by měla tvořit velmi důležitou část práce, je napsána na 1,5 strany a je v ní citována jediná jiná publikace (Štefka & Hypša 2008). Diskuze (stejně jako Úvod) není nijak strukturovaná a z velké části jsou pouze znovu zopakovány hlavní výsledky. Přitom samotné výsledky poskytují dostatek materiálu pro zasazení do širšího kontextu. Toto je učiněno pouze ve srovnání genetické struktury vší *Hoplopleura* s předchozí publikací týkající se vší rodu *Polyplax* (Štefka & Hypša 2008). Genetická struktura a distribuce hlavních linií je v obou případech velmi podobná, což je dle mého názoru velmi zajímavé a stálo by to za bližší vysvětlení. Jaký je názor autorky na příčinu této struktury? Jak už jsem psal výše, tak nikde není učiněn nějaký pokus o vztažení získaných výsledků na genetickou strukturu hostitelů, kteří patří mezi nejprostudovanější fylogeografické modely vůbec (vliv glaciálních cyklů atd.). Opět se zde vyskytuje mnoho vágních či nejasných tvrzení (např. "*Z výsledků vyplývá, že ve fylogenetických vztazích vší rodu Hoplopleura existuje jistý patern, který ukazuje určité zákonitosti a je dán specifitou jednotlivých linií ...*"). Diskuze bývá u magisterských prací často velmi nekvalitní, protože je to poslední část práce, která se dokončuje v časovém stresu - zde se pravděpodobně jedná o opravdu ukázkový případ.

7) **Závěr** zbytečně obsahuje metodické části, úplně by stačila stručná informace o hlavních závěrech práce a nástin dalších možných směrů výzkumu.

Další připomínky (prosím reagovat jenom na připomínky či otázky zvýrazněné tučně):

Anotace - nevím, jak to je na PŘF JU zvykem, ale anotace většinou bývá více než jedna věta.

str. 1 - Velká čínská zeď není úplně nevhodnějším příkladem bariéry toku genů v odstavci, který by se asi měl týkat genetické struktury parazitů (podle první věty)

str. 3-4 - Kolik druhů rodu *Hoplopleura* je v současné době uznáváno? V práci byl zaznamenán jeden jedinec i na myšicích *Apodemus*, aniž by to bylo v práci nějak komentováno - jaký na názor autorky na tento nález?

str. 5 - *Microtus agrestis* nemá rezavě až skořicově hnědou hřbetní stranu těla

str. 6 - "Materiál vši pochází z *A. sylvaticus*" - na *A. sylvaticus* se žádné vši rodu *Hoplopleura* nenašly a v přehledu prevalence (Tab. 1) není *A. sylvaticus* uveden. Tento druh hostitele je zde tedy uveden nesmyslně.

str. 6, poslední věta - celkový součet (pokud byl z každého jedince hostitele odebrán pouze jeden jedinec vši) by měl být 76, nikoliv 75

str. 7, legenda k Obr. 2 - chybí uvést, že na obrázku je i lokalita nálezu myšice lesní

Tab. 1 i jinde - většina lokalit je uváděna názvem vesnice nebo města, kromě "Českomoravská vrchovina, lokality 1-3" - vypadá to, jako by Českomoravská vrchovina byla rozlehlá oblast bez osídlení.

str. 9 - popis PCR by měl být buď v textu (toto bych preferoval já) nebo by tabulka měla být řádně označena a očíslována

str. 9, poslední věta - jaký byl cíl porovnání sekvencí s databází BLAST? Může autorka uvést více detailů?

str. 11 - první odstavec - obsahuje několik protichůdných tvrzení, není jednoznačný (např. "Počty sekvencí kolísaly mezi 1- 11...")

str. 21 - co to znamená "linie 1-5"? Žádná taková se v textu dříve neobjevuje.

Závěr:

Magisterská diplomová práce Bc. Terezy Marvanové přináší nová originální data týkající se zajímavé problematiky koevoluce hostitele a parazita. Přestože výsledná prezentace získaných dat značně pokulhává, tak diplomantka musela zvládnout řadu laboratorních i populačně-genetických metod. Zejména z těchto důvodů tedy práci i přes řadu kritických připomínek doporučuji k obhajobě.

Ve Studenci 20.5.2011

Josef Bryja

