



Přírodovědecká  
fakulta  
Faculty  
of Science

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

RNDr. Alena Bruce Krejci, Ph.D.

Branisovska 1760

České Budějovice

+420 38 777 2270

<http://www.prf.jcu.cz/en/kmb/research/research-groups/laboratory-of-developmental-biology.html>

### Posudek na diplomovou práci **Bc. Kamily Pařízkové**: Trypanosomatida včel a jejich interakce s polutanty

Ve své diplomové práci si Kamila Pařízková předsevzala zmapovat výskyt trypanosomatid u včely medonosné, ale i u volně žijících včel a čmeláku v ČR a dále zavést experimentální infekce *Lotmaria passim* a *Crithidia bombi* u včely medonosné a čmeláka zemního v *ex vivo* chovech, s cílem stanovit dynamiku infekce těmito trypanosomatidami, ověřit jejich vzájemnou interakci při cross-infekcích a v konečné fázi otestovat vliv insekticidu imidaklopridu na rozvoj *Lotmaria* infekcí u včely medonosné.

Kamila odvedla velký kus experimentální práce, kdy zizolovala DNA z několika set hmyzích jedinců a zmapovala u nich výskyt různých trypanosomatid pomocí metody nested PCR a qPCR. Významným výsledkem práce je kromě zmapování různých trypanosomatid u volně žijících včel a čmeláků i důkaz nepřítomnosti *L. passim* u těchto skupin, což ukazuje, že přenos těchto parazitů z chovů včely medonosné na volně žijící hmyz je pravděpodobně minimální. Potvrzen byl také velmi vzácný či nulový výskyt *C. mellifcae* u včely medonosné, což je pro chovatele včel v ČR dobrou zprávou.

Úvod práce je čtivě a přehledně napsaný a obsahuje průřez všech důležitých a aktuálních referencí, které mapují otázky zodpovídané v diplomové práci. Metodika je povětšinou napsaná přehledně a srozumitelně, jen např. u metody extrakce DNA chybí složení tissue lysis pufu a binding pufu či chybí informace o zdroji primerů (zda byly navrženy autorkou a jak, či odkud byly převzaté). Výsledky jsou prezentovány jasně a logicky. Silnou stránkou práce je obsáhlá diskuse na deseti stranách, která dává naměřená data do kontextu existující literatury, zamýšlí se různou interpretací výsledků a navrhuje možná zlepšení pro budoucí experimenty.

Dovolím si pouze několik poznámek a otázek k experimentální části:

1. Z popisu Metod vyplývá, že některé experimenty na včelách byly prováděny při 31 °C (str.37), jiné při 35 °C (str.40). Čmeláci byli chováni při 35 °C. V klíčkových experimentech byl někdy poskytnut jen cukerný roztok, jindy cukerný roztok s pylem, někdy Apisyrup, někdy byla poskytnuta čistá voda a někdy ne. Překvapuje mě podání pylu do cukerného roztoku, protože v přírodě takto včely pyl nikdy nepřijímají. Neobvyklé je i přidávání substrátu z pařeného písku a dalších přísad do experimentálních klíček. Proč byl zároveň použit pytlík s hydrogelem, když v úlu je naopak žádoucí vysoká vzdušná vlhkost? Mohla by Kamila objasnit, proč byly zvoleny různé experimentální podmínky, zda tyto podmínky mohly mít vliv na získaná data a jaký by podle ní měl být ideální protokol pro infekci?



Přírodovědecká  
fakulta  
Faculty  
of Science

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

RNDr. Alena Bruce Krejčí, Ph.D.

Branisovska 1760

České Budějovice

+420 38 777 2270

<http://www.prf.jcu.cz/en/kmb/research/research-groups/laboratory-of-developmental-biology.html>

2. Při infekcích se předpokládalo, že jedna včela vypije za den 10ul roztoku. Odpovídalo množství cukerného roztoku odebraného za jeden den všemi včelami tomuto předpokladu?
3. Infekce lotmariemi u některých jedinců včely medonosné dosahovala vysokých titrů až  $10^6$ . Je pak *Lotmaria* skutečně jen pasivním členem střevní mikrobioty nebo by měla ovlivnit ostatní složky mikrobioty minimálně svými potravními nároky? Jaký je názor Kamily na neškodnost *Lotmaria* u včely medonosné?
4. V návaznosti na předchozí otázku: Trubci z odebíraných plástů byli ve značném množství poškozeni infestací roztočem *Varroa*. Lze tedy předpokládat, že i u pokusných dělnic byly titry DWV či dalších virů nenulové, byť v titrech bez fenotypického projevu. Ačkoliv je *Lotmaria* považována za nepatogenního parazita, lze předpokládat, že by mohl přispívat k rozvoji virových onemocnění včel a tím ke kolapsu kolonií? Nebyly některé z klíčkových včel analyzovány i na viry?
5. Je známo, jak dlouho přežije *Lotmaria* a *Crithidia* mimo hostitele? Mohou skutečně buňky po infikovaném plodu složit jako zdroj infekce, jak Kamila uvádí na str. 20? Výkaly larvy jsou ukryty pod kokonem larvy, takže včely čističky s nimi nepřijdou do kontaktu.
6. Bylo experimentálně dokázáno, že některá stadia trypanosomatid vydrží živá v medných zásobách (jak Kamila udává na str. 21), tedy v prostředí s obsahem vody pod 18 %?
7. *Crithidia bombi* je vysoce virulentní parazit čmeláka, který ovlivňuje jeho kognitivní funkce. Podobně i včely napadené roztočem *Varroa* nebo viry mají mimo jiné problém s orientací. Jakým způsobem může střevní parazit ovlivnit činnost mozku?
8. Zákaz používání neonikotinoidů na území EU je jistě dobrá věc, ale často jsou zmiňovány výjimky udělované pro některé neonikotinoidy, v některých státech a za určitých podmínek. Ráda bych se poučila a slyšela fundovanou informaci o tom, jak je použití neonikotinoidů regulováno v ČR, mohla by Kamila krátce shrnout? Jsou zakázány všechny neonikotinoidy, pro zemědělce i pro běžné malospotřebitele, ve formě postřiku i moření semen, v průběhu celého roku nebo jen někdy...?

Celkově hodnotím práci pozitivně jako velmi zdařilou jak po formální, tak experimentální stránce a doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích  
16. května 2023  
RNDr. Alena Bruce Krejčí, Ph.D.