

# Posudek oponenta diplomové práce

Název práce: **Akumulace těžkých kovů v tkáních bezobratlých živočichů na struskopopílkových odkalištích**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Ekologie

Řešitel: **Bc. Jan Menger**

Školitel: **RNDr. Robert Tropek, PhD.**

Oponent: **RNDr. Petr Heneberg, Ph.D.**

Nepříliš rozsáhlá diplomová práce Br. Mengra se na 52 stranách, včetně dvou příloh, zabývá otázkou, zda 1) typ substrátu má vliv na akumulaci vybraných prvků do tkání blanokřídlých a 2) zda substrát a potravní strategie mají vliv na akumulaci vybraných prvků do tkání blanokřídlých. Formální požadavky na strukturu práce jsou splněny, cíle práce jsou definované. Z metodiky není dostatečně patrné jaké úkony (kromě samotného sepsání práce a podílu na sběru vzorků) diplomant provedl. Metodická část je poměrně rozsáhlá a při provádění samotným studentem by byla velmi náročná, avšak v jednotlivých pasážích metodiky se objevují odkazy na skutečnosti, že jednotlivé významné části metodiky byly provedeny jinými osobami (kapitola Sběr materiálu – „dva až čtyři lidé“, str. 22; kapitola Zpracování vzorků, substrát: mletí v achátových miskách diplomant, navazující práce „byl provedeny pracovníky laboratoře Prof. RNDr. Martina Mihaljeviče CSc.“, str. 23, citováno doslovně i s přítomnými chybami; kapitola Zpracování vzorků, zvířata: „materiál byl determinován Dr. Jakubem Strakou“, následná spektrometrální analýza „Mgr. Stanislavou Matějkovou“, další metodiky mimo statistické analýzy předložená práce neobsahuje). I když se tedy student při zpracovávání své diplomové práce věnoval převážně nebo výhradně statistickým analýzám a sepisování a pomáhal se sběrem materiálu, úroveň zpracování tomu neodpovídá. Nedbalé zpracování práce poněkud ztěžuje vyzdvižení jen několika málo jejich nedostatků anebo naopak předností. Níže přikládám výběr z připomínek, které jsou při čtení práce na první pohled nápadné:

- Abstrakt práce trpí tradičním problémem asociovaným se začínajícími autory, a to nerespektováním standardní struktury abstraktu, kdy 18,5 řádku abstraktu zabírá úvod a metodiky, následují dva řádky výsledků, které jen opakují předchozí čtené práce na téma analýzy těžkých kovů v pískách a popílcích. Teprve poté se čtenář dostane k výsledkům samotné práce, které jsou shrnuty do jediné věty, a které jsou následované standardním závěrem o délce rovněž jedné věty. Na tomto místě by bylo vhodné zdůraznit, že abstrakt slouží pro seznámení se s prací, kterou jsme ještě nečetli. Tedy by měl potenciálního čtenáře upoutat výčtem nejvýznamnějších výsledků dané studie, popřípadě jejich novátorskou interpretací.
- Konstatování typu „Existují však také poznatky o odolnosti vůči vlivům těžkých kovů nebo o jejich účinné detoxikaci.“ (str. 7) by měla být podpořena relevantními referencemi. Obecně, práce s literaturou je v této diplomové práci na akceptovatelné úrovni, chybí však širší povědomí o aktuálních publikacích v oboru, např. o existenci poměrně velmi rozsáhlého souboru prací polského původu (Grzes, Migula a spol. – přitom je v textu citován Wilczek et al. 2005 a Moron et al. 2014) zaměřených na analýzy obsahu těžkých kovů v bezobratlých (zejména mravencích) a jejich vlivu na ně. Mravenci jsou též Aculeata, takže tematicky by zmínka tohoto souboru prací byla jednoznačně na místě.
- Str. 7 – „Těžké kovy obsažené v popílku ho totiž činí potenciálně toxickým pro žahadlové blanokřídlé podobně, jako je tomu například u obratlovců (Hopkins et al. 1998; Rowe et al. 2001; Hopkins et al. 2002; Ganser et al. 2003).“ Bylo by na místě rozlišovat, zda autoři zkoumali čerstvý popílek, který bývá vysoce toxický, anebo popílek ze složišť či odkališť, který mívá naopak vcelku malou toxicitu. Rozdíly spočívají v hydrataci popílku po kontaktu s vodou. Čerstvý i hydratovaný popílek obsahují vysoké množství těžkých kovů, ale materiál uložený na složištích a odkalištích je údajně řádově méně toxický např. pro rostliny. Bylo by zajímavé vědět, zda existují podobná data i pro bezobratlé či obratlovce.
- Str. 9 – bylo by vhodné dohledat si primární reference a nespoléhat se na osobní či písemná sdělení jiných výzkumníků. Snad ze všech alespoň částečně zachovaných písečných přesypů na území Česka existují rozsáhlé zprávy, zčásti publikované, zčásti dostupné jako šedá literatura (výsledky inventarizačních průzkumů).
- Str. 10 – „Původ mají v buňkách rostlin, nebo je do rašeliniště, které dalo vzniknout uhlí, naplavila podzemní voda (Kolář 1969).“ – vzhledem k tomu, jaký vzhled mají na průřezu jednotlivé uhelné sloje, bylo by na místě zvážit, zda popeloviny nemohly vzniknout i naplavením povrchovou vodou – částice jílu jsou vodou unášeny i po dlouhou dobu a jejich následná sedimentace může přispívat ke vzniku anaerobního prostředí nutného ke zuhelnatění pod nimi přítomné organické hmoty.
- Str. 16 – „do tuku se ukládá železo“ – zmínka o železe mne zaujala z toho důvodu, že například člověk nemá žádný mechanismus, kterým by se byl schopen zbavit nadbytečného železa (jediným mechanismem umožňujícím zbavit se většího množství železa je u žen menstruační krvácení, jen drobná množství jsou vylučována jinými způsoby, proto je u mužů tolik hemochromatózy...). Bylo by zajímavé vědět, zda blanokřídlí jsou schopni všechny těžké kovy bez problémů vylučovat nebo zda některý/některé z nich v sobě akumulují bez možnosti se jej zbavit.
- Str. 17 – „(7,507 a 7,377 ng/g),“ – jsou zde uváděny koncentrace v nanogramech s přesností na tři desetinná místa, přitom variabilita mezi jedinci je evidentně v desetínách nanogramu. Je dobré si uvědomit, že existuje též variabilita v rámci organismu, která může až o několik řádů přesahovat dosaženou přesnost měření. Je tedy nesmysl poukazovat na naměřené hodnoty tímto formátem čísel. Naopak, čtenář by mohl ocenit, pokud by věděl z jaké části těla mločička byla rtuť stanovena.
- Str. 20 – bylo by vhodné držet jednotný styl textu a nepřeskakovat například mezi vyjadřováním názvů prvků jejich celými jmény a zkratkami.
- Str. 22 – chybné uvedení roku, ve kterém byl sběr materiálu proveden

- Str. 23 – není zřejmé, proč byla při sběru ignorována existence povrchové krusty, která na odkalištích často vzniká jednak činností sinic a jednak silným odparem vody vztlínající z hygroskopického tmavě zbarveného popílku. Tento odpar způsobuje formování rozmanitých solí na povrchu. Materiál horních 1-2 cm povrchu popílkoviště se tedy chemicky může až o několik řádů lišit od materiálu uloženého pod povrchovou vrstvou, avšak ještě v „horních 20 cm“ užitých diplomantem.
- Str. 24 – „Následně byli jedinci sušeni 72 hodin při teplotě 70 °C.“ – osobně mne překvapuje, že 72 hodin při 70°C bylo dostatečných k vytvoření sušiny. Ale je to samozřejmě možné. Sledovali jste, zda při sušení při 70°C po dobu 72 hodin již nedochází k dalšímu průběžnému snižování hmotnosti?
- Str. 26 – pokud byla použita funkce GLM, bylo by vhodné doložit referencemi, že vliv jednotlivých těžkých kovů na bezobratlé (nebo alespoň jiné organismy) má skutečně lineární charakter.
- Str. 28 – co znamená hvězdička nad mědi na úrovni zhruba 10 mg/kg mědi? Pro rtuť by bylo vhodnější volit jinou škálu.
- Str. 28 – vzhledem k extrémní variabilitě popílku je překvapivá extrémně malá variabilita v naměřených hodnotách obsahu jednotlivých kovů. I když jde o logaritmičticky transformovaná data, pořád jde o velmi nízké hodnoty odchylek, a to i navzdory tomu, že PC2 v obr. 2 jde celá na vrub rozdílu mezi dvěma zkoumanými popílkovišti. Lze se domnívat, že při zahrnutí většího množství lokalit, než je tato minimalistická varianta se dvěma popílkovišti, by se odchylky měly zvětšit. Variabilita v obsahu mědi, železa či arsenu je pro každý z těchto prvků mezi jednotlivými popílkovišti na českém území v rozsahu několika řádů.
- Studie se zabývá herbivory a parazitoidy. Proč chybí predátoři, tedy klasický vrchol potravní pyramidy? Aculeáta jich zahrnují mnoho, řada z nich je na písčinech běžná.
- Diskuse – diplomant se zde snaží krátce diskutovat jednotlivé rozdíly v koncentracích, které vyšly statisticky významně. Jen okrajově ale zmiňuje patrně nejzásadnější nález celé diplomové práce, a to ten, že blanokřídílí se byli schopni efektivně bránit výraznějším navýšení koncentrací všech kovů (snad kromě zinku) ve srovnání s rozdíly jejich koncentrací v substrátu. Otázkou je, jakou měrou v tom hraje roli, že se s odlišnými koncentracemi daných kovů vyrovnala už jejich potrava (jsou se substrátem jen v kontaktu) a nakolik je to až zásluhou detoxifikačních a jiných obranných mechanismů samotných blanokřídílých.
- Reference – formát referencí je nekonzistentní, paginace je někde úplná (např. AbdAllah et al. 2002), jinde zkrácená (např. Bachman and Miller 1995), formát citování suplementa Bogusch et al. 2007 je neobvyklý, slovo supplementum by se mělo objevit až za ročníkem časopisu. U článků není třeba uvádět editory časopisu (např. u Bordean et al. 2014). Jména autorů bývá zvykem zkracovat, zde se někde objevují v plné verzi (např. Bogusch et al. 2007), jinde ve zkrácené verzi (např. Bachman and Miller 1995). Latinsky psaná jména taxonů, která jsou v názvu prací uvedena kurzívou, by měla být uvedena kurzívou i v seznamu literatury (např. v Burke et al. 2010). Druhová jména se neuvádí s velkým počátečním písmenem (např. v Burke et al. 2010). Název článku nemusí být v uvozovkách (např. v Dufus 2002). Jednotlivá slova v názvech článků není vhodné začínat velkými písmeny (např. v Dolanský 1998). Není vhodné ani uvádět celé názvy článků kapitálkami, byť si je v této formě člověk stáhne z některých databází (např. Hopkins et al. 2000). Pokud je někde uveden měsíc a den, je vhodné uvést kompletní datum, tedy i s rokem (viz Hoskovec 2008). Reference na program FigTree má místo názvy html odkaz. Pokud časopis nepoužívá čísla (má jen jedno číslo na ročník), tak rozhodně není žádoucí nahrazovat odkaz na číslo názvem měsíce, ve kterém daný ročník vyšel (např. Tropek et al. 2013). Reference Wofková 2016 je neúplná; obsahuje jen autorku, rok a název práce.
- Příloha 1 – diplomové práce se ukládají do volně dostupného repozitáře. Na podklad z mapy.cz by bylo vhodné mít povolení.
- Příloha 2 – písmena v kladogramu jsou při běžném zvětšení nečitelná, bylo by vhodné jej nahradit kladogramem s písmem zvětšeným zcela nebo téměř na úroveň velikosti fontů užívaných v textu diplomové práce.
- Příloha 2 – v dokumentu chybí (nebo jsem to přehlédl) rozdělení druhů na herbivory a parazitoidy. Tedy aby se čtenář neznalý jednotlivých druhů či skupin mohl snadno zorientovat v tom, které druhy byly zařazeny do kterých skupin.
- Práce obsahuje několik překlepů, např. str. 6, Keywords – nadbytečná mezera v „metals“, naopak chybějící mezera na str. 19 v „*Lithobates phenocephalus*“, odlišný formát symbolů užitých pro zeměpisné minuty a sekundy, velké písmeno v titulu „Prof.“ na str. 23, chybějící čárka před titulem „CSc.“ tamtéž, str. 24 „byla10“, str. 24 – neukončená závorka v „(PCA“, str. 30 – „koncentrací“, str. 36 „zednici“, str. 37 – „bologicky“, atp.

Závěrem lze říci, že se diplomant zhostil velmi zajímavého a atraktivního tématu, kterému se však dostatečně nevěnoval a odbyl i zpracování samotné práce. Na základě získaných dat se mu dokonce nepodařilo ani identifikovat zásadní poznatek vyplývající z prezentovaných dat, totiž, že blanokřídílí se dokázali evidentně efektivně bránit výraznějším navýšení všech těžkých kovů, vyjma zinku, ve svých tkáních, i když byli celoživotně vystaveni jejich zvýšené koncentraci. Protože práce ukazuje, že se akuleáta dokáží se zvýšenými koncentracemi těžkých kovů dobře vyrovnat, těžkých kovů a jejich analýzy se týkají i mé **dva dotazy k předložené diplomové práci:**

- 1) Rád bych se při obhajobě dozvěděl, jaké mechanismy považuje diplomant za zásadní pro vylučování železa u akuleát (či u hmyzu s dokonalou proměnou obecně).
- 2) Diplomant zmiňuje, že zatímco všechny laboratorní práce dělali spolupracovníci, on provedl mletí vzorků na velikost <63 μm v achátových miskách pomocí planetového mlýnku. Chtěl jsem se tedy zeptat, zda použil i achátové mlecí koule pro minimalizaci znečištění materiálem koulí, zda a jak čistil koule po jednotlivých mletích a zda provedl při zmenšování vzorku kvartaci, popřípadě proč ji neprovedl/nezminil.

**Práci doporučuji k obhájení** za předpokladu, že student uspokojivě zodpoví výše uvedené otázky k tématu diplomové práce.