Biology Centre, Academy of Sciences
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Oponentský posudek na magisterskou práci Anny Mácové „Phylogenetic relationships and population structure of coccidia in rodent families Muridae and Arvicolidae".

Ve své magisterské práci se Anna Mácová zabývala fylogenetickými vztahy a populační strukturou na modelu hostitel-parazit, konkrétně na modelu kokcidie-hlodavec. Ve studii využila dva molekulární markery – mitochondriální COI a jadernou SSU rDNA. Anna získala poměrně velké množství sekvencí obou markerů od značného počtu vzorků kokcidií z hlodavců z rozsáhlého geografického areálu. Tudíž dokázala věrohodně rekonstruovat fylogenezi a populační strukturu parazitů.

Práci považuji za velmi zdařilou jak po formální stránce tak po obsahové. Překvapila mě angličina na velmi vysoké úrovni a také prakticky absence překlepů, což je u studentských prací spíš výjimkou.

K práci mám jen několik dotazů a připomínek:

Metodika

Byla odebírána také hostitelská tkáň pro PCR determinace hostitelů, ovšem dále v metodice ani ve výsledcích již není zmínka o podmínkách PCR analýzy a jejich výsledcích. Byla v magisterské práci použita determinace hostitelů pomocí PCR?

Výsledky

Tvrzení, že počet *Eimeria* pozitivních vzorků byl signifikantně nižší u *Microtus* spp. než u *Apodemus* spp. je zavádějící, protože může budit dojem, že prevalence eimerií byla u *Microtus* spp. nižší, přičemž pravý opak je pravdou.

V tabulce 1 je uvedena prevalence kokcidií pro *Apodemus* spp. Myslím, že by bylo správnější uvést prevalenci kokcidií u jednotlivých druhů myšic plus třeba i souhrnou prevalenci u všech odchycených myšic.

Uvedené rozmezí velikostí získaných SSU sekvencí 522-1417 je u blízce příbuzných druhů velmi nezvyklé. Byly opravdu nejkratší sekvence získány uvedenými primery?

V metodice je uvedeno, že bylo sekvenováno pět PCR produktů popř. PCR klonů z každého vzorku. To je spousta laboratorní práce a takovéto poctivé sekvenování je úctyhodné. Nicméně ve výsledcích chybí zmínka o výsledcích této práce, tj. jaká byla variabilita mezi sekvencemi z jednoho vzorku?

Je docela škoda, že určitě náročné fylogenetické analýzy jsou prezentovány v graficky hodně nepovedené úpravě (Fig. 4 až Fig. 6).

Telephone No.: +420 38 7775051
Fax: +420 38 5310338
E-mail: bc@bc.cas.cz
www.bc.cas.cz

Biology Centre, Academy of Sciences
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Popisek k tabulce 1 by mohl být chápán tak, že je v tabulce uveden seznam sekvencí z hostitelů a ne z kokcidií.

Psaní čárek v citacích mezi autory a rokem vydání práce, na kterou se odkazuje, neodpovídá pravidlům, nicméně spousta časopisů již takovýto formát vyžaduje. Není ale úplně šťastným řešením to, když citace literatury je uvedena ihned za názvem taxonomické skupiny, se kterou je čtenář seznamován. Tak je tomu např. na straně 2. Někdo by si mohl myslet, že kmen Apicomplexa byl zaveden Uptnem v roce 2000 nebo rod *Eimeria* Perkinsem a kol. v roce 2000.

Přes vznesené připomínky, které jsou opravdu jen málo významné, považuji práci za vynikající a doporučuji ji vřele k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 28. 5. 2013

RNDr. Ivan Fiala, Ph. D.

Telephone No.: +420 38 7775051
Fax: +420 38 5310338
E-mail: bc@bc.cas.cz
www.bc.cas.cz

Posudek oponenta na diplomovou práci Anny Mácové nazvanou **Phylogenetic relationships and population structure of coccidia in rodent families Muridae and Arvicolidae**.

Předložený text působí velmi dobrým dojmem a je zřetelně výsledkem velkého množství odvedené práce, zpracovaných vzorků, laboratorních analýz i jejich interpretací. Úvod je na jedenácti stranách, je vypointovaný, nejsou v něm zbytečné podružné informace, ony studenty často používané „vycpávky". Cíle jsou vcelku dobře formulované a ambiciózní. Metodika je na necelých dvou stranách a pro účely diplomové práce by mohla být i maličko podrobnější – vůbec zde například nejsou uvedeny podmínky amplifikace, množství templátové DNA, složení amplifikační směsi, podmínky a průběh cyklů. Tabulka s detaily fylogenetických analýz je umístěna v kapitole výsledky. Logicky bych je hledal spíš v metodice. Výsledky jsou na 11 stranách, z čehož 3 strany zabírá text s tabulkami a zbytek jsou názorné celostránkové obrázky. Dosažené výsledky jsou zřejmé. Snad jen bych se přimlouval, aby pro příště obrázky nepřekrývaly čísla stránek. Na počítači lze tohoto snadno dosáhnout. Ve výsledcích, ale i v pozdější diskusi, se autorka opírá pouze o klastrování na základě analýzy COI, zatímco nejednoznačné výsledky fylogenetické analýzy genu pro malou podjednotku taktně zamlčuje. Třístránková diskuse je jinak dobře strukturovaná a opírá se o vlastní výsledky. V závěru bych za sebe v rámci welfare oponenta uvítal krátké shrnutí míry dosažení jednotlivých vytyčených cílů. Použitá literatura je uvedena na devíti stranách jednoduchým řádkováním, představujících, pokud jsem se nespletl, 176 publikací, před čímž smekám. Použitý materiál je v příloze. Práce je kompaktní a sympaticky krátká, přesto si neodpustím několik dalších drobných výhrad a otázek.

1. Značení vzorků není zcela jednotné – např. CG 89 a MG 89 (zřejmě v souvislosti se změnami v rodu), AS 77 a 77 AS, apod.

2. U hrabošů (*Microtus* spp.) nebyla prováděna druhová determinace?

3. Na straně 8 je uvedeno, že hlavní fáze speciace v rodu *Apodemus* trvala dlouho - 10-12 mya, od pleistocénu do současnosti. Pleistocén ale začal před cca dvěma miliony let. Před deseti až dvanácti miliony let byl střední miocén. Jak to tedy je s myšicemi?

4. Jak byste vysvětlila rozdíly v analýzách COI a 18S r DNA?

5. Nešlo by podle Vás ověřit hostitelskou specifitu jednoduchým laboratorním experimentem?

Závěr: Práci považuji za kvalitní a doporučuji ji k obhajobě.

Brno, 21. května 2013

Pavel Široký