

## **Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Michala Šímy „Hostitelská specifita, diverzita a distribuce malarických parazitů v kontaktní zóně dvou druhů slavíků“.**

Diplomová práce Bc. Michala Šímy se zabývá výzkumem ptačích krevních parazitů ze skupiny Haemosporida. V hybridní zóně dvou blízkce příbuzných druhů slavíků, slavíka obecného (*Luscinia megarhynchos*) a slavíka tmavého (*L. luscinia*), zjišťoval genetickou diverzitu a celkovou prevalenci těchto parazitů. Tyto parametry srovnával jednak mezi hostitelskými druhy a jejich hybridy, a dále mezi lokalitami sympatrie a blízké a vzdálené alopatrie v rámci obou druhů slavíků.

Michal mohl využít materiál, který byl nasbíráán v rámci genetického výzkumu hybridní zóny slavíků prováděného týmem Radky Reifové v nedávných letech. Byl tak sice ochuzen o dobrodružství spojené s odchytem slavíků a odběry krve, ale na druhou stranu tak měl dostatek času, aby precizně zvládl všechny cíle své diplomové práce.

Pokud mohu posoudit, Michal dokonale ovládl všechny potřebné metody molekulární biologie. Soudím tak minimálně podle toho, že o těchto metodách dokáže referovat srozumitelně a jednoduše tak, že se v práci orientuje i biolog, pro kterého není molekulární biologie denním chlebem. Kromě metody nested PCR citlivě detekující DNA tří sledovaných rodů parazitů používal i kvantitativní PCR pro určení míry parazitémie, přičemž primery pro amplifikaci si sám navrhoval. Pro ilustraci příbuzenských vztahů mezi nalezenými liniemi sestavil fylogenetické stromy pro všechny přítomné rody hemosporid. Všechny výsledky jsou přehledně prezentované, v rozumné míře je použito grafů a tabulek a za velmi precizní považuji také statistickou analýzu veškerých výsledků. Literární přehled a diskuze výsledků svědčí o tom, že Michal do hloubky prostudoval veškerou relevantní literaturu a dokázal fundovaně zhodnotit klady i zápory předchozích studií a kriticky interpretovat své vlastní výsledky. Ačkoliv Michal nakonec nezjistil jasný vliv kontaktní zóny na rozšíření sledovaných parazitů, jeho diplomová práce přesto přinesla zajímavé a originální výsledky, jako je velký rozdíl v prevalenci hemosporid mezi oběma druhy slavíků v celém jejich hnízdním areálu nebo několik poprvé popsanych genetických linií rodu *Plasmodium* a *Leucocytozoon*.

Po formální stránce má diplomová práce všechny potřebné náležitosti. Při značném rozsahu práce - 130 stran, 107 literárních odkazů - jsem narazila na minimální počet překlepů nebo drobných chyb v citacích literatury. Michal používá dobrou češtinu, vyjadřuje se jasně a srozumitelně, grafická úroveň obrázků, grafů a tabulek je také velice slušná.

.K práci mám několik drobných připomínek a dotazů.

- Na str. 11 mohl být slovní popis hnízdního areálu slavíka tmavého.
- Na str. 48 nesedí text s údaji v tabulce VII.
- U obrázků 25 – 28 bych pro lepší orientaci čtenáře uváděla u názvů genetických linií LULU1 a ROBIN1, že jde o rod *Haemoproteus*.
- V odkazech na literaturu dáváme do závorky rok publikace, pokud není v závorce celý odkaz (např. strana 7 řádek 9 a 10).
- V seznamu literatury jsou občas malé nejednotnosti, které nebudu vyjmenovávat. Jedna za všechny: v textu najdeme odkaz Volf and Horák et al., přičemž navíc v seznamu literatury je táž kniha uvedena jako Horák P., Volf P. et al.

- Metodou srovnávání sekvencí a hledáním dvojitých peaků Michal detekoval smíšené infekce dvou různých linií hemosporid. Byly by touto metodou zjisitelné i vícenásobné infekce?
- Michal díky citlivé metodě detekce odhalil mnoho linií rodu *Plasmodium*, často ve velmi malé prevalenci. Jak sám uvádí v diskusi, naráží zde na problém rozeznání linií, které mohli slavíci náhodně získat v afrických zimovištích a které třeba nejsou schopny dokončit v palearktických hnízdištích svůj vývoj. Michal samozřejmě neměl možnost ověřit tvorbu gametocytů (tedy stádií schopných nakazit přenašeče) na roztěrech z krve a neměl k dispozici ani izoláty z přenašečů. Nepomohlo by ale rozdělení souboru na mladé jedince, kteří ještě neodletěli na zimoviště, a starší kohorty? Linie parazitů detekované u mladých nemigrujících jedinců je možno považovat za linie stabilně přenášené v areálu hnízdiště. Má autor takové údaje k dispozici, případně nezkoušel takovou analýzu dělat?
- Také v případě rodu *Haemoproteus* může docházet k přenosu parazita na slavíky jak v afrických zimovištích, tak v palearktickém hnízdišti. Jelikož u tohoto rodu Michal dělal i kvantitativní analýzu parazitémie, zajímalo by mne, zda nezkoušel srovnat data ze začátku a z konce hnízdní sezóny a odlišit tak, zda k nálezům došlo v zimovišti nebo v hnízdišti? Samozřejmě, pokud měl k tomu příslušná data odchytu jednotlivých ptáků.
- V práci jsem nenašla zmínky o výskytu izolátů jednotlivých genetických linií hemosporid v hmyzích přenašečích. Znamená to, že takovou analýzu zatím nikdo nedělal? Nechystá se Michal ve svém dalším vědeckém životě toto bílé místo zaplnit?

Na závěr mohu s radostí konstatovat, že Bc. Michal Šíma jednoznačně prokázal schopnost samostatné vědecké práce, předložená práce je po všech stránkách kvalitní a doporučuji ji k obhajobě na katedře parazitologie PřF UK.

Mgr. Jovana Sádlová, Ph. D.

V Praze dne 31. 8. 2011