

Posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Veroniky Žánové
*Sledování proměnlivosti diverzity myxozoi na toku řeky Malše analýzou
environmentální DNA*

Jak už jsme slyšeli během obhajoby, v předkládané práci o standardním členění i odpovídajícím rozsahu se autorka pokusila popsat diverzitu rybomerek podél toku řeky Malše pomocí metabárkodování V4 variabilní domény malé ribozomální podjednotky s využitím vysokokapacitního sekvenování technologií Illumina. Ačkoliv je tato metodika již nějakou dobu úspěšně používána pro celou řadu účelů a v posledním desetiletí dramaticky změnila naši představu o druhové rozmanitosti prokaryot a prvoků, jedná se o jednu z průkopnických prací v rámci této skupiny parazitů, a za to je třeba řešitelku a školitele pochválit. Práce je psána povětšinou velmi čtivou, věcnou a srozumitelnou češtinou. Spíše než překlady občas zarazí neobratná spojení či anglismy (např. *nukleární DNA* str. 9), ale až do Diskuze se vyskytují jen výjimečně.

Úvod je poměrně obsažný a čtivou formou seznamuje čtenáře jak s biologií rybomerek, tak s konceptem environmentální DNA a amplikonového sekvenování. Cíle jsou formulované trochu nešťastně. Podle mě cíle 1 až 3 popisují v zásadě totéž, akorát trochu jinými slovy. Metodika je také poměrně obsažná, pouze v některých případech mi chybí zdůvodnění nastavení určitých parametrů (proč byla použita hranice 97% pro tvorbu OTU?, proč byly pouze sekvence s četností 20 a více použity pro fylogenetické analýzy?, 4. otázka níže). Na druhou stranu velmi kladně hodnotím přehledná schémata (Obr. 4. a 5.) shrnující použité metodické postupy.

Výsledky jsou poměrně podrobné a místy dost nepřehledné (kapitoly 5.3 a 5.4.3). Na druhou stranu, chválím za fylogenetické stromy (obr. 8 až 10), které jsou téměř v publikační kvalitě, což u diplomových prací bývá spíše výjimkou. V kapitole 5.4.5. se autorka pokusila statisticky vyhodnotit rozdíly v biodiverzitě rybomerek mezi horním a dolním tokem Malše pomocí alfa statistik. Je zmíněno zamítnutí či nezamítnutí nulových hypotéz, avšak jejich definice chybí (a měly by být zmíněny i v cílech práce). Taky myslím, že zajímavější by asi byly beta statistiky.

Diskuze se mi svými charakterem a důsledností docela líbila. Autorka ukázala jak schopnost pracovat s literaturou, tak ochotu přemýšlet o možných příčinách pozorovaných výsledků. Dojem trochu kazí narůstající počet neobratných, vágních nebo někde i protiřečících si výrazů. Asi nemá cenu je tady uvádět, ale rád poskytnu okomentovanou pdf verzi. Hlavní výsledky jsou stručně a výstižně shrnuty ve čtyřech bodech v závěrečné kapitole Závěry.

Kromě některých výše zmíněných drobností bych při obhajobě rád slyšel odpověď na následující otázky:

1. Existuje alternativní metoda pro tvorbu OTU. Jaké jsou její výhody a nevýhody při porovnání se shlukováním na základě podobnosti?
2. Zkoušela autorka alternativní práh podobnosti pro tvorbu OTU?
3. Proč nebyly zároveň vytvořeny ASV a výsledky porovnány s OTU?

4. Jaký program byl použit pro tvorbu alignmentu? Byl alignment krácen pouze na V4 doménu, nebo byly již dostupné sekvence ponechány v původní délce? Jaká byla vlastně celková délka matice?

5. str. 29 Autorka zmiňuje jedno OTU shodné s druhem popsáním z kapra? Jedná se o sekвени z horního toku? Pokud ano, jak si to autorka vysvětluje?

6. Je diverzita rybomerek ve studovaných vzorcích saturována? Tzn. došlo by při větší hloubce sekvenování k nárůstu OTU?

7. Na str. 47 mě zaujalo tvrzení: *98 % získaných OTUs se neshodovalo s žádnými dříve popsánymi sekvencemi*. Mohla by to autorka blíže rozvést? Znamená to, že jde o nové druhy?

I když mám k předkládané práci dílčí výhrady, je určitě kvalitní a zasluhuje si být úspěšně obhájena. Množství prezentované práce, způsob prezentace a interpretace výsledků je určitě na nadprůměrné úrovni, a pokud nedojde k nějaké katastrofě během obhajoby, kloním se k nejvyššímu hodnocení.

V Českých Budějovicích 19. 5. 2023

Aleš Horák