

Oponentský posudek diplomové práce Michala Schmoranze „Diferenciace bakteriálních kolonií *Serratia marcescens*“

Předložená práce představuje, po loni obhájené diplomové práci Tomáše Riegera, v pořadí již druhý díl série experimentálních studií věnovaných ontogenezi a morfogenezi mikrobiálních kolonií a vypracovaných (poněkud překvapivě) na katedře filosofie a dějin přírodních věd. Ke cti autora i školitele budiž, že přitom jde o více než jen o další rozpracování tématu úspěšně načatého předchůdcem. Posuzovaná práce sice odpovídá *také* na některé otevřené otázky z práce Riegerovy (např. možné ovlivnění chemického složení média bakteriálními koloniemi, hezky dokumentované na příkladu změn pH), ale zaměřuje se především na problematiku zásadně odlišnou – totiž na vznik rozmanitosti uvnitř klonálních populací *Serratie*, kde autor nashromáždil pozoruhodné množství dobře zdokumentovaných (ač ne vždy náležitě interpretovaných) dat. Závěrečná teoretická studie (v kapitole Diskuse) naznačuje pak i cesty k výkladu pozorovaného z hlediska Portmannovy koncepce neadresných vlastních jevů.

Přes sympaticky ambiciózní rozvržení a velký objem dokladového materiálu však předložená práce není prosta nedostatků, dílem i velmi závažných a jen zčásti zdůvodnitelných (neřkuli omluvitelných) tím, že autor, nejsa původně biologem, musel v průběhu magisterského studia zvládnout řemeslo od základů. Diplomová práce přitom právě má být v neposlední (ba snad i v první) řadě dokladem, že adept ovládá obvyklé metody a postupy svého oboru co se týče například struktury odborného textu, kritické práce s literaturou, standardních způsobů presentace změřených dat či zacházení s kvantitativními údaji. Právě zde však jsou největší její slabiny:

1. Zacházení s literárními prameny.

- Seznam literatury v závěru diplomové práce čítá celkem 64 pramenů, které zahrnují i Plotinovy Enneady, Summu theologickou Tomáše Akvinského, sv. Augustina, tři diplomové práce, jeden román (zdroj motta na s. 63), jednu sbírku básní, jeden nepublikovaný rukopis, prakticky nepoužitelný odkaz na nedostupná čísla *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* a tři internetové zdroje proměnlivé důvěryhodnosti. Řada citací je neúplná nebo vykazuje jiné závady (stránky chybějí nebo je uvedena jen první strana; někde je, někde není uváděno číslo časopisu; interpunkce a formát citací je nejednotný; u většiny – ale ne všech – víceautorových prací je uváděn pouze první autor *et al*; u Wei 2006 chybí iniciály autora; příjmení Ilji Trebichavského je zkomoleno). Ze zvědavosti jsem se pokusila dohledat odkaz na „zázračný enzym serratiopeptidázu“ (citace Ross a Cho 2005). Na uvedené adrese se nachází pouze komerční nabídka (mimo jiné) kosmetických přípravků, zaručeně přírodních mýdel a psího šamponu, v níž již serratiopeptidáza není; jinde dohledaný odkaz na týž článek¹

¹ http://diexsolutions.com/dev13/index.php?option=com_content&task=view&id=74&Itemid=31

však naznačuje, že jde o citačně nepodložený reklamní text. Z kontextu odkazu (s. 10) je naštěstí zřejmé, že nebyl míněn úplně vážně.

- Naopak mnohé citované zdroje, internetové, časopisecké i knižní, nejsou uvedeny v seznamu literatury, ale v poznámkách pod čarou (viz s. 8, 10, 11, 16, 17), popřípadě vůbec ne (motto na s. 7). Zvláště upozorňuji, že internetový odkaz bez URL je zcela bezcenný (s. 17).
- Odkazy z textu na citovanou literaturu nejsou jednotné – jde o směsici odkazů obsahujících pouze příjmení 1. autora a rok (i když autorů bylo více), příjmení více autorů i s iniciálami, a občas i poznámek pod čarou. Práci Labbate 2004 (citovanou na s. 14) nelze dohledat v seznamu literatury.

2. **Struktura práce, zejména výsledkové části.** Diplomová práce je členěna standardně na literární úvod, materiál a metody, výsledky („experimentální část“) a diskusi, a je opatřena dosti dlouhým anglickým abstraktem, českým souhrnem, seznamem zkratk a datovou přílohou na DVD. Poněkud nešťastně je však rozvržena sama část výsledková – autor mnohdy rezignuje na vysvětlení, proč který pokus dělal. I když „nepředpojaté pozorování“ může být ctností, přehlednosti textu by velmi prospělo stručné shrnutí, o čem výsledky jednotlivých experimentů vypovídají, a seskupení tématicky příbuzných podkapitol (např. částí věnovaných extracelulárním inkluzím v koloniích – tedy kapénkám a krystalům, nebo kapitol věnovaných vzájemné interakci kolonií, mezi které je ne zcela logicky vložena pasáž o pH).

Výše uvedené může snad být předmětem diskuse, a je na autorovi, aby svou koncepci obhájil. Za vážnější nedostatek však považuji absenci jakéhokoli výsledkovatelného řádu v popisu a číslování obrazové dokumentace (která je velmi bohatá, takže ustavičné dohledávání, co k čemu patří, výrazně kazí čtenářský zážitek). V práci lze nalézt nejen řádně číslované datové obrázky s řádnými odkazy z textu, ale i:

- číslované dekorativní ilustrace (obr. 1, 2, 3, 8);
- nečíslované (snad pouze dekorativní) ilustrace opatřené legendou bez odkazu z textu (s. 118 a 121);
- obrázky roztažené přes více stránek (s.36-37, 104-105, 112-113);
- nečíslované datové obrázky začleněné do „kartotéčních lístků“ jednotlivých klonů;
- obrázky popsáné jako tabulky (s. 89, 92, 97, 99, 104-105, 108, 109, 112-113);
- poměrně zásadní datové obrázky bez čísla i legendy nebo s legendou „rozpuštěnou“ v přilehlém textu (s. 65, 67-73);
- datové obrázky bez jakékoli vazby na text výsledkové části či na text vůbec (obr. 21 na s. 80; obr. 22, 24, 25, 26, 28);
- dva zcela různé obrázky pod stejným číslem (obr. 21 na s. 79 a 80);

- dva i více zcela stejných či nepatrně odlišných obrázků pod různými čísly (pravá část obr. 9 na s. 33 a „Tab. 6B“ na s. 108; nečíslovaný obr. na s. 59 a „Tab. 7A“ na s. 109; obr. 23 na s. 81 a obr. 41 na s. 100; „Tab. 3B/E“ na s. 97 a nečíslovaný obr. na s. 121; pravá část obr. 24 na s. 82, obr. 32 na s. 86 a obr. 36 na s. 88; levá část obr. 36 na s. 88 a nečíslovaný obr. na s. 118). *V posledním případě zvláště povážlivé je, že identická fotografie je jednou popsána jako klon Fmi a jednou jako rWr(F) – co to tedy bylo???*

3. Presentace vlastních dat.

- V přehledu získaných stabilních variant (s. 40-60) autor prezentuje kvantitativní údaje o růstu kolonií bez jakékoli informace o variabilitě. Na s. 39 je sice uvedeno, že měřil aspoň 10 kolonií z aspoň 3 výsevů, není však zřejmé, zda jde o průměr nebo o medián. Standardní zvyklosti nasvědčují průměru, bylo by však *velmi* záhodno uvést též informace o rozptylu (např. směrodatnou odchylku nebo střední chybu průměru, případně maximum a minimum).
- Změřená data o časovém vývoji O.D. a koncentrace životaschopných buněk při dlouhodobé kultivaci (nečíslované obr. na s. 60 a obr. 14 na s. 66) přímo volají po vyjádření formou standardní růstové křivky, tedy x-y grafu v semilogaritmickém vyjádření, což by okamžitě umožnilo posoudit i existenci a dobu vzniku očekávaných odchylek od učebnicové exponenciely. Použité vynesení formou sloupcového grafu ignorujícího proporce osy x považují za zcela nevhodné. U údajů založených na počítání kolonií by měl být začleněn i rozptyl (směrodatná odchylka) opakovaných pozorování.
- V práci se vyskytuje obrázek, který zjevně prošel nedokumentovanou digitální retuší přesahující obecný konsensus přípustných úprav (obr. 23 na s. 81)².
- Grafická presentace řezu kolonií na obr. 33 dole je nepřehledná.

4. Diskuse by měla kromě obecného shrnutí výsledků (čehož se autor zhostil vcelku uspokojivě) být též prostorem k porovnání vlastních pozorování s aktuální literaturou. Zde však autor čtenáři zůstává mnohé dlužen. Slušelo by se důkladněji pojednat především následující body:

- Možné mechanismy vzniku rozmanitosti v dlouhodobě kultivovaných mikrobiálních populacích (od stabilních regulačních stavů po proměnlivost generovanou např. pohybem transpozónů).³
- Vztah vlastních pozorování k problematice rozlišování „svého a cizího“, která je zejména v posledních letech rozpoznávána nejen jako centrální téma (živočišné) imunologie, ale i

² Viz např. Rossner M, Yamada KM: What's in a picture? The temptation of image manipulation. J. Cell Biol. 166:11-15, 2004; **DOPORUČUJI PŘEČÍST:** Cromey DW: Digital imaging: Ethics. [http://swehsc.pharmacy.arizona.edu/exppath/resources/pdf/Digital%20Imaging%20Ethics%202007.pdf].

³ Viz např. Faure D. et al.: Genomic changes arising in long-term stab cultures of Escherichia coli. J. Bacteriol. 186:6437-6442, 2004.

jako otázka obecně biologického významu (u rostlin se jí např. v poslední době zabývá A Trewavas).⁴

5. **Obecná kultura psaní** též není prosta vad. V textu lze najít i hrubé pravopisné chyby (pravopis i/y na s. 27, 30, 32, 38). Místy je práce příliš mnohomluvná (např. s. 14) až redundantní (např. 1. odstavec na str. 20, s. 101/106, vyznačeno v textu oponentské kopie). Možná by neškodilo inspirovat se méně Zdeňkem Neubauerem a více Balthasarem Graciánem.⁵ Slušelo by se rovněž odlišit nadpisy typem písma od textu (v části Materiál a metody tomu tak není) a důsledně dodržovat na začátku zavedenou formu (zejm. typ a velikost písma) legend k obrázkům.

Byla bych samozřejmě nerada, kdyby jen kvůli řadě v podstatě formálních námitek zůstaly stranou připomínky věcné, sice méně závažné, avšak o to zajímavější. Dále uvádím drobnější faktické poznámky a otázky, které by mohly být podkladem diskuse; další připomínky, většinou pouze jazykové či formulační, jsem uvedla v textu.

6. s. 13: Gramnegativní bakterie jako *Serratia* obecně nesporulují (práce Ajitkumara a spol. je výjimkou a překvapením, což by v textu mělo být reflektováno). Proto výklad, který dává tušit, že kolonie jsou vlastně kvůli sporulaci, není nejšťastnější.
7. s. 15: Válcovitý tvar buněk je nemístné zobecnění.
8. s. 16: Kolonie může sestávat i z řádově méně než miliard buněk.
9. s. 21: Nemůže být příčinou nezájmu estetiků o bakteriální kolonie i jejich obvykle nelibý pach a další asociace s rozkladem, zkázou, zahníváním?
10. s. 24: Desítky hodin jen těžko mohou být stovky bakteriálních generací.
11. s. 27: Byly kibucy vysazovány párátkem nebo pipetou?
12. s. 28, ale i jinde: Možná by bylo na místě rozlišovat mez tvarem a morfologií (naukou tvary zkoumající).
13. s. 57: Hned vedle textu o tom, jak kolonie Fw nesplývají, je foto splývající dvojice kolonií. Prosím o komentář.
14. s. 79: Vedle poněkud „exotického“ vysvětlení pozorovaných struktur jako spor by bylo na místě zmínit i standardní a dle mého názoru dosti pravděpodobnou interpretaci – totiž že domnělé spory jsou válcovité buňky orientované kolmo k rovině ostrosti.
15. s. 87: Co jsou *naddiferenciační jevy*?
16. s. 90: Hovoří-li autor o statistické významnosti, měl by ukázat data. Jinak je lépe říci pouze „často“.

⁴ Viz např. Trewavas A: Plant intelligence. *Naturwissenschaften* 92:401-413, 2005.

⁵ Gracián B: Příruční orákulum a umění moudrosti. Odeon, Praha 1990, s. 22: *Dokonalost nespočívá v množství, ale v jakosti. Všeho dobrého bývalo vždy poskrovnu: mnohost je znevážením. Mezi lidmi dokonce obři bývají pouhými skřítky. Někteří si cení knih podle objemnosti, jako by byly napsány k cvičení paží, ne hlav. Sama šire nikdy nemohla překonat prostřednost a je neduhem obecně vzdělaných lidí; chtějíce obsáhnout všechno, nestihnou nic. Jakost skýtá výjimečnost, a to hrdinskou, jde-li o věci vznešené.* (překlad J. Forbelský, originál 1647).

17. s. 101: V textu se uvádí, že kolonie kolem 10. dne přestávají růst, avšak podle kvantitativních dat v kartotéce klonů rostou ještě mezi 14. a 30. dnem. Prosím o komentář.
18. s. 115: Ví se něco dalšího o rozpustnosti a dalších vlastnostech krystalů?
19. s.121 pod obrázkem: předpoklad „uvědomělosti“ u bakterií je buď neobratná formulace, nebo velmi silné a překvapivé, avšak prací samou nepodložené tvrzení. Prosím o komentář.

Ponechávám úvaze komise a výřečnosti obhajujícího, zda budou zejména první tři uvedené body pokládány za natolik zásadní, aby si vynutily přepsání diplomové práce a opakování obhajoby v podzimním termínu. Takové řešení by sice zřejmě bylo z formálního hlediska a s ohledem na prestiž školy žádoucí, avšak lze pochybovat o jeho vhodnosti z hlediska perspektiv autora i výzkumného projektu. Krom toho se mi i příčí zamítání diplomových prací z důvodů ryze formálních. Proto se nebudu mrzet, budu-li přehlasována, i když přijetí práce v její současné podobě s klidným svědomím doporučit nemohu.

V Praze dne 18.5.2008



F. Cvrčková