

# Oponentský posudek magisterskou práci Tomáše Tymly Myxosporeové infekce rejskovitých (Soricidae)

Posuzovaná práce sestává z 48 stran textu, velmi zdařilého. Tomáš Tyml se věnoval organismu popsanému před třemi lety: *Soricimyxum fegati* a podstatným způsobem rozšířil poznatky o tomto zajímavém příslušníku myxosporeí.

V úvodní kapitole se Tomáš nezdržoval rozsáhlým opakováním obecným poznatků: po krátké charakterizaci skupiny se věnoval zejména novým poznatkům, bořícím dosavadní představy o rybách jako jediných hostitelích myxosporeových stádií. Oceňuji, že velmi střídavě hodnotí náhodné nálezy těchto organismů v lidském materiálu. Dále se věnoval čeledi Soricidae, jejímž příslušníkům se jako potencionálním hostitelům věnoval.

Tomáš Tyml vyšetřil úctyhodný počet rejskovitých odchycených na předem vytipovaných (ne vytypovaných, jak opakovaně píše) lokalitách a doplněný je rejsky získané z jednotlivých odchytů a přivezené spolupracovníky od nás i ze zahraničí. Pokud jde o hostitele aktinosporeových stádií, pracoval se žížalami nasbíraných na stejných lokalitách a experimentálně též s roupicemi.

K diagnostice byla použita kombinace "klasických" metod s molekulární diagnostikou. Přineslo to úspěch: *Soricimyxum fegati* se podařilo nalézt ve 4 hostitelích. Rozdílnou prevalenci u 2 druhů rejsků vysvětluje Tomáš rozdílnými potravními preferencemi: logicky to zapadá do dosavadních znalostí o tomto parazitu a jeho předpokládanému vývoji v žížalách. Pokud jde o zjištěnou sezónní závislost prevalence, poprosil bych autora o spekulaci, jak by mohl cyklus během roku vypadat a dát tento výsledek do souvislosti s průměrným věkem hostitelů i jejich předpokládanému častějšímu hynutí během sezóny.

Histologická vyšetření jsou provedena precizně a totéž platí o jejich dokumentaci. Nejzajímavější z histologických nálezů jsou útvary podobné xenomům, poškozující hostitele zřejmě vážněji než jaterní stádia.

Vyšetřování žížal sice nepřineslo dosud výsledky, ve které autor jistě doufal, ale bylo provedeno precizně a byly nalezeny suspektní útvary, které by mohly být aktinosporeovými stádií. Autor byl v hodnocení nálezu velmi opatrný a je to v pořádku, vzhledem k tomu, že se zatím nepodařilo potvrdit nález molekulárně.

K úspěchu zatím nevedly experimentální nákazy roupic, hlavně zřejmě kvůli nedostatku materiálu.

Fylogenetická analýza odhalila určitou variabilitu, neprokázala však závislost na hostiteli, s výjimkou izolátu z *C. russula*: tam však může jít o variabilitu geografickou.

Diskuse je také velmi střídavá a věcná. Autor uvažuje o možné podobnosti životního cyklu s hlísticí *Calodium hepaticum*, zní to velmi logicky. Uvažuje i o dalších možných hostitelích mezi hmyzožravci. Směřuje k tomu i poslední odstavec diskuse, který mi však připadá myšlenkou nedokončený (zřejmě zase z opatrnosti) - prosím o vyslovení hypotézy.

Kromě této žádosti a už uvedené otázky o sezónní dynamice mám následující dotazy:

- U mikrosporidií byli savci a ptáci považováni také za výjimečné hostitele, než se zdokonalila diagnostika odhalující, že se v malém množství vyskytují hojně. Předpokládá autor podobnou možnost i u myxsosporeí? Pokud ne, proč?
- Jaká by mohla být biologická funkce útvarů podobných xenomům?

Závěrem mohu prohlásit, že podle mého názoru předložená práce splňuje všechny požadavky kladené na magisterské práce Studijním řádem Přf JČU. Doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit stupněm "výborný".

Doc. RNDr. Oleg Ditrich

Kromě této žádosti a už uvedené otázky o sezónní dynamice mám následující dotazy:

- U mikrosporidií byli savci a ptáci považováni také za výjimečné hostitele, než se zdokonalila diagnostika odhalující, že se v malém množství vyskytují hojně. Předpokládá autor podobnou možnost i u myxsosporeí? Pokud ne, proč?
- Jaká by mohla být biologická funkce útvarů podobných xenomům?

Závěrem mohu prohlásit, že podle mého názoru předložená práce splňuje všechny požadavky kladené na magisterské práce Studijním řádem Přf JČU. Doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit stupněm "výborný".

Doc. RNDr. Oleg Ditrich

## Posudek na magisterskou diplomovou práci Tomáše Tymly „Myxosporeové infekce rejskovitých (Soricidae)“

Ve své diplomové práci se Tomáš Tyml zabývá zajímavým nedávno objeveným druhem myxozoi *Soricimyxum fegati*. Je to jeden z mála druhů, jejichž hostiteli jsou suchozemští obratlovci, v tomto případě rejsci. Již na začátku musím přiznat, že práce se mi velice líbí a že takto nějak si představuji kvalitní diplomovou práci. Práce je psaná čtivě a obsahuje pouze velmi málo gramatických chyb a překlepů (např. používání anglických uvozovek v českém textu, občasné chybné použití čárek), které považuji za bezvýznamné. Jako oponent, jehož úkolem je najít v práci chyby, i kdyby tam nebyly, jsem tedy neměl lehkou práci.

Poněkud stručný úvod seznamuje čtenáře na čtyřech stranách s životními cykly myxosporidií, morfologií jejich spor, s případy nákazy u suchozemských obratlovců, a s ekologií rejskovitých hmyzožravců České republiky. Zde musím poznamenat, že nepovažuji za vhodné citovat učebnice (Hausmann a Hülsmann, str. 1, Volf a kol., str. 34).

Kapitola Materiál je podle mě nelogicky oddělena od kapitoly Metodika. Vždyť odchyt rejsků, „tepelná extrakce“ (neboli pečení) žížal a chov roupic přeci patří také spíše do metodiky. Autor shromáždil rozsáhlou sbírku téměř 250 jedinců několika druhů rejskovitých a 1164 žížal (i když druhý počet je uveden až ve výsledcích). Autor má široký metodický závěr sahající od odchytu drobných savců přes histologické metody a základní molekulárně-biologické metody (izolace DNA, PCR, klonování) až po infekční pokusy. V textu postrádám informaci, který úsek DNA amplifikují „univerzální eukaryotické primery“ – z dalšího textu se dozvíme, že nejspíše SSU rDNA. Udávat množství chemikálií použitých v PCR na setiny  $\mu\text{m}$  se mi zdá zbytečné.

Autor zjistil, že druh *S. fegati* není omezen pouze na rejska obecného, ale našel i tři nové druhy hostitelů z čeledi rejskovitých. U těchto nových hostitelů však byla prevalence *S. fegati* výrazně nižší než u rejska obecného. Výsledky také ukazují na náznak určitého kolísání prevalence během roku, k potvrzení tohoto jevu je však potřeba výsledky zpracovat statisticky nejspíše i získat více materiálu. Autor se věnoval i patologickým změnám na tkáních hostitelů a popisuje výskyt dalších parazitů u rejskovitých i u žížal. Na tomto místě musím vyzdvihnout podle mě velmi vysokou úroveň fotodokumentace. Je zajímavé, že v žížalách nebylo nalezeno nic, co by s jistotou představovalo některá stádia *S. fegati*, přestože i já bych je považoval za velmi nadějně kandidáty na hostitele. Infekční pokusy s roupicemi se nezdařily.

V diskusi, která je podle mě velmi zdařilá, autor vyčerpávajícím způsobem hodnotí získaná data, vysvětluje možné příčiny neúspěchu některých dílčích cílů (hledání bezobratlého hostitele, infekční pokusy) a další postupy práce.

K práci mám následující otázky:

1. Jaké bylo nastavení programu ClustalX při vytváření alignmentu?
2. Jaký typ distancí byl použit pro NJ analýzu?
3. Proč nebyla použita nějaká metoda pro odhad spolehlivosti získané topologie stromu, např. bootstrapová analýza?
4. Jak si autor vysvětluje, že během PCR vznikl větší počet chimérických sekvencí?
5. Autor se domnívá, že neúspěch amplifikace SSU rDNA *S. fegati* ze žížal byl způsoben inhibitory PCR přítomnými ve střevě žížal. Neměl by ovšem zapomínat na možnost, že žížaly

nejsou hostiteli tohoto druhu. Dal by se použít kit na environmentální DNA, který zmíněné inhibitory odstraní? Zkusil autor použít pozitivní kontrolu, která by mohla roli inhibitorů odhalit, tj. např. DNA izolovanou ze žížaly, ke které byly přidány spory myxosporidií?

Závěrem konstatuji, že předloženou diplomovou práci Tomáše Tymly rozhodně doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení výborně.

RNDr. Ivan Čepička, Ph.D.  
Katedra zoologie PřF UK

