

Oponentský posudek na diplomovou práci Bc. Ludmily Novákové „Diverzita anaerobních nálevníků“

Předkládaná práce se věnuje velmi diverzifikované a velmi významné skupině prvoků. Přestože jsou nálevníci často, podrobně a z různých hledisek studovanou skupinou, ukazuje i tato práce, že jejich diverzita, zejména v (z našeho hlediska) méně obvyklých prostředích, je podchycena velmi nedostatečně. Významným pozitivem práce L. Novákové je to, že pracuje s kulturami prvoků. Sekvence, které získala, tudíž pocházejí z organismů, které je možno charakterizovat i morfologicky, fyziologicky apod., což u environmentálních sekvencí nepřipadá v úvahu.

Literární přehled se věnuje diverzitě, ekologii a metabolismu anaerobních prvoků, obsahuje několik drobnějších nepřesností, opomenutí nebo sporných tvrzení:

„Kortex [...] je [...] podpovrchová struktura.“ (str. 9) – řekl bych, že je to struktura povrchová; zahrnuje i pelikulu.

„Do této třídy patří rod *Trimyema*, ale ne vždy tomu tak bylo.“ (str. 20) – osobně se domnívám, že rod *T.* patří „odjakživa“ na jedno konkrétní místo systému, bez ohledu na to, zda jsme „jeho třídu“ správně rozpoznali či ne. Raději bych zde použil „je řazen“ místo „patří“.

„První zmínka o tomto druhu ...“ – mělo by zde být užito „rodu“.

Mezi skupinami, které jsou typické pro mikrobiální společenstva v trávicí soustavě živočichů, by bylo vhodné uvést i Archaea (str. 25).

Některé pasáže jsou ale problematičtější. Patří k nim třeba poslední dva odstavce kapitoly 2.4.2. „Nálevníci gastrointestinálního traktu“. Nerozumím například, proč uvádí autorka za názvy obou řádů (str. 25 dole) výčet druhů – výčty zde působí „kompletním“ dojmem, ačkoli hned v následujícím odstavci je uvedena celá řada dalších příkladů. Dále si myslím, že když už zde autorka zmiňuje čeledi Amylovoracidae a Polycostidae, měla by je uvést i v systematickém přehledu anaerobních nálevníků na str. 22 – 24. Obě čeledi jsou navíc podle řazeny do řádu Macropodiniida spolu s čeledí Macropodiniidae (viz např. Lynn 2007: *The Ciliated Protozoa* nebo Vďačný *et al.* 2011, *Mol Phyl Evol* 59: 510-522), která je v přehledu uvedena v řádu Entodiniomorpha. Nepřehledný poslední odstavec této kapitoly vůbec působí jako sbírka velmi namátkově, nesystematicky vybraných příkladů. Věta „Kromě těchto živočichů se střevní nálevníci vyskytují i u ryb anebo šimpanzů a goril.“ vzbuzuje dojem, že další, nezmíněné skupiny obratlovců (obojživelníci, plazi) nejsou hostiteli střevních prvoků, což vyvrací už následující oddíl. Nerozumím větě „Nálevníci [v bachoru] produkují aminokyseliny, díky nimž dochází ke zpracování nestravitelných strukturních polysacharidů na lipidy“ (str. 25). Mohla by autorka blíže objasnit, jak produkce aminokyselin přispívá přeměně celulózy na lipidy?

Druhou problematickou pasáží je kapitola 2.5. „Hydrogenosom“. Konkrétně druhý odstavec implikuje některá velmi nejistá tvrzení, např. že bičíkovec *Proteromonas* má hydrogenosom (možná ano, ale zatím to, pokud vím, nevíme). V závěru odstavce nemusí být čtenáři jasné, o kterém ze zmíněných enzymů (PFO / hydrogenáza) je řeč – navíc, když už, měla autorka stručně charakterizovat druhý z těchto enzymů, tj. hydrogenázu, která právě dělá hydrogenosom hydrogenosomem. Co hůř, text nás vede k závěru, že hydrogenosomy obecně, tedy i u nálevníků, obsahují PFO, což ovšem není pravda! Tento oddíl z naznačených důvodů považuji, zejména pro nezasvěcené čtenáře, za matoucí až zavádějící. Nutno dodat, že metabolismus hydrogenosomu nálevníka *Nyctotherus ovalis* je přiblížen v další kapitole, i zde však mám výhradu: ve schématu metabolismu (obr. 8) jsou sice čísla vyznačeny enzymy, které se zde účastní produkce energie (a vodíku), je ale škoda, že v legendě ani v textu nejsou k těmto číslům přiřazena jména těchto enzymů.

Sekundární citace, např. Lynn a Corliss 1991, Cavalier-Smith 2004 (str. 13 resp. 16) a další, nejsou uvedeny v přehledu literatury, kde bych je ovšem rozhodně uvítal. Za vlastním seznamem literatury je sice samostatný oddíl „Sekundární citace“, tam jsou však uvedeny právě prameny, které se samy na výše zmíněné práce odkazují (v tomto případě Baroin-Tourancheau *et al.* 1992 resp. Vd'ačný *et al.* 2010). Tyto prameny jsou přitom již uvedeny v seznamu použité literatury, oddíl „Sekundární citace“ je v této podobě zbytečný.

Další výtka se týká prací se stejným prvním autorem publikovaných ve stejném roce (např. „Vd'ačný *et al.* 2010a“, „Vd'ačný *et al.* 2010b“ – v textu (str. 16) nalezneme i odkaz na „Vd'ačný *et al.* 2010“. Stejně tak „Zhang *et al.* 2010“ nalezneme v textu jak bez dalšího upřesnění (str. 49), tak jako 2010a (str. 65) i jako „2010b“ (str. 20 – poněkud nečekaně dříve než 2010b). V seznamu literatury jsou sice uvedeny dvě práce Vd'ačného resp. Zhanga a spol. z roku 2010, zde však rozlišeny na a/b nejsou, což je matoucí, jakkoli lze předpokládat, že první z dvojice vždy odpovídá práci „2010a“.

Odkaz na internetový zdroj „The Ciliate Resource Archive“ by měl přímo podle homepage být „Lynn 2003 ...“, nikoli „Lynn 2002 ...“. Překvapilo mne, že autorka necituje moderní a obsáhlé dílo „The Ciliated Protozoa“ (Lynn 2007).

V práci jsou na mnoha místech užity formulace, které jsou na hranici neformálních vyjádření a působí při čtení mírně rušivě, např. „Pokud vyšel pozitivní výsledek ...“, „Jakmile nám vyšla nízká koncentrace DNA ...“ (str. 39), „Izolát KLEPAC se nám přiřadil ...“ (str. 53), „Mohlo by se tak dát předejít ...“ (str. 61).

V práci lze nalézt místa s ne zcela vhodným slovosledem, několik překlepů i pár hrubých pravopisných chyb:

„[...] nalezneme i některé zástupce [...]“ (str. 25) – raději „[...] nalezneme některé zástupce i [...]“.

„K její nákaze ...“ (str. 27) – spíše „K nákaze touto chorobou ...“

Ve větě duplicitně použito „na ně“ (str. 37)

„kompetenční“ místo „kompetentní“ (str. 37), „Plagipoylea“ (str. 51) místo „Plagiopylea“

„... skupinu Philasterida ...“ (str. 65) – zde má být „Pleuronematida“

„Epalxella antiquorum“ (legenda obr. 11), „Cyclidium“ (legenda obr. 12) – měla by zde být užitá kurzíva.

Izolát VLADECH je dle legendy zobrazen jak na obr. 15A tak 15J –patrně chybně?

„symbiózy“ (str. 30), „složení reakční směsy“ (tab. 6, 12), ztočil (str. 37), „byla ověřen“, (str. 39),

„outgroup“ (str. 49, 51), „výsledky zcela potvrdili“ (str. 63) apod.

Další formální nedostatky se týkají obrázků: v některých obrázcích (např. obr. 1, 3) je anglický text, takový doporučuji v česky psané práci nahradit textem českým, tak jak to ostatně autorka učinila např. v obr. 2. V odkazu na internetové zdroje obrázků v adrese serveru nemají být za tečkami mezery (např. obr. 6, 7).

Přes uvedené nedostatky musím konstatovat, že práce Bc. L. Novákové přinesla veliké množství zajímavých poznatků, které mohou posloužit jako podklady pro několik odborných publikací. Potenciál práce je veliký, v některých případech je však třeba ho důkladně vytěžit, což si patrně vyžádá další investici vědeckého úsilí.

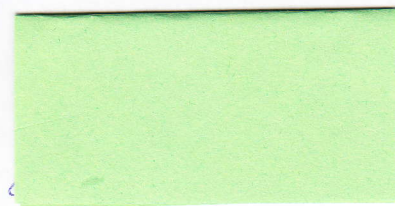
K práci mám několik dotazů:

1. Z jakého důvodu byl vlastně používán program Consense z balíku Phylip k tvorbě „bootstrapovaných“ stromů? Pokud se nepletu, součástí výstupu programu RAxML je soubor RAxML_bipartitions.*, kde jsou bootstrapové hodnoty uvedeny.

2. Řád Armophorida je dle Vašich výsledků (např. obr. 10) parafyletický – je vhodné v budoucnosti tento řád stále považovat za platnou taxonomickou jednotku?
3. Podobně je zjevně problematický rod *Cyclidium* (např. obr. 12) – je vůbec oprávněné (např. i na základě morfologických znaků) tvrdit, že izoláty LARNAKA2N, COORUNG2B nebo LUC3 do tohoto rodu patří? Nemůže jít třeba o první (odhlédneme-li od environmentálních sekvencí) osekvenované zástupce příbuzných rodů?
4. Zajímalo by mne, zda izoláty KLEPAC, EVROS2, VLADECH a SWAN4A prošly podobným kultivačním „testem na anaerobiózu“ jako např. LARNAKA2N, LUC3 aj. (viz str. 42). Jestliže ne, na základě jakých kritérií lze tvrdit, že se jedná o aerobní linie (str. 53)?
5. Na str. 64 uvádíte, že izoláty IND5, CSS, HRAD2 a OLSRYB by mohly patřit do druhu *Metopus palaeformis*. Mohu se zeptat, jaká je procentuální shoda sekvencí SSU rDNA mezi těmito izoláty a již osekvenovanými kmeny *M. palaeformis*?
6. Píšete, že není jasné, jaká salinita vyhovuje izolátu LIVADIAN. Pokusili jste se kultivovat ho na „sladkovodním“ resp. „mořském“ médiu na nichž rostly ostatní izoláty?

Předloženou práci **doporučuji k obhajobě**, v tuto chvíli ji navrhuji hodnotit známkou **velmi dobře**.

9.9.2011. v Českých Budějovicích



Mgr. Martin Kostka, Ph.D.