

## POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Jméno a příjmení studenta: **Bc. Eva Myšková**

Oponent bakalářské práce: doc. Ing. Martin Kváč, Ph.D.

Název práce: Střevní paraziti obratlovců na Svalbardu

Předložená diplomová práce je členěna dle standardních požadavků kladených na tento typ práce. Téma bylo vzhledem k nedostatečným znalostem v oboru velmi vhodně zvoleno. Kapitola úvod velmi stručně uvádí čtenáře do problematiky. Následující text literárního přehledu je psán čtivě, ostatně jako celá práce. K této části bych měl následující výtku. Autorka se zaměřila na studované hostitele, jejich rozšíření a stručný popis, nicméně mi zde chybí druhá část problematiky a to jsou právě paraziti vyskytující se u zmíněných hostitelů. Seznam parazitů je sice uveden v příloze, ale vzhledem k tématu práce bych je spíše očekával v textu práce. Práce je vhodně doplněna fotodokumentací. Kapitola materiál a metody je psána jasně a stručně. Použité metody odpovídají cílům práce.

Kapitola výsledky je logicky členěna dle jednotlivých hostitelů. V kapitole 4.1. sob polární je v textu uvedeno, že bylo 11 vyšetřovaných sobů pozitivních na kokcidie, přičemž v tabulce je uvedeno 18 zvířat. V tabulce 8 jsou uvedeny jednotlivé morfotypy oocyst kokcií, morfotyp *Eimeria* sp. byl nalezen 6×. Jedná se tedy o více morfotypů. Kolik bylo vlastně nalezeno a popsáno morfotypů?

Kapitola diskuze je z větší části opakováním úvodu a výsledků. Studentka uvádí, že nejvhodnější kombinací metod pro koprologické vyšetření je sedimentace AMS a flotace dle Sheathera. S tímto tvrzení dle vlastní zkušenosti souhlasím, nicméně v práci nebyla provedena patřičná analýza. V diskuzi mi chybí srovnání výsledků prevalence s již dříve publikovanými daty, zejména s těmi, které jsou uvedeny v příloze práce.

Práce obsahuje 4 samostatné závěry. Tři z nich jsou velmi podobné a údaje v nich uvedené se částečně opakují.

Diferenciální diagnostika vajíček helmintů a oocyst kokcií je dle morfologie a morfometrie velmi obtížná, mnohdy nemožná. Oceňuji snahu studentky nezařazovat nalezené parazity do druhů. Taktéž musím vyzdvihnout komplexní přístup studentky k problematice, od sběru materiálu, transport, koprologická vyšetření, izolace DNA a molekulární diagnostiku završenou fylogenetickými analýzami. Jsem přesvědčen, že studentka zvládla všechny potřebné metody k úspěšnému dokončení vytyčených cílů, včetně práce s odborným textem a doporučuji práci k obhajobě.

V současné době navrhuji klasifikaci výborně-velmi dobře. V případě kvalitní obhajoby jsem nakloněn ke klasifikaci výborně.

Otázky k obhajobě:

1. Proč studentka zvolila pro molekulární detekci jednotlivých parazitů různé markery.
2. V textu se často objevuje pouze rodové určení parazitů. Např. *Capillaria* sp. Lze od sebe odlišit různé druhy rodu *Capillaria* nebo ostatních druhů detekovaných rodů parazitů na základě morfologie vajíček nebo oocyst?
3. Jak si studentka vysvětluje disproporci v záchytnosti eimerií na základě mikroskopie a molekulárních metod.
4. Lze k jednotlivým morfotypům oocyst kokcií přiřadit získané sekvence COI?
5. Jak ovlivňuje *Toxascaris* reprodukci lišek?

Datum: 13. 5. 2014

Podpis oponenta .....

## Oponentský posudek na diplomovou práci Evy Myškové "Střevní paraziti obratlovců na Svalbardu"

Cílem posuzované diplomové práce bylo získat základní informace o výskytu mnohobuněčných i jednobuněčných parazitů v některých obratlovcích žijících v arktickém ekosystému Špicberk. Technické možnosti získávání materiálu byly omezeny na sběr fekálních vzorků jednotlivých hostitelů, které byly následně zpracovány rutinními koprologickými metodami a v řadě případů i metodami molekulární biologie. Autorka shrnula cíle práce do 3 konkrétních bodů: 1. Parazitologicky vyšetřit reprezentativní vzorek savců a ptáků na Svalbardu (koprologické vyšetření). 2. Shromáždit materiál pro genotypizaci některých parazitů (především kryptosporidie, kokcidie, mikrosporidie a giardie). 3. Na základě genotypizace zhodnotit vliv geografické lokalizace na evoluci střevní parazitofauny.

Posuďme jak byly tyto cíle splněny. Vzorky byly sbírány ve 3 po sobě následujících letech, s rozdílnou frekvencí zastoupeného materiálu a hostitelů, z nichž fekální materiál pocházel (1. rok: 11 vzorků, jediný z volně žijícího zvířete, ostatní ze psů chovaných obyvateli; 2. rok 92 vzorků z 11 a 3. rok 151 vzorků ze 12 druhů volně žijících divokých zvířat. Více než 10 vzorků pro jediný druh hostitele (to považujeme za nejmenší reprezentativní vzorek) se pak podařilo získat během tříletého období pro 7 druhů hostitelů (z toho 5 ptáků). Lze tedy konstatovat, že co se vstupního materiálu týče, diplomová práce celkem stojí na solidním základu, i když samozřejmě nerovnost v zastoupení jednotlivých hostitelů byla dána, omezeními diktovanými technickými podmínkami sběrů v odloučeném prostředí polární krajiny. Dostatek sebraného materiálu umožnil mikroskopické vyšetření po aplikaci klasických parazitologických koncentračních metod u 208 vzorků, 46 vzorků bylo vyšetřeno metodami molekulární biologie cílenými ke 4 skupinám jednobuněčných parazitů. Jednalo se tedy o značný rozsah vyšetřovaného materiálu a diplomantka musela zvládnout základní parazitologické metody (koprologické, mikroskopické a molekulárně biologické). Práce tedy splnila i svůj metodický výukový cíl.

Co se vlastních výsledků týče, (téměř 30% koprologických vzorků pozitivních mikroskopicky a kolem 4% vzorků pozitivních molekulárně), autorka neuvádí žádný srovnatelný literární údaj, který by dovolil uvažovat zda celková parazitace hostitelů, nebo jejich jednotlivých skupin je průměrná či vyšší nebo nižší než v jiných nebo srovnatelných ekosystémech. Alespoň v případě soba polárního, ze kterého bylo vyšetřeno 106 vzorků (skutečně od jednotlivých zvířat?) a bylo nalezeno několik druhů parazitů by stálo za úvahu srovnání s literárními daty z jiné populace stejného hostitele, pokud jsou taková data dostupná. Jak autorka uvádí, populace sobů na Svalbardu je izolovaná, prošla historicky „hrdlem lahve“ na hranici vyhnutí a její parazitofauna tak rozhodně není bez zajímavosti. V případě některých hostitelů byly nalézány oocysty kokcidií a to většinou v nevysporulovaném stavu, což samozřejmě činí obtížnější jejich identifikaci. Byly činěny pokusy oocysty sporulovat? Řada dalších výsledků autorky není bez zajímavosti v pozitivním i negativním smyslu (*Encephalitozoon cuniculi* u ledního medvěda, naopak nebyla nalezena DNA stejné mikrosporidie u lišek, přesto, že se jedná o jednoho z nejčastějších parazitů polárních lišek ve faremních chovech. Stejně za další úvahu stojí za chybění DNA kryptosporidií a giardií ve vyšetřovaném materiálu nemohlo být způsobeno metodikou sběru a uchování materiálu. Jistě zajímavé a další sledování stimulující je zjištění, že žádný ze 20 vzorků trusu papuchalků neobsahoval parazity. Co se ví o parasitech těchto ptáků obecně?

Kritické připomínky.

Anglický souhrn by měl obsahovat alespoň nástin dosažených výsledků. Ve formě uvedené v práci, je jeho informační hodnota velmi omezená protože jen reprodukuje výzkumný záměr. Dle mého názoru je nejslabším článkem práce „Diskuse“. Ta je obecně nepřehledná. Dalo by se očekávat, že zde autorka podrobněji zhodnotí vlastní nálezy uvedené v přehledných tabulkách. (To se děje, ale jen ve velmi omezené míře. Tak na př. z parazitů soba polárního, z jehož trusu autorka získala řadu nálezů helmintů a kokcií, jsou v diskusi jen zběžně diskutovány helminti), a to jen stručně, ale ani jedna ze 4, do druhů identifikovaných kokcií. Diskusi sice do určité míry supluje přehledy nálezů parazitů u některých polárních zvířat v přílohách, ale tam se jedná o prostý výčet bez komentáře a z názvu přílohy nevyplývá jednoznačně, že v těchto přílohách nejsou zahrnuty nálezy autorky. Tím přílohy ztrácejí srovnávací charakter. Některé nálezy unikly důkladné diskusi. Příkladem budiž nález tasemnice *Diphyllobothrium lanceolatum* u tuleň kroužkovaného. Je to běžná tasemnice u kterých hostitelů, byla již nalezena u tuleňů, co se o ní ví? Diskuse výsledků, je jedním z nepominutelných součástí každé vědecké práce a má být dokladem analytické schopnosti autora, jeho znalostí užšího oboru. Stejná výtka, se pak týká i dalších nalezených parazitů, s výjimkou nálezů učiněných pomocí molekulárně biologických metod, které jsou přeci jen diskutovány poněkud více, ale i tam mohla autorka mnohem lépe zdůraznit své nálezy. Všechny moje další připomínky se týkají v podstatě formálních záležitostí, byť jejich význam nelze podceňovat, neboť výchova k přesnému vyjadřování a uspokojivé prezentaci výsledků je nedílnou součástí diplomové práce. Připomínky byly v podobě poznámek doprovázejících text diplomové práce předány autorce. Obecně lze konstatovat, že práce hodně trpí drobnými prohřešky proti českému jazyku, některé věty nemají jasnou logickou stavbu nebo význam ("Všechna zvířata v cirkumpolárním regionu jsou vnímavá k infekci jednobuněčnými i mnohobuněčnými parazity"), (Hostitelé parazitů (včetně Homo sapiens) mohou být naivní k parazitům v jejich novém prostředí a tomu velmi napomáhá obliba „autentických“ zážitků ve formě jedení tradičních pokrmů"), ("Jejich hlavní potravu tvoří ryby a korýši blízko ledu"). Je s podivem, že mezi zvířaty žijícími na Svalbardu jmenuje autorka i 12 druhů kytovců, samozřejmě všichni žijí ve vodách kolem Svalbardu. V části Přílohy musí autorka vyřešit logický rozpor, který vznikl tím, že mezi parazity jednotlivých hostitelů nezařadila kokcidie, které jsou pak ve zvláštní příloze. Tím vzniká dojem, jako by kokcidie nepatřily mezi parazity.

**Konečné zhodnocení.** Domnívám se, že autorka vypracovala diplomovou práci s parametry, které odpovídají nárokům na tento typ práce a umožňují aby práce byla obhajována. Z limitovaných možností poněkud exotického zadání udělala autorka maximum co se týče izolace a identifikace jednotlivých parazitů. I když některé získané výsledky jsou prioritní, je otázkou, jestli jsou pro svou kvantitativní omezenost publikovatelné. Ke své škodě autorka nevyužila plně potenciál zhodnocení svých výsledků v diskusní části práce. Ke kladům práce patří doprovodné fotografie vyšetřovaných zvířat, které autorka buď sama vyfotografovala, či získala od spolupracovníků a pokus uvést práci do kontextu ekologie polární krajiny. Přes řadu připomínek, které jsem včlenil přímo do elektronické verze diplomové práce a u vědomí, že autorka měla omezené možnosti sběru materiálu a práce se týkala nezvyklého ekosystému, navrhuji známku velmi dobře, samozřejmě v závislosti na průběhu obhajoby.

Prof. Jiří Vávra, DrSc.  
Katedra parazitologie PŘF JU



13.5.2014