

Oponentský posudek na diplomovou práci.

Název: Střevní paraziti v archeologickém materiálu ze středověku

Autor práce: Bc. Pavlína Bruzlová

Jméno oponenta: RNDr. Dana Květoňová

Předkládaná práce je klasicky členěná. Obsahuje tyto hlavní kapitoly: Úvod, Cíle práce, Použité materiály a metody, Výsledky, Diskuzi, Závěr a Seznam použité literatury.

Cílem práce bylo nalézt a identifikovat parazity v paleontologických nebo archeologických materiálech jak mikroskopickými technikami, tak především molekulárně biologickými technikami, které umožňují pracovat s materiálem s částečně degradovanou DNA.

Úvodní kapitola je velmi pěkně a srozumitelně zpracovaná s minimem překlepů a chyb. Cíle práce jsou jasné a přesně formulovány.

Drobné výhrady mám ke kapitole Použité materiály a metody. V předpisu pro izolaci parazitární DNA je lépe užívat jednotku tíhového zrychlení pro jednoznačné určení centrifugace než otáčky za minutu bez upřesnění poloměru použité centrifugy. Tato poznámka platí i pro postupy flotační a sedimentační. Dále autorka uvádí, že objem reakční směsi pro každou pcr reakci byl 25 μ l, ale celkový objem primární i sekundární pcr reakční směsi v tabulce pro *Enterocytozoon bieneusi* je 20 μ l a objem primární pcr reakční směsi pro *Encephalitozoon intestinalis* je 28 μ l. Dále postrádám odkazy na primery a délky výsledných amplifikovaných produktů.

V oddílu 3.3.7. Elektroforéza není uvedeno složení použitého TAE pufru. Výsledky sedimentačních a flotačních vyšetření jsou přehledně zpracovány v tabulkách.

Mám pouze výhradu ke značení sedimentaci S1 a S2, tyto zkratky nejsou vysvětleny a není tedy jasné, zda se jedná o opakovanou sedimentační analýzu nebo dvě různé sedimentace.

Práce je velmi čtivá, psaná hezkou češtinou, opatřená pěknou fotografickou dokumentací. Cíle práce byly splněny, téma je zpracováno přehledně. Diskuze je srozumitelná a dostačující. Použité literární zdroje jsou korektně citovány. Myslím si, že autorka mohla do diplomové práce zařadit i seznam zkratk.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě
Práci přes drobné nedostatky a chyby v metodické části hodnotím výborně.

Otázky na autorku:

Byly zaslány tři vzorky *Trichuris trichiura* na sekvenci. Zajímalo by mě, jaké výsledky jste po sekvenaci obdržela?

Připravovala jste vzorky na sekvenci osobně? Pokud ano, proč jste neuvedla přípravu pro sekvenaci v kapitole použité materiály a metody?

Prosím o vysvětlení zkratk S1, S2 ve výsledných tabulkách sedimentačních a flotačních vyšetření.

V Českých Budějovicích 21.5.2015


RNDr. Dana Květoňová

Oponentský posudek pro diplomovou práci Bc. Pavlína Bruzlové " **Střevní paraziti v archeologickém materiálu ze středověku** "

Předložená diplomová práce je zaměřena na výskyt parazitických organismů ve vzorcích získaných ze středověkých hrobů a vrtů ve dvou lokalitách České republiky.

Úvod práce je napsán srozumitelně a výstižně. Text je členěn do kapitol vyplývajících z logiky obsahu. Autorka v úvodní části využívá starší, ale i novější literární zdroje. Čtenář je zde seznámen s běžně užívanými technikami paleoparazitologie. Diplomantka se v další části úvodu zaměřila na obecnou charakteristiku jednotlivých skupin parazitů a podrobný popis jejich výskytu v archeologických materiálech ve světě i doma.

Práce si klade za cíl vyšetřit různými metodami vzorky odebrané ze dvou lokalit a získaná data porovnat s literárními údaji. Dalším cílem byla identifikace DNA jednobuněčných parazitů pomocí molekulárních technik.

V části "Materiál" je v úvodu podrobně zpracován popis zkoumaných lokalit, odběr vzorků a jejich skladování. Text je doplněn tabulkami zpracovávaných vzorků, mapami vybraných lokalit a ilustračními fotografiemi zkoumaných hrobů.

V metodické části jsou přesné pracovní postupy koprologických metod, izolace DNA, přípravy PCR reakce a elektroforézy.

V první části výsledků jsou v přehledných tabulkách uvedeny nálezy jednotlivých parazitů ze studovaných lokalit ve vztahu k použitým metodám. Tato část je doplněna bohatou a kvalitní fotodokumentací.

Metodou PCR bylo testováno dvacet vzorků z celkových 54 vzorků. I když v textu nejsou fakticky uvedeny nálezy z lokality v Praze, pozorný čtenář si je jistě v přehledné tabulce vyhledá sám.

V části diskuze autorka porovnává své poznatky s daty v literatuře. Vysvětluje poměrně chudé nálezy během svého výzkumu. Ve světle zahraničních nálezů vyplývá, že ani jiní autoři nejsou obvykle ve svých nálezech úspěšnější a spektrum nalezených helmintů je obdobné.

Připomínky a dotazy:

V části **Úvod** řadíte mezi intestinální jednobuněčné parazity tzv. Protista i skupinu mikrosporidií. Tato skupina je historicky "potížistou" v systematice eukaryotických organismů. Podle novějších studií však již mezi "Protista" řazena nebývá.

Otázka 1.: Dovedla byste tuto skupinu správně zařadit?

V části **Cíle práce** si kladete za cíl identifikaci DNA jednobuněčných parazitů pomocí molekulárních technik. V práci však provádíte PCR detekci *Trichuris trichuria* a mikrosporidií z nichž zjevně hlístice *T. trichuria* ani mikrosporidie Protisty nejsou. Pokud dojde ke změně cílů práce, měla by být tato skutečnost zmíněna.

V části **Materiál** v jednotlivých tabulkách podrobně rozepisujete značení materiálů z obou lokalit. Ovšem rozdělení materiálu do dvou tabulek "Vzorky zpracované na pylovou analýzu" a "Pevný materiál sondy" a použití stejných číselných kódů 10/7, 10/8 a 10/9 je mírně matoucí. Z textu pak pro laika v archeoparazitologii přesně nevyplývá, jak souvisí pylová analýza s vyšetřením na parazity.

Otázka 2.: Jde o stejné nebo zcela odlišné techniky zpracování? Mohla byste toto blíže vysvětlit?

V části **Metody** neuvádíte literární zdroje k použité PCR a primerům. "Program pro PCR 52°C " jistě nebude kompletní program PCR, ale pouze annealingová teplota.

Otázka 3.: Ze které práce jste čerpala při zavádění specifické PCR?

Otázka 4.: Je všeobecně známo, že mezi nejrozšířenější helmintózy současnosti patří škrkavka *A. lumbricoides*. Proč byl pro PCR analýzu vybrán v literatuře méně často zmiňovaný *E. cuniculi* a ne právě škrkavka?

Tato práce je stylisticky velmi zdařilá a není zatížena množstvím pravopisných chyb a překlepů, které se žádné diplomové jistě práci nevyhnou. Diplomantka zpracovala nemalý soubor unikátních vzorků několika metodami a získala jistě cenné výsledky, které jsou, jak předpokládám, součástí větší studie vhodné k publikaci. Diplomantka také prokázala, že je schopna práce s literaturou, setřídění a srovnání dat a vyvození logických závěrů. Výše uvedené připomínky k práci nepokládám za závažné a po uspokojivém zodpovězení otázek doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě s hodnocením **výborně**.


RNDr. Marie Fialová

V Českých Budějovicích 23. 5. 2015