



Biology Centre, Academy of Sciences

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Oponentský posudek na diplomovou práci Johany Rotterové „**Morfologická a molekulární diverzita volně žijících zástupců čeledi Metopidae a objev nové linie anaerobních nálevníků**“.

Ve své diplomové práci se Jana Rotterová zabývala kultivací, morfologickým popisem a fylogenetickými vztahy nálevníků z anoxických sedimentů. Zvládla řadu metodických postupů od izolace a kultivace nálevníků přes jejich morfologickou dokumentaci v nativu, barvení protargolem (které je metodicky velmi náročné), fluorescentní a elektronovou mikroskopii. Dále kompletní molekulární charakteristiku vedoucí k fylogenetické analýze na základě získaných SSU rDNA.

Práci považuji za velmi zdařilou jak po obsahové tak po formální stránce. Rozsah práce je úctyhodný, téměř 150 stran bez referencí. Chválím i obrazovou dokumentaci nálevníků ze světelného mikroskopu na přehledných přibližně 30 tabulkách. Stejně tak snímky z elektronového mikroskopu jsou kvalitní a doplňují popis nálevníků o ultrastrukturu. Překvapila mě brilantní angličtina. Celkově psaný projev je na vysoké úrovni.

K práci mám jen několik dotazů a připomínek:

Název práce se tvořil po získání všech výsledků anebo byl dopředu dán? Narážím tím na údaj o objevu nové linie anaerobních nálevníků, se kterým se asi dopředu nepočítalo.

V úvodu je velmi užitečná synopse třídy Armophorea včetně označení typových druhů rodu a řady synonym. Možná mohla být sestavena do tabulky, ale v případě magisterské práce, kde se nemusí šetřit místem, to rozhodně nevádí. Chystáte se tento (předpokládám) kompletní seznam druhů zařadit do některé publikace?

V metodice jsem čekal tabulku s kompletním seznamem vzorků včetně negativních s uvedenými lokalitami sběru. Taková tabulka je ve výsledcích, ovšem jen pro pozitivní nálezy. Podílele jste se také aktivně na sběru některých vzorků? Jaké bylo přibližně procento vzorků, které neobsahovaly anoxické nálevníky? Seznam vzorků z různorodých oblastí světa je nicméně úctyhodný a svědčí o dobré spolupráci mezi pracovníky Univerzity Karlovy, kteří sdílejí nasbíraný materiál.

Popisek k tabulce 5 (Materiál a metody) a tabulka sama je lehce zmatená – člověk neznalý PCR by mohl usuzovat, že 31 krát se opakuje pouze čas určený na nasedání primerů. Podobně u tabulky 13.



Biology Centre, Academy of Sciences

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Na některých místech Materiálu a metod jsou informace až příliš podrobné. Tabulky 6 a 7 jsou zbytečné, informace by šla jednoduše zainkorporovat jednou větou do textu. Tabulka 8 je převzata z návodu ke kitu – stačilo by zde odkázat na patřičný manuál. Celkově metody působí trochu „přetabulkovaným“ dojmem, např. na straně 52 – navíc na tabulky po většinu není odkaz v textu. Nadruhou stranu takováto forma metod je určitě užitečná pro ty, kteří budou metody opakovat podle předložené práce.

U popisu fylogenetických metod je dobře popsána BI analýza, ovšem u ML chybí údaj o použitém modelu – jaký model byl zde použit?

Podle jakých kritérií byl fylogenetický strom (třídy Armophorea) rozdělen na jednotlivé linie? Např. sdružení taxonů v linii A11 a jejich odlišení od linie A10.

Sestavení obrazových tabulí muselo dát neskutečnou práci a úsilí a je škoda, že celkový skvělý dojem trochu kazí formální chyby. U popisů k obrazovým tabulím jsou nesprávně používány spojovníky namísto pomlček, nebo často i směs spojovníků a pomlček, viz např. strana 96 a 97; dále i střídání dvojteček, pomlček a chybějícího znaku za slovem „legend“, viz strana 96, 97 a 98. Podobné formální chyby jsou i v textu (ale není jich mnoho), u popisků je ale jejich koncentrace velmi vysoká a proto na tuto skutečnost upozorňuji. Popisek k Fig. 9 – zde je uvedeno, že na obr. A a B je *Bothrostoma undulans*, kmen SUSBARBBO; který druh či kmen je dalších obrázcích (C – Q) není uvedeno.

Drobné nedostatky: izolace plasmidů (str. 53) – není udána koncentrace ampicilinu, pouze objem přidávaný do LB média; LA polymeráza o koncentraci 5U/ml (str. 50) namísto 5/μl; zkratka pro Bayesovskou posterior probability – na straně 62 (fylogeneze Armophorea) užívána BPP a na straně 114 (fylogeneze Muránů) je PP. V celém textu práce nejednotnost používání zkratk pro small subunit ribosomal DNA: 18S rDNA a SSU rDNA.

Diplomová práce Johany Rotterové na mne udělala velký dojem. Přes vznesené připomínky, které jsou opravdu jen málo významné, považuji práci za vynikající a doporučuji ji vřele k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 2. 6. 2015

RNDr. Ivan Fiala, Ph.D.