

Posudek oponenta magisterské diplomové práce

Oponent: RNDr. Mgr. Tomáš Erban, Ph.D.

Kmenová organizace oponenta: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha 6-Ruzyně

<https://orcid.org/0000-0003-1730-779X>

Jméno a příjmení uchazečky: Bc. Daniela Prušáková

Škola: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích - Přírodovědecká fakulta

Název práce: Studium sezónních vlivů na základní fyziologické parametry včely medonosné (*Apis mellifera*)

Školitelka: RNDr. Radmila Čapková Frydrychová, Ph.D.

Magisterská diplomová práce je zaměřena na studium sezónních vlivů na fyziologické parametry včely medonosné. Cílem práce bylo sledovat změny tukového tělesa v průběhu roku, a to pomocí několika vybraných parametrů, jako jsou cytologické a nutriční změny a změny na úrovni transkripce.

Jelikož je včela medonosná typickým a notoricky známým zástupcem eusociálního hmyzu, věnuje se autorka v textu správně zčásti problematice eusociality. Navazuje také sekce, kde je dáno do souvislosti, že eusociální uspořádání souvisí s fyziologií společenstva. Jako důležitou ve vztahu k analýzám lze vnímat sekci, kde se autorka věnuje rolím včel v úlu, což shrnuje pod termín časový polyetismus. Role včelích dělnic v úlu souvisí s jejich stářím a odráží se ve fyziologických parametrech včel. Toho bylo využito v praktické části. Analýzy totiž byly zaměřeny na porovnávání vybraných parametrů mezi dělnicemi, které zastávají ve včelstvu různé funkce. Jednalo se o krmičky, létavky a zimující včely. V literárním úvodu jsou diskutovány také signalizační dráhy, které souvisí s provedenými analýzami a k nim se váže část z otázek směrem k aspirantce.

Z metodického hlediska je diplomová práce dosti bohatá.

Aspirantka zvládla histologické techniky pro sledování změn parametrů v tukovém tělísku světelnou a fluorescenční mikroskopií. Pro detailnější pohled byla zařazena také transmisní elektronová mikroskopie (TEM). Dále byly v tukovém tělísku měřeny parametry cukrů, bílkovin, lipidů a glykogenu. Živiny byly měřeny také v hemolymfě včel, a to z důvodu potřeby zodpovědění odpovědi na to, zda živiny v tukovém tělísku nezdradlí živiny v hemolymfě. Další technika představovala analýzu na úrovni transkripce, bylo tedy pracováno s RNA z tukového tělíska včel. Bylo využito vysokokapacitního sekvenování na Illumina NextSeq 500.

Histologické výsledky indikovaly zajímavé rozdíly v buňkách tukového tělíska v závislosti na typu analyzované včely. Výsledky ukázaly také rozdílnou velikost tukového tělíska pro zimní včely (střed a periferie zimního chomáče), mladušky i létavky. Taktéž byly pozorovány i významné rozdíly mezi různými vzorky včel. I zde je zajímavý výsledný velmi významný rozdíl mezi zimními včelami z periferie a středu chomáče. Rozdíly mezi těmito skupinami byly pozorovatelné také v případě hemolymfy. Nakonec byly pozorované také velmi značné rozdíly mezi transkriptomy. Zimní včely byly velmi rozdílné od dvou skupin letních včel (mladuška a létavka). Létavky a mladušky od sebe tolik rozdílný celkový transkriptom neměly. Na základě analýzy byly vybrány nejvíce rozdílné markery, které by mohly být v budoucnu studovány jako klíčové pro tři porovnávané typy vzorků: krmičky, létavky a zimující včely. Také byly vybrány transkripty, které by měly souviset s dlouhověkostí. Z transkriptomických výsledků byly nalezeny souvislosti s fakty uvedenými v literárním úvodu.

Získané výsledky poskytly abundantní zdroj pro zajímavou diskusi. V té jsou diskutovány významné rozdíly vlivem sezóny. Možná by stálo za zvážení zařadit explicitně termín *vliv ročního období*, pro případ, kdy jsou jako nejvýznamnější porovnávány „zimní“ tedy dlouhověké včely a „letní“ tedy krátkověké včely.

Závěrečné hodnocení:

Rozsah diplomové práce a její správnost hodnotím výborně, nemám závažnějších připomínek. Narazil jsem pouze na několik překlepů, které uvádím na konci posudku. Ty však vynikající kvalitu práce nesnižují.

Diplomová práce je nejen čtivá, ale obsahuje i vcelku zajímavé vědecké výsledky, které otvírají možnosti novému výzkumu do budoucna.

Bylo mi potěšením oponovat tuto vsutku vysoce kvalitní práci, kterou hodnotím nejlepším možným stupněm, tedy výborně.

Otázky:

1) Včela medonosná je prakticky nejznámějším zástupcem eusociálního hmyzu. Život ve společenstvu přináší výhody. Můžete jmenovat důležité nevýhody života v tak velmi početném společenstvu, jako je tomu v případě včely medonosné?

2) V práci se věnujete vitelogeninu. Tento protein je zajímavý tím, že plní více funkcí. Jedna z klíčových funkcí je u dlouhověkých včel. Do jaké míry je podobná hladina vitelogeninu v hemolymfě „zimních“ (dlouhověkých) včel s hladinou vitelogeninu v hemolymfě matek? Jaké je procentuální zastoupení vitelogeninu v hemolymfě u matek a dlouhověkých dělnic? Myslíte, že se z hlediska hladiny vitelogeninu a případně dalších proteinů v hemolymfě mohou podobat „zimní“ včely matkám? Platí nepřímá úměra vysoké hladiny vitelogeninu oproti nízké hladině juvenilního hormonu také u včelích matek?

3) Z Vaší práce vyplývá možné propojení AKT/mTOR resp. PI3K/AKT/mTOR dráhy s dlouhověkostí včel. Hyperaktivní PI3K/AKT/mTOR se vyznačuje redukovanou apoptózou a logicky naopak zvýšenou proliferací. Nemůže tato aktivace prostě souviset se zvýšeným dělením buněk u studovaných stádií včel? Např. mladuška prochází značnými vývojovými změnami, a proto jistě dochází k proliferaci.

4) Z mého pohledu jsou velmi zajímavá zjištění ohledně rozdílů mezi včelami na pokraji a uvnitř chomáče zimujících včel. Pokud se podíváme do praktického důsledku: Myslíte, že špatně zazimované včely (špatné rozmístění zásobních plástů vs obsedání rámků) by mohly uhynout z toho důvodu, že „vyčerpané“ včely, které si své odpracovaly uvnitř chomáče, nedokážou načerpat energii?

5) Dovolím si otázku ohledně vědecké budoucnosti, tj. budete v této velmi zajímavé práci pokračovat navazujícím doktorským studiem?

Drobné nedostatky, překlepy:

Strana 3: “Ke kastovní diferenciaci neboli k vývoji jednotlivých včelích kast, v průběhu larválního vývoje.” – neúplná věta, chybí “dochází”?

Strana 3: volivňují

Strana 7: Detailnější srovnání mladušek k létavkám, z pohledu

Strana 9: Poté jejich objem klesá, což se spojeno

Strana 11: Jedná se většinu o komponenty

Strana 26: Tukové těleso zimních dělnic má stejně jako to létavek také nápadné ...