

Oponentský posudek na bakalářskou práci Adély Jeslíňkové

Analýza rozptylu ve velikosti Varroa destructor na různých stanovištích chovu včely medonosné

Jedním z výzkumných projektů Laboratoře včelí biologie vedenou autorčinou školitelkou doktorkou Alenou Bruce je analýza vztahu mezi varroarezistencí včelstev a teplotou, při níž se včelí plody vyvíjí. Bakalářská práce Adély Jeslíňkové přispívá k tomuto projektu analýzou velikosti roztočů ve vybraných varroarezistentních včelstvech České republiky, Anglie, Švédska a Francie. Opodstatnění této analýzy tkví v teorii, že velikost organismu negativně koreluje se vzrůstající teplotou, při které se vyvíjí. Údaj o velikosti roztoče by se tedy dal potenciálně využít jako ukazatel pro selekci varroarezistentních včelstev.

Práce je standardně členěná a celkem čítá 37 stran a zhruba 30 citací. Začíná desetistránkovým **Úvodem**, ve kterém autorka sumarizuje poznatky o životním cyklu *Varroa destructor* a přináší dostatek informací k pochopení autorčiny práce. Úvod končí vysvětlením hypotézy laboratoře a tak plynule navazuje na **Cíle práce**, které jsou přehledně a jasně definované.

Kapitola **Materiály a metody** popisuje zhotovení preparátů, analýzu velikosti a hmotnosti, průběh inkubačního experimentu a procedury vedoucí ke stanovení virové nálože metodou RT-qPCR. Popis těchto metod je dostatečný pro replikovatelnost dat, avšak neobsahuje přílišné detaily. Co se týče analýzy velikosti roztoče, velikost jedinců byla měřena v pixelech. Kdyby byly fotky focené s měřítkem, bylo by jednoduché získat údaj v μm^2 , což se dá považovat za biologicky relevantnější jednotku. V této kapitole je uveden i postup gelové elektroforézy, ale v oddílu Výsledky chybí o elektroforéze jakákoli zmínka. Metody by ještě mohly být doplněny o kapitolu 3.4 Statistická analýza.

Z kapitoly **Výsledky** vidíme, že autorka optimalizovala metodu hodnocení velikosti a suché hmotnosti roztoče, změřila velikosti roztočů z běžných a varroarezistentních včelstev a termosolárních úlů a experimentálně ověřila hypotézu práce, že včely vyvíjející se ve zvýšené teplotě mají nižší nálož viru.

Na základě výsledků můžeme s poměrně velkou jistotou říci, že roztoči varroarezistentních včelstev jsou menší v porovnání s roztoči odebraných z varroasenzitivních úlů. Podobná redukce velikosti těla byla pozorována i u termosolárních úlů a bylo jí dosaženo i experimentální inkubací vyvíjejících se včel ve zvýšené teplotě, přičemž tyto včely vykazovaly nižší hmotnost i titr viru deformovaných křídel. Objem odvedené práce hodnotím jako naprosto dostatečný. Práce vyniká vysokým množstvím replikátů v jednotlivých grafech, což je jistě velkou výhodou pro psaní případné publikace, jejíž by byla data součástí.

Popisky obrázků v převážné většině případů obsahují veškeré náležitosti, jaké by měl takový popisek mít, avšak u grafů samotných je občas popisek osy x neúplný. Např. v obrázku 11 chybí zmínit státy, ze kterých jsou jednotlivé sloupce získané. V obrázku 9 a 10 chybí popisek, že jsou data sebraná v jednotlivých letech z varroarezistentních včelstev. Vzhledem k tomu, že v „poolovaném“ sloupečku tento údaj je, někdo by se mohl domnívat, že data z jednotlivých let byla získána z varroasenzitivních úlů.

Výsledky práce by mohly do budoucna významně přispět k objasnění nového mechanismu varroarezistence a její poznatky tak mohou být využity pro selekci varroarezistentních včelstev, což považuji v rámci bakalářské práce za velký úspěch.

Ve dvoustránkové **Diskuzi** autorka ukazuje, že si je vědoma nejen výsledků své práce, ale i jejích limitací (např. že by bylo mnohem vhodnější použít jako kontrolní roztoče sebrané z včelstev ze země, ze které byly sebrány i roztoči z včelstev varroarezistentních). Dále se autorka vyjadřuje k budoucím plánovaným sběrům dat a zvažuje možnou příčinu rozptylu ve velikosti roztočů v průběhu roku. Navrhuje i vysvětlení pozorovaného nižšího titru viru u včel vyvíjejících se za zvýšené teploty.

Přestože práce neobsahuje přílišné množství překlepů a nesrozumitelných vět, jistě by prospělo si text po sobě ještě jednou pozorně přečíst. Např. bych doporučila sjednotit psaní slova „varroa“ (v textu se vyskytuje jako

Varroa i varroa, objevuje se i latinský název roztoče bez kurzívy) nebo odsazovat první odstavce jednotlivých oddílů. V úvodu práce je několikrát zmíněno, že některé vzorky pocházely z Norska, i když ve výsledcích je pak uváděno Švédsko. V textu chybí odkazy na tabulky a jich popis je umístěn pod tabulkou, nikoli nad. Pokud byla zavedena zkratka VSH, měla by být v textu používána na všech místech. Pokud je citace práce součástí věty (např. „..., jak naznačovala i práce (Yevstafieva, 2020)“, citace by měla být uvedena např. jako „..., jak naznačovala i práce Yevstafievy a kolektivu (Yevstafieva, 2020)“). V seznamu literatury bohužel chybí poměrně významné množství použitých citací. I přes tyto drobné výtky práce splňuje veškeré formální nároky na bakalářskou práci.

Otázky:

Na straně 1 je zmíněno, že roztoč sají tukové těleso včely. Existují ale práce, které tvrdí, že sají hemolymfu. Kde je tedy pravda a jak by se toto dalo testovat? Co o této otázce soudí autorka?

Na straně 3 autorka zmiňuje, že se virová onemocnění včelstev diagnostikují detekcí antigenů a protilátek. Jaké protilátky měla autorka na mysli?

Na straně 13 autorka popisuje, že jeden preparát obsahoval 23 roztočů. Kolik včel bylo zhruba potřeba k získání takového množství?

Pro měření virové nálože byla použita metoda RT-qPCR, přičemž k izolaci RNA bylo použito 25 včel. Proč bylo použito tolik jedinců? Je vir obtížně detekovatelný i takto senzitivní metodou? Je známo, ve kterých orgánech se vir většinou vyskytuje?

Pro inkubační experiment byl z úlu odebrán rámeček s čerstvě zavíčkovaným plodem napadeným roztočem. Jak bylo zjištěno, že je plod napadený? Byl rámeček monitorován ještě před zavíčkováním?

Práci by obohatilo měření virové nálože z roztočů odebraných z varroarezistentních chovů. V práci se také zmiňuje, že za vyšší odolnost včel vůči viru možná může spíše tolerance viru, než resistance vůči roztoči. Odhaduje tedy autorka, že bude virová nálož u varroarezistentních včelstev nižší nebo srovnatelná s varroasenzitivní kontrolou?

V diskuzi autorka zmiňuje, že „příčinný vztah mezi teplotou plodového hnízda a velikostí roztočů je třeba dále ověřit“. Má autorka nějakou hypotézu, jak by mohla mít teplota při vývoji vliv na velikost jedince na molekulární úrovni? Je známa podstata TSR (temperature size rule)? Může v odolnosti vůči viru hrát roli i menší velikost roztoče či jeho zvýšená mortalita, kterou ukazuje Le Conte a kolektiv (Le Conte, 1990) nebo se autorka domnívá, že je to způsobené čistě sníženou fertilitou roztoče?

Práci hodnotím jako zdařilou a doporučuji ji k obhajobě s **hodnocením 1**.

V Českých Budějovicích dne 12.1.2023,

Mgr. Gabriela Krejčová