



Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Veroniky Žánové

Sledování proměnlivosti diverzity myxozoi na toku řeky Malše analýzou environmentální DNA

V předložené diplomové práci se Bc. Veronika Žánová zabývá problematikou diverzity myxozoi pomocí analýz environmentální DNA. Práce představuje aktuální téma s využitím moderních metod.

Po formální stránce je práce jasně a přehledně strukturována a splňuje běžnou formu (Úvod a Literární rešerše, Cíle, Metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr a Použité literární zdroje).

V úvodu práce autorka podává ucelený přehled o myxozoiích se zaměřením na jejich biologii, fylogenezi a diverzitu, dále následuje kapitola o eDNA a jejím využití, a kapitola charakterizující studovanou jihočeskou řeku Malši. Všechny kapitoly na sebe logicky navazují, jsou srozumitelné, čtivé, a neobsahují zbytečné informace.

Cíle práce jsou jasně definovány, až na bod 4, který je poměrně nesrozumitelně formulován.

Získané výsledky jsou sepsány v logické posloupnosti, a jsou shrnuty v jednotlivých kapitolách odpovídajících provedeným analýzám. Výsledky jsou vhodně doplněny jak komentovaným textem, tak obrazovou dokumentací. Po grafické stránce obsahuje text 17 obrázků a 9 tabulek, které jsou většinou dobře vysvětleny, ale u některých obrázků bych se přiklápěla k větším/čitelnějším formátům. Například kvalita (rozlišení) fylogenetických stromů na obrázcích 8 a 9 je na tisku nevalná, přestože stromy nejsou zase až tak příliš velké; nicméně v elektronické verzi při jejich zvětšení je kvalita pěkná. Velmi oceňuji rozdělení stromů na na *Myxobolus* a na sladkovodní myxosporea. Velmi se mi líbily také obrázky č. 10, 11 a 14.

Práce bohužel obsahuje poměrně značné množství překlepů a pravopisných chyb (na každé straně textu minimálně 5, většinou však více), které jsou úplně zbytečné a zbytečně kazí dojem z celé práce; stačilo by, kdyby si studentka po sobě práci přečetla.

V textu práce by bylo vhodné používat citace jednotně, tj. například „Hudson et al. 2006“. Není důvod tento formát citací občas prokládat nelogickým „ve studii od Hartikainen a kolegů (2016)“, „provedené Lisnerovou a jejími kolegy publikované v roce 2003“ apod., což působí dosti rušivým dojmem.

Pokud je uveden celý latinský název druhu, dále v textu se již uvádí zkratkou názvu rodu. Například „*Tetracapsuloides bryosalmonae*“ v Literární rešerši na str. 7.

Po přečtení úvodu a literární rešerše, ze kterých jsem byla nadšená, trochu následovalo rozčarování v podobě kapitol Metodika a Výsledky. Zejména v metodice se některé pasáže (např. systém použití barkodů nebo informace ohledně PCR) opakují, použité postupy jsou mnohdy zcela nesrozumitelně popsány, nebo jsou zde uvedeny detaily, přičemž hlavní fakta chybí. Naopak by bylo vhodné uvést, jak dlouhý úsek 18S rDNA amplifikují zvolené primery, jaká byla použita polymeráza, či kolika procentní gel na ELFO.



Diskuze bývá často slabinou řady prací, avšak tato práce je výjimkou. Po ne moc zdařilé metodice s výsledky následuje zcela bravurní diskuse. Diskuze je psána na úctyhodných devíti stranách, kde studentka porovnává vlastní získané výsledky s daty publikovanými v dostupné literatuře. Otázky, které mě napadly v průběhu pročítání kapitoly Výsledky, a na které jsem se chtěla ptát, zde byly plně zodpovězeny.

Závěrem svého posudku konstatuji, že studentka odvedla velký kus práce a osvojila si celou řadu metodických přístupů až po bioinformatické zpracování NGS dat. Práce ukázala zajímavé trendy týkající se diverzity myxozoi v naší řece Malši a věřím, že bude dobrým podkladem pro vědeckou publikaci. **Práci doporučuji k obhajobě.** Hodnocení práce si ponechám otevřené dle výsledku obhajoby a následné diskuze, nicméně již teď bych se přiklonila spíše k hodnocení výborně.

K předložené práci mám následující dotazy:

- 1) Z jakého důvodu byla část eDNA vzorků izolována pomocí komerčního kitu, a jiná část postupem dle Sellers et al. (2018)? Byla takto rozdělena například izolace vzorků z vody a ze sedimentu? Mohl mít tento postup nějaký vliv na výsledná data?
- 2) Dle jakého klíče jste postupovala při poolování vzorků? Byla předtím proměřena jejich koncentrace a objem jednotlivých vzorků do poolů pak přepočítán dle změřené koncentrace? Co znamená tvrzení, že pooly byly vytvořeny “smícháním 4-5 μ l ze všech vzorků eDNA náležící konkrétní lokalitě”? Kdy byly použity 4 μ l a kdy 5 μ l? To samé o pár odstavců níže, kde se zabýváte poolováním pozitivních PCR produktů. Na jakém základě byly dané pooly vytvořeny? Zde také uvádíte, že “všechny pozitivní PCR produkty byly poté zpoolovány do různých knihoven”. Až o několik stran dál se jakoby náhodou dozvíme, že knihoven bylo celkem 6. Jakým způsobem byly vzorky do knihoven vybírány, a proč byly rozděleny právě do šesti knihoven?
- 3) V práci uvádíte, že “během PCR reakce může docházet k tvorbě tzv. chimér”. Co je to taková chiméra?
- 4) Na obrázku č. 6 ukazujete fotografii gelu s pozitivními výsledky PCR reakce. Je vzorek označený “Mal” také pozitivní, případně co z něj lze usuzovat?
- 5) Na obr. č. 8 a v doprovodném textu se zabýváte “*Myxobolus* subclade V, VII, VIII”. Podle čeho byly tyto subclades nazvány, a co se stalo se subclade I-IV a VI?
- 6) Jsou druhy rodu *Myxobolus*, které mají afinitu k nervové soustavě ryb, pro dané rybí hostitele patogenní?
- 7) Z jakého důvodu bylo vzorkování provedeno v každém roce v jiných měsících? Nedávalo by větší smysl provést v obou sezónách vzorkování ve stejných měsících, abyste měli porovnání? Proč v červnu 2021 byl sbírán pouze sediment, a ne voda? A



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

na závěr obligátní otázka – účastnila se studentka osobně sběrů materiálu pro svoji práci?

V Českých Budějovicích, 19.5. 2023

MVDr. Jana Kvičerová, Ph.D.