

RNDr. Veronika Urbanová, Ph.D.
Biologické centrum AVČR, v.v.i.
Parazitologický ústav
České Budějovice

Oponentský posudek na bakalářskou diplomovou práci Jany Schrenkové

Název: Imunolokalizace trávicích peptidáz v nymfách klíštěte *Ixodes ricinus* v průběhu sání na hostiteli a během přeměny na dospělce

V předložené bakalářské práci autorka charakterizuje změny v morfologii střeva v průběhu sání nymf klíštěte obecného *Ixodes ricinus* a detekuje trávicí peptidázy katepsin B a katepsin L.

Práce je sepsaná na 36-ti stranách, je poměrně přehledná a srozumitelná, s minimem překlepů.

V úvodní části práce se autorka zaměřila na stručnou charakterizaci klíšťat. V následujících podkapitolách nás seznamuje s životním cyklem klíštěte *Ixodes ricinus*, detailněji popisuje střevo u čeledi *Ixodidae* a změny, které u samic a nymf ve střevě během sání probíhají.

Poslední podkapitola úvodu je věnována trávení hostitelské krve u klíštěte *I. ricinus* a stručnému popisu peptidáz, které se na něm podílí.

K této části práce mám několik připomínek:

V kapitole 1. Úvod (str.1) autorka popisuje riketsii (*Rickettsia rickettsii*) způsobující horečku Skalických hor jako patogena přenášeného *I. ricinus*. Hlavními přenašeči tohoto patogena jsou ovšem klíšťata *Dermacentor variabilis*, *D. andersoni* a ne *I. ricinus*. Jedná se pouze o překlep, nebo odkud autorka čerpala?

V podkapitole 1.1 (str.1) mě zaujalo, že klíště *I. ricinus*, které se vyskytuje ve vlhčích biotopech můžeme nalézat i v senících. Odkud autorka tuto informaci získala, může uvést danou publikaci?

V téže podkapitole (str.2) autorka uvádí dobu sání dospělé samice v rozmezí 6-9 týdnů. Předpokládám, že jde o překlep a bylo míněno dnů. Zde bych ještě chtěla upřesnit - oplození samice nemusí vždy probíhat na hostiteli, může k němu dojít i mimo něj.

V podkapitole 1.2 (str.3) je popsáno složení střeva klíšťat z čeledi *Ixodidae* ze dvou částí (žaludku a sedmi párů válcovitých výběžků). Jen pro úplnost dodávám, že vlastní střevo se skládá ze zmíněného žaludku, válcovitých výběžků a ještě z malé úzké trubice (small intestine).

V podkapitole 1.2.1 (str.4) zaobírající se trávením krve u samic jsou nepřesně popsané jednotlivé fáze sání. Pro správnost uvádím - první fáze je tzv. přípravná (trvá 24-36 hod.), klíště sají pouze malé množství krve, není zde trávicí aktivita. Druhá fáze je tzv. pomalé sání s průběžnou intracelulární aktivitou, poté je-li samice oplodněna nastává tzv. „rapid feeding“, kde samice v průběhu 12-36 hodin nasaje velké množství krve a ukončí sání.

V podkapitole 1.2.2 (str.5) je popisován značný velikostní rozdíl mezi střevem nenasáté a nasáté nymfy. Zde se mi velice líbí obrázek nasátého střeva nymfy, je autorčin vlastní? Bylo by pěkné, ukázat pro porovnání i střevo nenasáté nymfy.

Materiál a metody jsou podrobně a přehledně popsány. Pouze v podkapitole 3.4 (str.12) autorka uvádí rychlost centrifugace blokovacího roztoku 130 rpm a primární protilátky 13 rpm. Nebylo to ve skutečnosti 13 000 rpm?

Výsledky a diskuze jsou spojeny do jedné kapitoly. Jsou sepsány přehledně a doplněny rozsáhlou fotodokumentací, která tvoří jejich základ.


V podkapitole 4.1 (str.13) je uvedeno, že střeva nenasátých, jeden, dva a tři dny nasátých nymf byly zalaty do pryskyřice EPON, zatímco střeva plně nasátých nymf a nymf, které ukončily sání do pryskyřice LR White. Proč nebyly vzorky střev k pozorování morfologie připraveny stejnou metodou, když autorka zmiňuje EPON jako lepší variantu pro pozorování struktury střeva?

Podle čeho autorka přesně rozliší rezervní a trávicí buňku?

Podkapitola 4.2.1 (str.20) se zabývá imunolokalizací katepsinu B. Z obrázku 12 (str.22) je patrné, že ve střevě nenasátých nymf je lokalizováno značné množství katepsinu B oproti střevu nymf sajících jeden den. To, že jsou proteázy ponechané z larválního stádia degradovány je autorčina domněnka nebo známý fakt (v tom případě chybí citace). Proč si autorka myslí, že nymfa, která začala sát, bude tyto proteázy degradovat?

Přes uvedené připomínky a otázky se domnívám, že autorka dobře zvládla použité metody a dosažené výsledky podávají ucelenou informaci o probíhajících změnách ve střevě nymf během sání a metamorfózy. Proto jsem přesvědčena, že bakalářská diplomová práce Jany Schrenkové splňuje nároky Přírodovědecké fakulty JU a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 18.5.2011


Veronika Urbanová