

Oponentský posudek na magisterskou práci

Bc. Jana Zikmundová

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISATION OF SPECIES OF *PLAGIORCHIS* LÜHE, 1899 (DIGENEA: PLAGIORCHIIDAE) IN LYMNAEID SNAILS FROM FRESHWATER ECOSYSTEMS IN CENTRAL EUROPE

Předložená práce má rozsah 74 stran včetně 5 stran literatury; je psána anglicky. Oceňuji na ní zejména, že velmi vhodně spojuje klasický parazitologický přístup s využitím molekulárních metod, čímž bylo dosaženo originálních poznatků, které umožnily revidovat údaje s chybnou determinací jen na základě morfologie. Kromě opravy chybných identifikací se podařilo rozpoznat zajímavý druh *Plagiorchis koreanus* a další, dosud neidentifikovaný druh označený jako *Plagiorchis* sp. CR. Molekulární analýzy umožnily revizi významnosti jednotlivých morfologických znaků a v sestavení klíče, umožňujícího determinaci cercárií plagiorchidů z plovatkovitých plžů.

Podstatná část práce byla letos publikována v *Systematic Parasitology*. Tato práce má 5 autorek, nepochybuji však o lvím podílu Jany Zikmundové na získání výsledků i na sepsání práce. Odpadá tak posuzování kritéria publikovatelnosti a oponentovi ušetří práci v hledání případných chyb a nedostatků: práce je pečlivě „vypilována“ pro publikaci v prestižním časopise, je v dobré angličtině, samozřejmě bez překlepů apod.

Předložená práce může být jakousi pilotní studií – vzorem, podle kterého by bylo možno zrevidovat morfologické determinace dalších skupin těch cercárií, které si jsou velmi podobné. Musím říct, že po prvním přečtení jsem se domníval, že jsou některé části málo srozumitelné. Tabulka, označující předběžnou a definitivní determinaci je hned v Materiálu a metodách (tab. 4) a v některých případech v diskusi jsem si nebyl jistý, zda jde o určení definitivní. Po opakovaném pozorném přečtení se nejasnosti odstranily.

Morfologická část je doplněna zdařilými fotografiemi. Nejsou tam perokresby, které jsou obvyklé v publikacích o cercáriích. Chtěl bych se studentky zeptat, zda kresby považuje za zbytečné a překonané. Na rozdíl od fotografií umožňují určitou abstrakci, zakreslení při různém ostření a syntézu detailů z několika jedinců. A co vzory plaménkových buněk, jsou u plagiorchidů natolik obtížně rozpoznatelné, že jsou pro praktickou determinaci nepoužitelné?

U obrázků 7 a 8 legenda odkazuje na tvar bodů, nikoliv na jejich barvu (která je dle mého názoru zřetelnější). Domníval jsem se, že legenda pochází z černobílé verze, ale i publikovaná verze je barevná se stejnou legendou. Byl to tedy záměr?

Dotazy:

- Máte nějaké hypotézy, zda cercárie *Plagiorchis* sp.CR mohou patřit k některému známému druhu?
- Ke kterým ptačím plagiorchisům uvedených v tab. 1 jsou známy cercárie?
- Jsou nějaké novější informace o plagiorchisech netopýrů z našeho území?
- Zkoušíte nebo plánujete experimentální infekce druhých mezipřenositelů popř. studium celého životního cyklu?
- Bylo by možné primery, které jste použili k analýzám DNA cercárií použít k molekulární diagnostice vajíček plagiorchisů v trusu ptáků a netopýrů? (vycházím z toho, že vyšetření trusu je mnohem šetrnější k chráněným druhům než parazitologická pitva.
- máte v plánu zpracovat podobným způsobem (jako v předložené práci) cercárie z jiných druhů plžů?

Závěrem konstatuji, že posuzovaná práce bezesporu splňuje kritéria magisterské práce Př.f. JU, doporučuji ji k obhajobě a navrhuji klasifikovat stupněm výborně.

České Budějovice 14. 5. 2014

Doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc



THESIS ASSESSMENT REPORT

Submitted by Dr. Ana Pérez-del-Olmo as evaluator of the:

MSc thesis by Jana Zikmundová

Entitled: *Molecular and morphological characterisation of species of Plagiorchis Lühe, 1899 (Digenea: Plagiorchiidae) in lymnaeid snails from freshwater ecosystems in central Europe*

Supervised by: Dr Aneta Kostadinova, PhD

1. Evaluation of specific objectives and their relevance

The thesis presents a good example of a modern faunistic/systematic research with a substantial contribution to scientific knowledge on the identification of larval stages and life-cycles of important trematodes in the freshwater environments of central Europe. It fills a gap in our knowledge on larval trematode morphology and identification of *Plagiorchis* spp. by a thorough study of abundant larval material from lymnaeid snails in central Europe. Six study objectives are accurately identified following a design of a combined molecular and morphological assessment of parasite isolates. These are fully justified in relation to previous research and provide a framework that integrates detailed morphological and molecular assessment of larval stages of *Plagiorchis* spp.

2. Evaluation of methodology used in relation to the objectives proposed

The study is well designed and well planned. The parasite material used is ample and adequate for the specific objectives. Sample processing and methods used are described in detail. All descriptive and comparative tables are detailed. The identification key is correctly structured and (hopefully) working. The illustrations are of good quality. All statistical and phylogenetic analyses are carried out and interpreted correctly.

3. Relevance of findings/results

All findings of the present study are original and their interpretation advances identification of infections with *Plagiorchis* spp. using both cercarial morphology and sequence data. Examination of a large number of isolates has resulted in discrimination of five species based on *cox1* sequences and morphometric data; it is worth noting that this study provides the first *cox1* dataset for *Plagiorchis* spp. Identification of three species (*P. elegans*, *P. maculosus* and *P. koreanus*) was confirmed/achieved via analysis of 28S/ITS rDNA sequences by including sequences from adult stages of these species. The key for identification of the cercariae molecularly characterised in this study will be helpful asset in future studies on the group. The content of the thesis is already published in a peer-reviewed journal (*Systematic Parasitology*). In spite of the multiauthorship of the publication, Jana Zikmundová has a substantial personal contribution as confirmed by the co-authors; she is also the first and the corresponding author.

4. Formal characteristics of the thesis

The thesis comprises 41 pages including 12 figures, 10 tables and bibliography of 50 references. The thesis is well organised, reads well and the English is very good. The reference section is sufficient.

5. Conclusion

Overall, this is a carefully designed and elaborated study concerning a parasite group that is rather diverse and difficult to work with. The identification of trematode larval stages is complicated and there is a lack of taxonomic expertise. This study will enhance the identification of larval trematodes of *Plagiorchis* spp. and elucidation of their important roles in snail-parasite systems in central Europe. Jana Zikmundová has tackled the subject successfully and has applied both observational and modern statistical and molecular approaches to parasite identification. The work represents a significant contribution to the field and is already published in a reputed journal. It fully deserves a high rating.

Signed at Valencia on 12th May 2014



Dr. Ana Pérez-del-Olmo
Institute Cavanilles of Biodiversity and Evolutionary Biology
University of Valencia