

Oponentský posudek na bakalářskou práci Veroniky Žánové

Střevní paraziti ptáků na Svalbardu

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou střevních apikomplex a mikrosporidií u ptáků hnízdících na Svalbardu. Zaměřuje se na mikroskopickou a molekulární detekci těchto parazitů, pokus o druhovou determinaci, a rekonstrukci vztahů na základě fylogenetických analýz.

Bakalářská práce je stylisticky pěkně zpracována, a celkově ji hodnotím jako velmi zdařilou. Byla radost ji číst. Na to, že se jedná „pouze“ o práci bakalářskou, čítá úctyhodných 72 stran včetně přehledu literatury a příloh. Má obvyklou strukturu s logickým členěním na úvod, cíle práce, metodiku, výsledky, diskusi a závěr. Působí uceleným dojmem a jednotlivé části na sebe vzájemně navazují. Práce je vhodně doplněna obrázky a tabulkami.

Literární přehled (Úvod) je psán srozumitelnou formou na 19 stranách. Zabývá se problematikou, kterou studentka zpracovává a řeší, a opírá se o informace zjištěné studiem literárních zdrojů. Cíle práce jsou jen velmi stroze popsány třemi velmi stručnými body; jsou však definovány jasně a byly splněny. Čekala bych zde však i nějaké vysvětlení, proč byla práce zacílena právě na tyto skupiny parazitů u právě těchto hostitelů (např. zda jsou něčím zajímaví nebo zda se dalo očekávat něco zajímavého).

Kapitola Metodika na 10 stranách popisuje použité metody, které jsou adekvátní a odpovídají zvoleným cílům. Metodika je popsána poměrně detailně a pečlivě. Vytknula bych zde jen několik drobností: například opakovanou zmínku o tom, že určité činnosti (například sběry v některých letech, druhovou determinaci ptáků) prováděli „kolegové“. Stálo by za to uvést, o které kolegy se jednalo. Z textu rovněž není zřejmé, zda se některých sběrů účastnila i sama studentka? Spíše než „míra infekce“ se používá termín „intenzita infekce“ (strana 23). U fenol-chloroformové izolace chybí chloroform ve výčtu použitých chemikálií, v kapitole 3.3.3. chybí popis negativní kontroly u PCR (tj. jak byla prováděna).

Výsledky práce jsou shrnuty na 13 stranách včetně tabulek a fylogenetických stromů. Zpracování výsledků se mi velice líbilo, je přehledné a srozumitelné. Zde mě napadá také jen několik drobností, které by pro studentku mohly být užitečné zejména do budoucna: pro vyjádření násobku se používá klasické matematické znaménko „krát“, nikoliv malé písmeno x (např. v tabulkách 14, 15). Celý rodový a druhový název organismu se uvádí jen při jeho první zmínce v textu, poté se rodový název uvádí již jen zkratkou (například druhy ptáků v tabulkách 12, 13, 16-18, a v kapitole Závěr). V kapitole 4.3. je nepřesně uvedeno, že „DNA odpovídá rodu“ nebo „DNA měla nejvyšší shodu se sekvencemi...“, jedná se však o sekvence, nikoliv o DNA. Podobně není ideální tvrzení, že „z výsledků proto není příliš vhodné vyvozovat hypotézy“ – lepší výraz by byl „vyvozovat závěry“ (str. 38 a 45). Šestistránková diskuse je dobře strukturována, je velice zdařilá a opírá se o vlastní výsledky, které srovnává s dostupnou literaturou.

Jedinou větší výhradu k celé práci mám k provedení fylogenetických analýz.

- Vytvořené datasey pro fylogenetické analýzy jsou velmi malé a zahrnují pouze ptačí kokcidie. Například u vzorků B6 a B14 z bernešek nelze na základě fylogenetických stromů rozlišit, zda se jedná o rod *Isospora* nebo *Eimeria* (a není možné to zjistit ani pomocí mikroskopie, jelikož oocysty byly nevysporulované). Přidání eimerií parazitujících u jiných zvířat (např. hlodavců, králíků, skotu) do datasetu by mohlo pomoci jejich pozici objasnit.

- Dle mého názoru není příliš užitečné vytvářet a analyzovat konkatenát, je-li k dispozici z obou studovaných genů jen 7 sekvencí (ze 41 sekvencí tvořících daný dataset) společných pro oba geny. Jedná se však o bakalářskou práci, takže v tomto případě jde spíše o poznámku do budoucna.

- V práci mi naopak chybí porovnání topologií BI a ML stromů. Z fylogramů je patrné, že se tyto topologie vzájemně celkem liší, a tak by nebylo na škodu ukázat všech 6 stromečků a výsledky několika větami okomentovat. Jelikož se jedná o bakalářskou práci, nijak to její případný rozsah nezatěžuje.

Závěrem konstatuji, že práce Veroniky Žánové splňuje (spíše převyšuje) požadavky kladené na bakalářské práce na PŘF JU. I přes zdánlivě početné výhrady ji považuji za velmi kvalitní a jednoznačně ji **doporučuji** k obhajobě, prozatím hodnotím známkou výborně.

K práci mám následující dotazy:

Dotazy k metodice:

- Proč není příprava Sheatherova roztoku přepočítána na 500g nebo 1000g cukru, ale právě na 329g cukru? Byl přidán fenol (7,29g) opravdu v pevném stavu? Jaký ethanol je používán při barvení dle Miláčka a Vítovce a jaký při fenol-chloroformové extrakci?
- V podkapitole Odběr a skladování vzorků jsou mnohdy uvedeny dva rozdílné postupy (například: „vzorek trusu byl přenesen pomocí očištěné pinzety nebo vatové tyčinky do zip-lock sáčku nebo do mikrozkušavky. Vzorek byl skladován buď v nativním stavu nebo ve 4% roztoku dichromanu draselného“). Kdy jste použila první a kdy druhé, a proč právě takto (tj. buď a nebo)?
- Víte ještě i o jiných výhodách dichromanu draselného pro konzervaci protist?

Dotaz k výsledkům:

- V kapitole 4.1. uvádíte, že přítomnost kokcií byla prokázána pouze u 4 ze 12 vyšetřovaných druhů ptáků. Čím si vysvětlujete negativitu ostatních vyšetřovaných druhů ptáků? Byly z nich v minulosti už nějaké kokcie popsány (i mimo Svalbard)? Byly u daných druhů ptáků popsány nějaké kryptosporidie (opět tím myslím dané druhy ptáků, bez vazby na Svalbard)?

Dotazy k fylogenetice:

- Jakým způsobem byl vybrán evoluční model pro ML a BI analýzy?
- V popisích u všech fylogramů uvádíte, že „Číselné hodnoty u uzlů odpovídají hodnotám bootstrapu (hodnota z ML analýzy/hodnota z Bayesovské analýzy)“. U BI analýzy však neexistují bootstrapy. O jakou hodnotu se zde tedy jedná?
- Prosím o přidání několika zástupců eimerií hlodavců, králíků, skotu a dalších savců do fylogenetických stromů 18S i COI a prezentaci těchto stromů na obhajobě. Stačí ML stromy, konkatenát dělat nemusíte. Mají poté kokcie bernešek jasnější pozici? Změnila se nějak i celková topologie?

V Českých Budějovicích, 12. ledna 2021

MVDr. Jana Kvičarová, Ph.D.

