

Krevní paraziti ryb na Svalbardu

Předložená diplomová práce se zabývá krevními parazity ryb na Svalbardu, jejich výskytem, prevalencí, morfologií a fylogenezí.

Diplomová práce je zpracována detailně, je poměrně rozsáhlá, čítá 74 stran včetně přehledu literatury. Na práci oceňuji její přehlednost a úpravu, pěkně se čte. Obsahuje pouze několik gramatických chyb v podobě shody přísudku s podmětem, čárek mezi souvětími, či překlepů (ty se týkají zejména názvů taxonů a jmen citovaných autorů, dle jejich četnosti se zdá, že si s nimi studentka příliš hlavu nelámala). Cíle práce jsou jasně formulovány a splněny. Dosažené výsledky jsou srozumitelné a obsahují originální data. Je zřejmé, že studentka odvedla v laboratoři velký kus práce. Třístránková diskuse je dobře strukturována a opírá se o vlastní výsledky. Seznam použité literatury čítá úctyhodných 21 stran původních i zcela recentních publikací.

K práci samotné si však neodpustím několik poznámek:

- Úvod (literární rešerše) je zbytečně obšírný a zdlouhavý, obsahuje velké množství údajů (je doslova zahlcen údaji), které s tématem diplomové práce vůbec nesouvisí (hodně podrobně zpracovány údaje o rybách – např. kolik hřbetních trnů mají, kdy dochází k jejich tření, jak probíhá tření v Baltském moři, kolik měří vajíčka, kolik potomstva vyvedou, velikost ryb a jejich jednotlivých stádií – jak dalece je toto důležité z hlediska parazitologie? – zde by určitě stálo za to práci zkrátit). Až na straně 13 se konečně dozvídám něco o parazitech; do té doby tápu, čeho se diplomová práce vlastně týká.

U vranek je nastíněn i výčet jejich parazitů, což u ostatních druhů vyšetřovaných ryb chybí/nelze – přitom by to bylo určitě přínosnější než spousta dat o životě ryb.

- Kapitola „Imunitní systém ryb“ je zpracována velice podrobně, avšak ve velmi obecné rovině. Postrádám zde objasnění funkce imunitního systému ryb v boji proti parazitům (tj. například mechanismy, kterými se u ryb liší imunitní odpověď na parazitární, bakteriální a virové infekce). Věděla byste, v čem jsou rozdíly, popřípadě zda ryby mají oproti jiným obratlovcům nějaké zvláštnosti?

- Jinak velmi dobře zpracovaná práce trpí častým výskytem nešťastných slovních spojení (např. abdominální distenze břicha; parazité se vyskytují ve všech živých taxonech; nejběžnější diagnostickou metodou u ryb je stále pomocí krevního roztěru obarveného Giemsou; rybí obratlovci; krevní motolice které infikují vaskulární systém; životní rysy hostitele; oba rody jsou celosvětově rozšířenými druhy, atp.).

- Nejnovější taxonomie dle Adl a kol. (2012), kterou autorka práce používá pro systematické zařazení parazitů, rozlišuje pouze tzv. „clades“ (Amorphea a Diaphoretickes) a „super-groups“ (kam patří Amoebozoa, Excavata, Opisthokonta, Sar a Archaeplastida). Všechny ostatní dříve používané taxonomické jednotky (tedy např. kmen, třída, řád) tento systém zrušil, a používá pro ně obecný název „group“ („skupina“). Pokud autorka cituje „taxonomické zařazení dle Adl a kol. (2012)“, měla by se také tímto řídit. Snad by rovněž stálo za zdůraznění, že v práci uvedená klasifikace vycházející z publikace Adl a kol. (2012) je provizorní – mnoho skupin je zde parafyletických, takže v budoucnu lze očekávat další změny.

- Na straně 24 tvrdíte, že „Mezi různými skupinami apikomplex jsou malé rozdíly v životních cyklech.“ – S tímto tvrzením bych si dovolila nesouhlasit, neboť existují významné rozdíly v životních cyklech i mezi jednotlivými druhy (např. v rámci rodu *Caryospora*), natož mezi rody (např. *Sarcocystis* vs. *Eimeria*), či dokonce mezi zástupci vyšších taxonomických skupin (např. *Eimeria* vs. *Haemogregarina*).
- Kvalita oskenovaných obrázků (konkrétně schemat životních cyklů) by mohla být lepší – zejména obr. č. 12 není vůbec čitelný.
- Bylo by vhodné se rozhodnout, zda používat výraz „parazité“ nebo „paraziti“, a pak tento výraz používat jednotně v průběhu celého textu.
- Název skupiny Apicomplexa se píše vždy s „c“, nikoliv s „k“ (Apikomplexa), rovněž tak reverse primer/y (z angl. slova „opačný“, „obrácený“, „pozpátku“).
- Odbornou úroveň práce rovněž snižuje způsob, kterým je sepsána kapitola „Seznam použité literatury“. Zde spíše rada do budoucna, pokud se rozhodnete výsledky své práce publikovat: Odborné časopisy se uvádějí všechny buď celým názvem, nebo všechny mezinárodně uznanou zkratkou (ISO). V této práci nalézáme obojí (např. Canadian Journal of Zoology, a hned v citaci pod ním Can J Zool), navíc se zde vyskytují i zkratky, které oficiálně ani neexistují (např. Fol Paras, Journal of Parasitol, Canadian Journal Zool). Pokud jsou citovány dvě různé publikace téhož autora z téhož roku, uvádí se dále upřesnění písmeny (např. „Becker CD, Katz M 1965a“, „Becker CD, Katz M 1965b“ nebo „Molnár K 1988a“, „Molnár K 1988b“); bez toho nevíme, který odkaz se ke které práci vztahuje. V předložené práci se také vyskytuje hodně chyb ve jménech citovaných autorů. Všechny tyto nedostatky by se však daly snadno odstranit, kdyby autorka diplomové práce o daných pravidlech věděla.

K práci bych měla následující dotazy:

- Na straně 9 je uvedeno, že „vranka severní se nachází v hloubkách 0-451 m“. Znamená to, že tedy žije i na suchu?
- Na str. 17 mě zaujala věta „U *Carassius auratus* nalézáme *Trypanoplasma borreli* způsobující velmi vysokou parazitěmií až 120 tisíc jedinců na 1 ml krve (Lom 1979). To je velmi mnoho – je popsáno, zda bylo takové množství pro hostitele nějak patogenní?”
- Ve výčtu rybích krevních parazitů se nezmiňujete o rodu haemogregarin schopných infikovat ryby - rodu *Cyrtia* (též podobně „neglected“ jako dosud *Desseria*) – je to záměr? Pokud ano, proč? Co je o tomto parazitu známo?
- Co znamenají čísla 14460 – 11000 u barvení Giemsa-Romanowski (str. 34)?
- Bylo by možné se domnívat (mimo jiné na základě morfologie gamontů), že se v případě *Myoxocephalus scorpius* a *Gymnocanthus tricuspis* jedná o (minimálně) dva různé druhy *Desseria*? Alespoň dle obr. 18 je zřejmé, že gamonti nalezení u *G. tricuspis* jsou štíhlejší a výrazně zahnutější...
- Jak dlouhý byl úsek 18S rDNA, který se vám podařilo oskenovat? Jaký byl GC obsah této sekvence?
- Dataset pro fylogenetické analýzy obsahuje reprezentativní taxony, včetně vzdálených taxonů (*Babesia*, *Theileria*, *Plasmodium*). Pro zjištění fylogenetické pozice rodu *Desseria* a jejich vztahů k nejbližším příbuzným organismům (tzv. „haemogregarinám sensu lato“) bych však očekávala, že pro analýzu použijete 18S sekvence všech dostupných rodů této skupiny – tedy i rodu *Hemolivia* (v databázi GenBank jsou sekvence minimálně tří druhů) a *Karyolysus*. Oba dva tyto rody mají poněkud kontroverzní fylogenetickou pozici, takže přidání další „haemogregariny sensu lato“ je

unikátní příležitostí, jak do jejich fylogeneze vnést více světla. Proč jste uvedené rody v analýzách nepoužila?

- Proč byl v ML analýze použit právě evoluční model GTR? Zkoušela jste výběr nevhodnějšího evolučního modelu pomocí programu jModeltest? Co se týká BI analýzy - byl pouhý 1 milion generací dostačující?
- Nezkoušela jste pomocí PCR analyzovat i mikroskopicky negativní vzorky? Jedná se o celkem běžný postup, navíc některé práce uvádějí, že PCR metoda je citlivější než klasická mikroskopie nátěrů.

I přes uvedené připomínky práci považuji za velice kvalitní, a zejména, ve srovnání s jinými diplomovými pracemi, za velice přínosnou. Práci jednoznačně **doporučuji** k obhajobě a prozatím hodnotím stupněm „výborně“. Konečné hodnocení však ponechám na průběhu obhajoby a zodpovězení výše uvedených dotazů.

Jana Kvičarová

MVDr. Jana Kvičarová, Ph.D.

V Českých Budějovicích, 15. ledna 2015

Posudek na diplomovou práci

KREVNÍ PARAZITI RYB NA SVALBARDU

Student:

Bc. Iva Pospíšilová

Katedra medicínské biologie

Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích

Posudek zpracovala:

Doc. MVDr. Miroslava Palíková, PhD.

Anotace

Práce se zabývá krevními parazity ryb z oblasti Svalbardu, tj. souostroví v Severním ledovém oceánu. Determinace parazitů byla provedena na základě morfologických vlastností parazitů detekovaných v krevních nátěrech a pomocí molekulárních metod. Nejvíce práce bylo odvedeno v oblasti molekulární diagnostiky se snahou získat vhodnou genovou sekvenci pro fylogenetické studie daného parazita. U této příležitosti bych se ráda zeptala, jaký byl podíl doktorandky na vyhodnocení vzorků a v oblasti molekulární diagnostiky? Použité literární podklady prezentují neuvěřitelných 280 citací, nicméně práci s literaturou vidím jako negativum předložené práce. Mnoho citací je špatně přeloženo nebo interpretováno a vznikl tak velmi často nesrozumitelný, někdy úsměvný text. Myslím, že oponentský posudek není výčtem všech chyb, ale pár poznámek si neodpustím. Ohledně fyziologie ryb, u převážné většiny ryb probíhá vnější oplození a označení březost u ryb opravdu není na místě (s.3); vody nejsou pelargické, ale pelagické (s.4); embrya u ryb se kulí; pohlavní produkty samic se nazývají jikry, ne vajíčka či dokonce vejce. Naprosto nerozumím tření u tresky obecné (3. odst. na s.6): samice opakovaně kladou jikry v období 1-2 měsíců po oplodnění? A uváděný počet jiker? Tresky patří mezi nejplodnější ryby vůbec, kladou drobné pelagické jikry v počtu až několika desítek milionů? Rovněž si neumím představit doupata v písku, ve kterých žije vranka severní? Podobné nesrovnalosti se vyskytují v kapitole věnované imunitnímu systému ryb, bohužel je zde vidět, že mnohdy doktorandka překládala text, kterému sama zřejmě dobře neporozuměla, např. nesrozumitelný odstavec na str. 10 týkající se TOLL-like receptorů (nikoliv tool); podobně jsou nepřesné a zavádějící informace i v dalších částech textu (2. a poslední odstavec na str. 11). Podobné nesrovnalosti opět se týkající nepřesné práce s literaturou lze nalézt v celé práci.

K uvedené práci mám další dotazy či náměty do diskuze:

Na str. 14 autorka uvádí, že ryby chované v nádržích a rybnících lze podrobit specifické a profylaktické léčbě. Mohla byste být, prosím, konkrétní, o jaký způsob terapie se jedná?

Hodláte v druhovém zachycených určení krevních parazitů pomocí molekulárních metod pokračovat? Pokud ano, jakým směrem?

Mohlo by pomoci použití elektronového mikroskopu při druhové determinaci původce?

Závěrem bych ráda uvedla, že přes výše uvedené nedostatky je evidentní, že studentka odvedla velké množství práce, předložená práce splňuje kritéria kladená na diplomovou práci, práce splnila zadané cíle, uvedené výsledky jsou publikovatelné, a proto **doporučuji diplomovou práci přijmout k obhajobě a vzhledem k výše uvedeným nedostatkům ji hodnotím známkou velmi dobře (2).**

V Brně, 12. ledna 2015

Doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D.

